

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Nikola Fantová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Klinefelterův syndrom
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Klinefelter syndrome
Bachelor thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Nikola Fantová**
Osobní číslo: **C18215**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Klinefelterův syndrom**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se Klinefelterova syndromu.
2. V úvodu uvést výskyt tohoto syndromu v populaci.
3. V dalších kapitolách popsat symptomy a klinickou podstatu onemocnění.
4. Dále se zaměřit na diagnostiku a možnosti léčby.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Klinefelterův syndrom jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 2. 7. 2021

.....
Nikola Fantová

PODĚKOVÁNÍ

Poděkovat bych chtěla především vedoucí mé bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za její laskavý přístup, odborné vedení, cenné rady a zkušenosti, ochotu, vstřícnost a čas, který mi věnovala během tvorby mé bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou Klinefelterova syndromu. Začátek popisuje historii, objevení a prevalenci tohoto syndromu. Další část je věnována samotné problematice – symptomy, příčina vzniku, problémy s plodností, hypogonadismus a jeho důsledky (chování a kognitivní funkce, osteoporóza, riziko zlomeniny, inzulinová rezistence, metabolický syndrom). Závěrečná část je zaměřena na diagnostiku, jak prenatalní, tak i postnatální, a léčbu, jenž nabízí zkvalitnění života takto postiženým mužům.

KLÍČOVÁ SLOVA

Klinefelterův syndrom, testosteron, karyotyp 47, XXY, chromozom, hypergonadotropní hypogonadismus

TITLE

Klinefelter syndrome

ANNOTATION

This bachelor thesis deals with the issue of Klinefelter's syndrome. The beginning describes the history, discovery and prevalence of this syndrome. The next part is devoted to the issue itself – symptoms, cause, fertility problems, hypogonadism and its consequences (behavior and cognitive function, osteoporosis, fracture risk, insulin resistance, metabolic syndrome). The final part is focused on diagnosis, both prenatal and postnatal, and treatment that offers quality of life for such affected men.

KEYWORDS

Klinefelter syndrome, testosterone, karyotype 47, XXY, chromosome, hypergonadotropic hypogonadism

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

ADHD	porucha pozornosti s hyperaktivitou (attention deficit hyperactivity disorders)
AIDS	syndrom získaného selhání imunity (acquired immune deficiency syndrome)
AR	androgenový receptor
BMD	kostní minerální hustota (bone mineral density)
BMI	index tělesné hmotnosti (body mass index)
CAG	triplet obsahující cytosin, adenin, guanin
CCL2	chemokinový ligand 2 (chemokine (C-C motif) ligand 2)
CYP19	gen cytochromu P450 rodiny 19
DHT	dihydrotestosteron
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E2	estrogen
FSH	folikulostimulační hormon (follicle-stimulating hormone)
GnHR	gonadotropin (gonadotropin-releasing hormone)
HIV	virus lidské imunitní nedostatečnosti (human immunodeficiency virus)
HPG	osa hypotalamus – hypofýza – gonády (hypothalamic–pituitary–gonadal axis)
ICSI	intracytoplazmatická injekce spermií (intracytoplasmic sperm injection)
INSL3	inzulinu podobný protein 3 (insulin-like 3)
IQ	inteligenční kvocient
IVF	mimotělní otěhotnění (<i>in vitro</i> fertilization)
KS	Klinefelterův syndrom
LH	luteinizační hormon
M-PCR	methylačně specifická polymerázová řetězová reakce (methylation-specific polymerase chain reaction)
NIPT	neinvazivní prenatální testování
PAR	pseudoautozomální oblast
QF-PCR	kvantitativní fluorescenční PCR (quantitative fluorescent PCR)
qPCR	kvantitativní real-time PCR (quantitative real-time PCR)
RNA	ribonukleová kyselina

SHOX	lidský gen (short stature homeobox-containing gene)
TESE	extrakce spermií varlat (testicular sperm extraction)
XIST	nekódující RNA na chromozomu X (X inactive specific transcript)

SEZNAM OBRÁZKŮ

OBRÁZEK 1: Prevalence KS v závislosti na věku matky.....	16
OBRÁZEK 2: Testikulární biopsie dospívajících chlapců s KS.....	18
OBRÁZEK 3: Porovnání tělesného vzhledu zdravého muže s mužem trpícím KS	20
OBRÁZEK 4: Patogeneze KS	21

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 HISTORIE A OBJEVENÍ KLINEFELTEROVA SYNDROMU	14
2 PREVALENCE.....	15
3 SYMPTOMY	17
3.1 Fetální a novorozenecké období.....	17
3.2 Dětství a dospívání.....	17
3.3 Dospělost.....	19
4 PŘÍČINA VZNIKU KLINEFELTEROVA SYNDROMU	21
4.1 Patofyziologie	21
4.2 Vztah mezi věkem a Klinefelterovým syndromem.....	22
4.3 Inaktivace chromozomu X	23
4.4 CAG repetice.....	23
4.5 Aktivita genů lokalizovaných v pseudoautozomálních oblastech	24
4.6 Fenotyp Klinefelterova syndromu.....	25
5 DALŠÍ CHARAKTERISTIKA KLINEFELTEROVA SYNDROMU.....	26
5.1 Plodnost a sexuální funkce.....	26
5.1.1 Histologie varlat mužů 47, XXY	26
5.1.2 Mechanismy spermatogenetického selhání	27
5.2 Hypogonadismus.....	28
5.2.1 Fyziologie osy hypotalamus – hypofýza – gonády.....	30
5.2.2 Role hypogonadismu v Klinefelterově syndromu	30
5.2.3 Chování, kognitivní funkce.....	31
5.2.4 Osteoporóza, riziko zlomeniny	32
5.2.5 Inzulínová rezistence, metabolický syndrom.....	34
6 DIAGNOSTIKA.....	37
6.1 Prenatální.....	37
6.2 Postnatální	39
7 LÉČBA.....	41
7.1 Léčba pomocí testosteronu.....	41
7.2 Možnosti léčby testosteronem.....	42
7.2.1 Implantáty	42
7.2.2 Intramuskulární injekce	42
7.2.3 Transdermální náplasti.....	43
7.2.4 Transdermální gely	43

7.2.5	Bukální podání.....	43
7.3	Léčba plodnosti.....	44
7.4	Další terapie související s psychickým stavem pacienta.....	46
ZÁVĚR:	47
ZDROJE	49

ÚVOD

Klinefelterův syndrom (KS) je nejčastější poruchou pohlavních chromozomů postihující zhruba 1 z 500 pacientů mužského pohlaví a má za následek selhání varlat, nedostatek androgenů a poruchu spermatogeneze. Patří mezi nejčastější genetické příčiny lidské neplodnosti. Postižení muži nesou další chromozom X, což vede k mužskému hypogonadismu, nedostatku androgenu a zhoršené spermatogenezi.

Pojem Klinefelterův syndrom popisuje skupinu chromozomálních poruch, ve kterých je k normálnímu mužskému karyotypu, 46, XY, přidán alespoň jeden extra X chromozom. Klasická forma je nejčastější chromozomální porucha, ve které je jeden chromozom X navíc, což vede ke karyotypu 47, XXY. Ovšem vyskytují se případy, kdy byly pozorovány další karyotypy, například 48, XXYY; 48, XXXY a 49, XXXXY.

Někteří pacienti mohou vykazovat všechny klasické příznaky této poruchy, včetně gynekomastie, malých varlat, řídkých ochlupení na těle a neplodnosti, či vyšší postavy. Zatímco u jiných kvůli velké variabilitě klinické exprese mnoho těchto znaků chybí. Dochází k normální až středně snížené funkci Leydigových buněk doprovázené zvýšenou sekrecí folikulostimulačního hormonu (FSH). Postižení muži s Klinefelterovým syndromem mohou být klinicky nenápadní a až na poruchy fertility nemusí mít během života natolik zjevné zdravotní potíže, aby vyhledali lékařskou pomoc, případně se za své některé problémy stydí.

Přestože je nyní diagnóza KS definitivně stanovena pomocí chromozomálních karyotypů, což ve většině případů odhaluje genotyp 47, XXY, lze diagnózu stanovit také pomocí pečlivé anamnézy a výsledků fyzikálního vyšetření, přičemž charakteristickým znakem jsou malá, pevná varlata.

Léčba spočívá v substituční terapii testosteronem k nápravě nedostatku androgenu a k zajištění vhodné virilizace pacientů. Tato terapie má také pozitivní účinky na náladu a sebeúctu a bylo prokázáno, že chrání před osteoporózou, i když nezvrátí neplodnost.

1 HISTORIE A OBJEVENÍ KLINEFELTEROVA SYNDROMU

Klinefelterův syndrom poprvé popsal Harry F. Klinefelter v roce 1942 a to na základě zprávy o devíti mužích se souborem charakteristik: testikulární dysgeneze, zvýšené hladiny gonadotropinů v moči, mikroorchidismus, eunuchoidismus, azoospermie a gynekomastie. [1]

V roce 1949 objevili Barr a Bertram hustou chromatinovou hmotu, později nazývanou sexuální chromatin, nebo také Barrovo tělísko. To se nachází v ženských somatických buněčných jádrech, ovšem nikoliv v mužských lidských tkáních. Toto zjištění vedlo ke zhotovení nátěrů obarvených buněk bukalní sliznice a k určení, zda je genetické pohlaví dítěte dáno přítomností, či nepřítomností Barrova tělíska. V roce 1956 popsaly 2 skupiny vyšetřovatelů 7 pacientů s Klinefelterovým syndromem na základě výsledků bukalních nátěrů, které potvrdily přítomnost Barrova tělíska. Obecně se předpokládalo, že KS představuje endokrinní poruchu o neznámé etiologii, a to až do roku 1959, kdy bylo zjištěno, že pacient s Klinefelterovým syndromem měl 47 chromozomů, včetně extra chromozomu X (karyotyp 47, XXY). Bylo prokázáno, že Barrovo tělísko viděné v případě KS představuje další chromozom X. Následné studie ukázaly další aberace chromozomu X, včetně 48, XXXY a mozaicismu, ve kterém má 1 buněčná linie normální mužskou složku XY, zatímco další je XXY nebo jiná varianta. [1, 2]

Na začátku 70. let 20. století začala řada center vyšetřovat novorozence na abnormality pohlavních chromozomů, protože bylo nutné získat přesné informace o vývoji dětství v důsledku tohoto syndromu. Předchozí studie jedinců XXY byly extrémně předpojaté vůči vážněji postiženým jednotlivcům, a to z toho důvodu, že tito zkoumaní pacienti pocházeli převážně z psychiatrických léčeben, nebo trestního prostředí, kde bylo umožněno vyšetřovat velké množství mužů. [1]

Dnes studie ukazují, že přibližně 80 % mužů s KS má karyotyp 47, XXY a dalších 20 % aneuploidie chromozomů vyššího stupně, či mozaiku 46, XY / 47, XXY nebo strukturálně abnormální chromozomy X. [2]

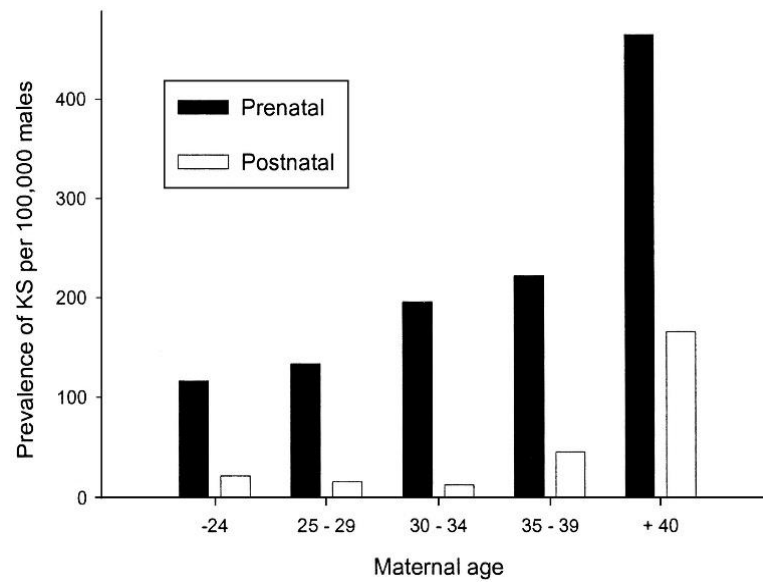
2 PREVALENCE

Výsledky rozsáhlých chromozomálních studií novorozenců, stejně jako dřívější výsledky screeningu bukalních nátěrů prokázaly, že Klinefelterův syndrom se vyskytuje přibližně u 1 z 500 narozených mužů. Ve více než dvou třetinách případů je karyotyp zjištěný z krve klasický – 47, XXY. [3]

Výskyt KS na základě prenatalního vyšetření činí 153 případů na 100 000 živě narozených mužů. Prevalence na základě postnatálního vyšetření však byla mnohem nižší a za celé období studie od roku 1931 do roku 2000 bylo zjištěno pouze 28 mužů s Klinefelterovým syndromem z celkového počtu 100 000. To poukazuje na nízký diagnostický výnos na počátku 20. století. Ale i přesto je jasné, že mnoho mužů postižených tímto syndromem není diagnostikováno vůbec a dle odhadů pouze asi 25 % všech mužů trpících Klinefelterovým syndromem je diagnostikováno postnatálně. Z vyhodnocení všech dostupných studií z celé řady zemí vyplývá, že přibližně 44–85 % rodičů volí legální potrat plodu, což snižuje počet živě narozených mužů s tímto syndromem. Právě tento fakt může být důvodem rozdílu mezi prenatalní a postnatální prevalencí. [4]

Prevalence může být vyšší u některých rizikových skupin, jako jsou pacienti s endokrinními, či psychickými problémy, nebo neplodností. KS představuje 3 % mužské neplodnosti. Jiné pohlavní chromozomální aneuploidie jsou mnohem méně časté, přičemž 48, XXYY a 48, XXXY jsou přítomny u 1 na 17 000 až 1 na 50 000 narozených mužů. [1, 3, 5]

Dalším faktorem ovlivňujícím výskyt KS je věk matky. Významný nárůst prenatalní prevalence souvisí se zvyšujícím se věkem matky, jak nám naznačuje přiložený obrázek 1. V něm je zaznamenána závislost prevalence Klinefelterova syndromu na již zmíněném věku matky z celkového počtu 100 000 mužů. Z naměřených dat je patrné, že markantní nárůst nastává především kolem čtyřicátého roku ženy. [6]



Obrázek 1: Prevalence KS v závislosti na věku matky [6]

3 SYMPTOMY

3.1 Fetální a novorozenecké období

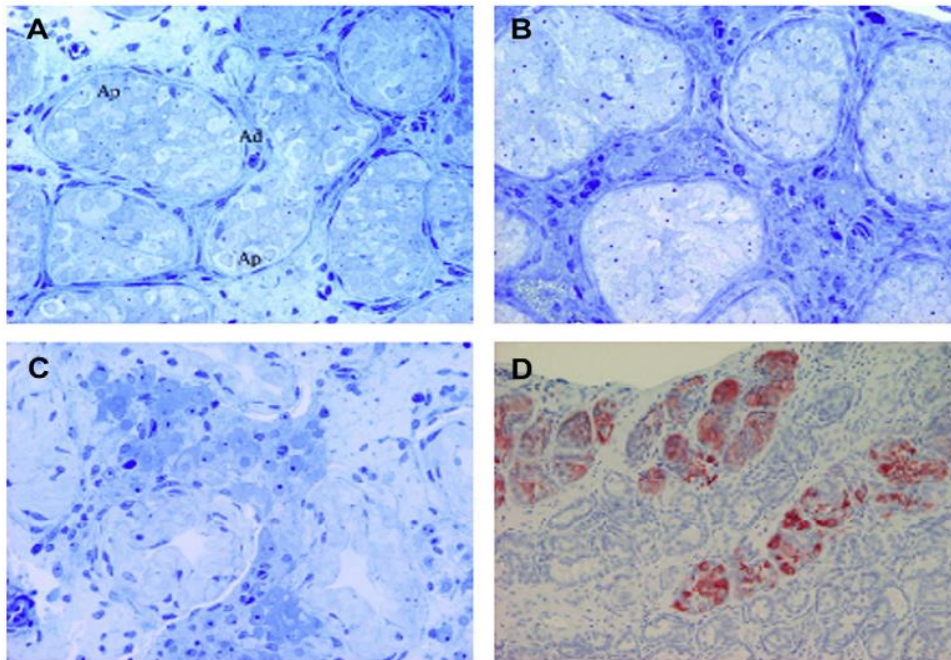
Degenerativní proces může začít již během života plodu, jak ukázaly studie potracených plodů v 18.–22. týdnu těhotenství. Zvýšený výskyt nedostatečně rozvinutých genitálií a kryptorchismu vyvolávají obavy pro fetální androgenní nedostatečnost, zejména během druhého, nebo třetího trimestru. Snížený počet zárodečných buněk doprovázený zvýšeným podílem tubulů bez zárodečných buněk je viditelný ve fetálních testikulárních biopsiích právě u plodů 47, XXY. Hustota a počet semenných tubulů spolu s mezenchymálními strukturami se jeví jako normální. Počet a vzhled nezralých Sertoliho buněk vypadá také v pořádku, stejně tak i intersticiální tkáň. Během prvního roku života dochází k progresivnímu snížení počtu spermatogonií z 24 % na 0,1 % kontrolní hodnoty. Již při narození může dojít k určitému poškození funkce Leydigových buněk. [2, 7]

Při vyšetření prenatálního testosteronu v amniotické tekutině získané během prenatálního vyšetření mezi 16. a 20. týdnem těhotenství u 20, XXY plodu spolu s XY plodem, v porovnání se vzorkem plodu XX, nebyl mezi oběma mužskými skupinami patrný žádný významný rozdíl. Oba měly významně vyšší hladiny testosteronu než plod XX. Ovšem pozdější znaky jako jsou například mikropenis, kryptorchismus, degenerace semenných tubulů a hyperplazie Leydigových buněk naznačují, že může nastat situace, kdy i plod často exprimoval nižší hladiny testosteronu ve srovnání s plody mužského pohlaví s normálním karyotypem. Proto může existovat menšina mužů s KS, kteří mají poruchu produkce testosteronu již v děloze. Byla prokázána souvislost mezi prenatálním testosteronem a rysy obličeje u dospělých. Tento fakt ukazuje, že vyšší testosteron pupečnickové šňůry souvisí s mužnější strukturou obličeje. [2, 4, 7]

3.2 Dětství a dospívání

U chlapců ve věku 7–12 let, byla zaznamenána zmenšená velikost semenných tubulů. Histomorfometrické a imunohistochemické analýzy ukazují, že v raném dospívání má většina chlapců s KS ve svých varlatech zárodečné buňky. Počet spermatogonií, zejména dospělých tmavých spermatogonií, je však výrazně snížen. Úbytek těchto buněk je zrychlen aktivací osy hypofýza – gonády na počátku puberty. Na obrázku 2B můžeme vidět výsledek testikulární biopsie chlapce, který je bez spermatogonie v porovnání s obrázkem 2A, kde je vzorek chlapce se spermatogonií, kdy pod označením Ap můžeme vidět bledou dospělou spermatogonii. [2]

U prepubertálních chlapců je povaha procesu degenerace evidentní, protože několik semenných tubulů obsahujících spermatogonii je obklopeno tubuly pouze Sertoliho buněk, což je vidět na obr. 2D. Na obrázku 2C je biopsie pacienta s rozsáhlou degenerací. [2]



Obrázek 2: Testikulární biopsie dospívajících chlapců s KS, A – chlapec se spermatogonií, B – bez spermatogonie, C – rozsáhlá degenerace, D – degenerace semenotvorných tubulů [2]

Diferenciace zárodečných buněk není zpožděna. Gonocyty dozrávají do spermatogonie bez významného zpoždění, pečlivá kontrola sériových řezů ale neodhalila žádné pachytenové spermatocyty. To naznačuje, že je diferenciace zárodečných buněk, alespoň částečně zastavena ve spermatogoniu, nebo v časném stadiu primárních spermatocytů. Zdá se, že spermatogonie u chlapců postižených KS má potíže se vstupem do meiózy. Místo toho na počátku puberty dochází k apoptóze těchto buněk. Sertoliho buňky jsou neschopné se během puberty transformovat na dospělý typ buněk. S věkem se zvyšuje fibróza, hyalinizace intersticia a peritubulární pojivové tkáně. Již u 12–14letých chlapců mohou být v testikulárních biopsiích viditelné obrovské hyperplastické Leydigovy buňky. [2]

Prepubertální chlapci 47, XXY se vyznačují normálními hladinami testosteronu, FSH, luteinizačního hormonu (LH) a inhibinu B v séru až do nástupu puberty. Jejich odpovědi na sérový testosteron po stimulaci lidským choriovým gonadotropinem jsou normální. Po celou dobu puberty zůstávají sérové koncentrace testosteronu v nízkém až normálním rozmezí. Takové hladiny testosteronu se zdají dostatečné k tomu, aby chlapcům s KS

umožnily normální nastavení a progresi puberty spolu s uspokojivým rozvojem sekundárních sexuálních charakteristik. [2]

Inhibin B vykazuje progresivní vzestup před klinickým nástupem puberty, avšak po tomto počátečním vzestupu následuje i rychlá suprese doprovázená současným zvýšením testosteronu v séru. Objevuje se tedy silná inverzní nelineární korelace mezi hladinami sérového inhibinu B a testosteronu. [2]

V polovině puberty FSH stoupá a biomarkery Sertoliho buněk klesají – často až na nedetekovatelné hladiny, objem varlat klesá. Ve střední až pozdní pubertě začne LH typicky stoupat nad normální rozmezí. [7]

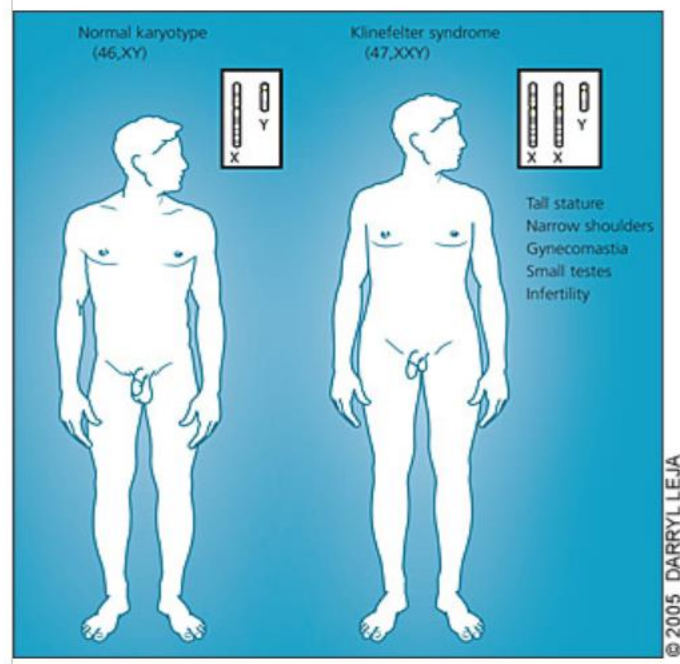
Na počátku puberty, se varlata začínají zvětšovat, brzy na to následuje smršťování navzdory zvýšeným hladinám FSH a LH a velikost varlat pak zůstane mnohem menší než u normálních dospělých mužů. Mezi klinické příznaky hypogonadismu v tomto věku se řadí neúplné pubertální zrání, přetrvávající pubertální (fyziologická) gynekomastie a relativně vysoký vzrůst. [4, 7]

3.3 Dospělost

Histologie varlat u dospělého pacienta s KS je charakteristická rozsáhlou fibrózou a hyalinizací semenotvorných tubulů, absencí spermatogeneze a hyperplazií Leydigových buněk a intersticia. Pozdější studie cytologických vlastností nezralých Sertoliho buněk naznačují nižší aktivitu než u zralých Sertoliho buněk, což pravděpodobně vede k narušení syntézy proteinů. Je tedy pozorována jednoznačná dysfunkce varlat. Varlata jsou často ještě menší než v období puberty a jejich histologie obvykle odhaluje nepřítomnost zárodečných buněk. Průměrný objem varlat u dospělých mužů s Klinefelterovým syndromem je 3,0 ml ve srovnání s 22 ml u zdravých mužů. [2, 7]

Dospělí pacienti jsou charakterizováni hypergonadotropním hypogonadismem. Koncentrace LH a FSH jsou vysoké. U zhruba 65–85 % mužů jsou koncentrace testosteronu v séru pod normální hodnotou, ovšem vyskytují se případy, kdy se mohou hladiny testosteronu pohybovat v normálním rozsahu. Hladiny sérového inhibinu B jsou u většiny dospělých pacientů nedetekovatelné. Inzulinu podobný protein 3 (INSL3) jakožto produkt Leydigových buněk, který je kritický pro sestup varlat a pravděpodobné zrání zárodečných buněk a zdraví kostí, je také nízký. [2, 7]

Co se týče vizuální, vzhledové stránky dospělého muže s Klinefelterovým syndromem tak mezi nejvýraznější rysy, jenž jsou patrné na první pohled, řadíme snížené ochlupení, včetně ochlupení obličeje. Vzhledem k dlouhým nohám jsou muži s KS často vyšší, než se předpokládá na základě rodičovské výšky. Tělesný habitus může být feminizovaný, což znamená, že jsou zdůrazněny znaky, které jsou typické spíše u ženského pohlaví. Konkrétním příkladem jsou větší prsa, která nacházíme u mužů s tímto syndromem. Právě tento znak je patrný na přiloženém obrázku 3. [5]



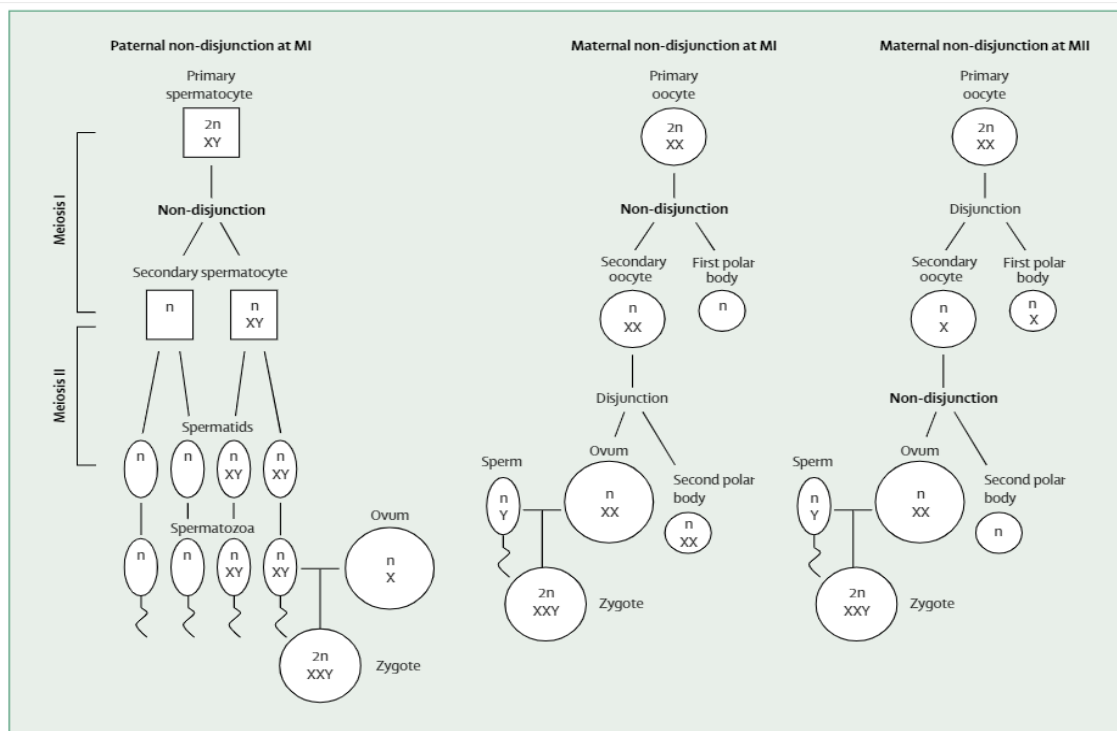
Obrázek 3: Porovnání tělesného vzhledu zdravého muže (vlevo) s mužem trpícím KS (vpravo) [5]

Za zmínku také stojí, že neexistují žádné obličejové vlastnosti, nebo rysy, které by naznačovaly diagnózu KS. Z diagnostických důvodů je proto nutné věnovat zvláštní pozornost fyzickému vyšetření tělesného habitusu. Tyto tělesné odlišnosti, které na první pohled nemusí být zcela zjevné, jsou způsobeny nedostatkem testosteronu a přímo, či nepřímo nepotlačenou funkcí FSH a LH. Na již zmíněném obrázku 3 můžeme vidět, že u muže s KS není vidět žádné výrazné postižení, které by naznačovalo jeho jakoukoliv odlišnost od zdravého muže a zmiňované znaky, jako například vysoký vzrůst a větší prsa, nemusí vždy souviset s Klinefelterovým syndromem. Možná právě proto je většina takto postižených mužů nediagnostikována. [5]

4 PŘÍČINA VZNIKU KLINEFELTEROVA SYNDROMU

4.1 Patofyziologie

Karyotyp 47, XXY vzniká nondisjunkcí. A to buď jako otcovská nondisjunkce v prvním meiotickém dělení (nedisjunkce otcovské meiózy II. vede ke karyotypu 47, XXX nebo 47, XYY – viz obrázek 4), nebo jako mateřská nondisjunkce v prvním, nebo druhém meiotickém dělení, nebo během postzygotického dělení. Srovnání událostí vedoucích k nondisjunkci homologních X chromozomů během otcovské nebo mateřské gametogeneze je podrobněji znázorněno na obrázku 4. [4, 8]



Obrázek 4: Patogeneze KS [9]

Nondisjunkce ve skutečnosti představuje selhání chromozomu oddělit se v anafázi během meiózy I, meiózy II nebo mitózy vedoucí k buňkám s aberantním počtem chromozomů. To se může stát buď během oogeneze nebo spermatogeneze (aberantní rozdělení chromozomů nebo chromatid během mateřské nebo otcovské meiózy), méně často (přibližně 3 %) pak během časného dělení oplodněného vajíčka. Výskyt mateřské, nebo otcovské meiotické disjunkce se jeví jako rovnoměrně rozložený – tedy každý má zastoupení téměř 50 %. U pacientů s KS se spolu s dalším mateřským chromozomem X nejpravděpodobněji vyskytla nondisjunkce v prvním nebo druhém meiotickém dělení. Kdežto v otcovských případech může nadpočetný chromozom X pocházet jen a pouze

z nondisjunkce v prvním meiotickém dělení, protože chyba meiózy II bude mít za následek XX, nebo YY gamety, a tedy vznik XXX nebo XYY zygotů. [10]

Většina případů (konkrétně 90 %) se vyskytuje v čisté formě s karyotypem 47, XXY, zatímco zbývajících 10 % zahrnuje následující abnormality pohlavních chromozomů: aneuploidie vyššího stupně (48, XXXY; 49, XXXXY) a strukturně abnormální X chromozomy, nebo mozaicismus (46, XY / 47, XXY), který je přítomen u přibližně 10–20 % pacientů s KS. Pochází buď z nondisjunkce v časném mitotickém dělení, kdy se vyvíjí 46, XY zygot, nebo ze ztráty jednoho z X chromozomu koncepce 47, XXY v důsledku zaostávání anafáze. [10, 11]

4.2 Vztah mezi věkem a Klinefelterovým syndromem

Pokročilý věk matky je jediným rizikovým faktorem KS založený na opodstatněných důkazech. Zejména stáří matky pohybující se nad 40 let je spojeno až se čtyřnásobným zvýšením rizika početí plodu, který bude postižen KS (viz kapitola 2). Účinek věku matky významně koreluje s postzygotickou mitotickou nondisjunkcí. Ve skutečnosti jsou první tři mitotická dělení řízena mateřským proteinem a ribonukleovou kyselinou (RNA). Tedy s nárůstem věku matky se odpovídajícím způsobem zvyšuje šance na mitotické chyby a také možnost vzniku KS post-zygotického původu. Důkazy týkající se pokročilého věku otce v souvislosti s chromozomálními aneuploidii jsou méně spolehlivé. Tedy co se týče věku otce, tak data o frekvenci věkově závislých změn aneuploidních spermií jsou v literatuře nekonzistentní, a tak zůstává souvislost mezi pokročilým otcovským věkem a chromozomální aneuploidii neurčená. I přes tento fakt Lanfranco a spol. uvádí, že u 228 mužů s Klinefelterovým syndromem nebylo ve spojení s pokročilým otcovským věkem zjištěno žádné zvýšené riziko početí postiženého dítěte. [8, 10, 12]

Co se týče věku postiženého pacienta tak známky a příznaky vzhledu také souvisejí s jeho stářím. Fenotyp se zhoršuje společně s postupujícím věkem, dle rostoucího počtu funkcí a komorbidit, které se hromadí během stárnutí a zároveň dochází ke zhoršení již přítomných onemocnění. Příznaky se objevují již v dětství. Mezi ty, které jsou patrné na první pohled, řadíme například delší nohy (muži postižení KS se obecně vyznačují vysokým vzrůstem), můžeme zaznamenat i poruchy řeči. Tyto symptomy jsou přisuzovány spíše genetické abnormalitě než hypogonadismu, jenž se řadí mezi primární znaky Klinefelterova syndromu. Zhruba po dovršení 25 let si asi 80 % mužů s KS stěžuje na příznaky spojené s již zmiňovaným hypogonadismem vyznačujícím se sníženým

libidem, nebo erektilní dysfunkcí. Pokud zmiňujeme symptomy spojené s věkem nelze opomenout anomálie genitálií – mikropenis, nesestouplá, či tvrdá varlata. Vše je podrobněji popsáno v kapitole 3. [10]

4.3 Inaktivace chromozomu X

Několik teorií se pokouší vysvětlit dopad nadpočetného X chromozomu na fenotypové vlastnosti KS. U zdravých žen je transkripce jednoho ze dvou chromozomů X náhodně inaktivována, aby se vyrovnal minimální genový obsah chromozomu Y v některých mužských buňkách. Tento inaktivovaný chromozom X lze mikroskopicky vizualizovat v ženských buňkách jako Barrovo tělísko (sexuální chromatin), které je regulováno nekódující RNA na chromozomu X (XIST). XIST leží na chromozomu X a exprimuje dlouhou nekódující RNA, která doslova pokrývá chromozom X vybraný pro inaktivaci. Podobným způsobem je v somatických buňkách subjektů s KS inaktivován nadpočetný chromozom X. Donedávna byla pro diagnostiku Klinefelterova syndromu použita detekce Barrova tělíska (objev Barrova tělíska a jeho dostání se do povědomosti – viz kapitola 1). Tato inaktivace nadbytečného genetického materiálu je pravděpodobně důvodem, že KS není ve srovnání s jinými aneuploidii charakterizován závažnými fenotypovými abnormalitami. Nakonec jsou tkáně žen mozaiky buněk s odlišným vzorem inaktivace X chromozomu. Takový mozaicismus neexistuje u zdravých XY mužů, zatímco je přítomen v případě Klinefelterova syndromu. [8, 13]

4.4 CAG repetice

Obzvláště důležitá je délka úseku tripletu obsahující cytosin, adenin a guanin (CAG). Čím kratší je tento úsek, tím vyšší je aktivita receptoru. Selektivní inaktivace kratší ze dvou alel by byla spojena s vážnějším fenotypem a sníženou odpovědí na substituční terapii testosteronem. Dalším genem, který prochází inaktivací je androgenový receptor. Ten se podílí na variabilitě dosaženého fenotypu u pacientů s tímto syndromem. Délka CAG repetice negativně koreluje s funkcí androgenového receptoru. Existující literatura ukazuje, že CAG délka opakování androgenového receptoru vysvětluje některé variability pozorované u fenotypu pacientů s KS. V nedávné studii antropometrických charakteristik bylo zjištěno, že délka oblasti CAG pozitivně korelovala s délkou paže, rozpětím paže a délkou nohy u pacientů postižených tímto syndromem. Wikström a spol. také zjistili inverzní korelaci mezi délkou opakování CAG a pozdějším nástupem pubertální reaktivace osy hypofýza – gonády. To jen potvrzuje zjištění pozitivní souvislosti s výškou a rozpětím paží. Pokud jde o další antropometrická měření, jako je

bitestikulární objem a gynekomastie, metabolismus lipidů, či parametry související s kostmi, tak některé studie našly negativní korelaci mezi těmito měřeními a délkou opakování CAG, kdežto jiné zase nenalezly korelaci žádnou. [4, 8]

4.5 Aktivita genů lokalizovaných v pseudoautozomálních oblastech

Pseudoautozomální oblasti (PAR1 a PAR2) jsou krátké homologní oblasti mezi chromozomy X a Y. PAR se chová jako autozom, to znamená, že nepatří k pohlavním chromozomům a rekombinuje se během meiózy. Geny v této oblasti jsou tedy zděděny spíše autosomálně nežli způsobem spojeným s pohlavím. PAR1 je umístěn v terminální oblasti krátkých ramen a PAR2 na špičkách dlouhých ramen těchto chromozomů. PAR1 je vyžadován během mužské meiózy pro párování chromozomů X–Y, což je proces, o kterém je známo, že má kritickou funkci v spermatogenezi. [10]

Doposud byl pouze jeden gen na pohlavních chromozomech přesvědčivě spojen s fenotypem KS, a to gen SHOX umístěný v PAR1 na Xp a díky zvýšenému účinku dávky genu je pravděpodobně zodpovědný za vysoký vzrůst a dlouhé nohy, jež jsou charakteristickým znakem pozorovaným u Klinefelterova syndromu. Přesto je třeba zdůraznit, že většina genů, u nichž se prokázala deregulovatelnost, leží mimo X chromozom. Tato skutečnost znamená, že přítomnost nadpočetného chromozomu může ovlivnit expresi několika genů v celém genomu. V souladu s tím byla v patologii KS prokázána diferenciální methylace více lokusů v porovnání s mužskými i ženskými kontrolami, jež tvořili zdraví jedinci. Většina těchto genů souvisí s energetickou rovnováhou a regulací imunity. Nedávno publikovaná data poskytla důkaz, že profil methylace deoxyribonukleové kyseliny (DNA) v Klinefelterově syndromu je spojen s rozsáhlými změnami jak v krvi, tak v mozkové tkáni. Je možné, že tyto genomové změny v methylaci DNA hrají roli v biologickém mechanismu, jehož výsledkem je klinický fenotyp. Stejně jako ovlivňují jeho variabilitu, protože metylace DNA je součástí našeho regulačního epigenetického aparátu, o kterém se předpokládá, že ovlivňuje naši genovou expresi. [4, 8]

Žádné geny, nebo genetické mechanismy nedokázaly vysvětlit například zvýšené riziko cukrovky typu 2, nebo další související problémy – neplodnost, nebo kognitivní a behaviorální fenotyp. [4]

4.6 Fenotyp Klinefelterova syndromu

Fenotyp pravděpodobně závisí na závažnosti exprese genetického defektu, nedostatku androgenu a citlivosti na androgenní receptory (tj. CAG). Čím větší bude genetická exprese, nedostatek androgenu a horší citlivost na androgenní receptory, tím více bude fenotyp závažný. Méně závažné formy genetických abnormalit, jako je mozaika, obvykle vedou k méně závažným klinickým příznakům, tak i k endokrinním abnormalitám, zatímco fenotyp se postupně zhoršuje se závažností polysomie (např. 49, XXXXY). Jazyková a řečová postižení se zvyšují s nárůstem nadpočetných X chromozomů a zdá se, že přispívají ke snížení inteligenčního kvocientu (IQ) o 15–16 bodů na každý další chromozom X. [10]

Vysoká frekvence mírných fenotypů alespoň částečně vysvětluje, proč většina pacientů s KS zůstává nediodagnostikovaná. Vzhledem k tomu, že charakteristické příznaky tohoto onemocnění se pouze zřídka vyskytují současně, je tento syndrom často přehlížen a diagnóza je buďto úplně vynechána, nebo opožděna. [10]

5 DALŠÍ CHARAKTERISTIKA KLINEFELTEROVA SYNDROMU

5.1 Plodnost a sexuální funkce

Klinefelterův syndrom se do povědomí veřejnosti dostal také jako dobře známá příčina neplodnosti dospělých mužů. Ve skutečnosti je mnoho mužů s chybějícími nebo jemnými rysy, jenž jsou charakteristické pro toto onemocnění a z toho důvodu nemusí být upozorováni praktickými lékaři. K diagnostice poté dochází v dospělosti, když selhávají pokusy o přirozené těhotenství. Pouze asi 8 % mužů s KS má v ejakulátech přítomno spermie. V těchto situacích, u nichž jsou v ejakulátu vidět pohyblivé spermie, by měla být nabídnuta kryokonzervace. Otcovství bylo hlášeno jen v několika málo případech a donedávna byli tito pacienti všeobecně považováni za neplodné. Tyto ejakulované spermie, nebo spermie extrahované z testikulárních biopsií (TESE) jsou aplikovány přímo pomocí intracytoplazmatické injekce do oocytů (ICSI) a dochází k narození živých potomků. Spermatogeneze je přítomna u pacientů s KS ve velmi nízké míře a jsou hlášeny pouze vzácné případy spontánního otcovství. Před zavedením techniky ICSI však byl výhled plodnosti u většiny těchto pacientů beznadějný. ICSI nabízí příležitost pro reprodukci, i když spermie nejsou přítomné v ejakulátu, ale pouze ve varlatech. Většina dětí narozených po ICSI za použití spermií mužů s Klinefelterovým syndromem má normální karyotyp. Technikami jako je TESE a ICSI se bude podrobněji zabývat kapitola 7 – konkrétně podkapitola 7.3. [9, 14–16]

5.1.1 Histologie varlat mužů 47, XXY

Patologie neplodnosti u mužů s KS začíná již v děloze a je důsledkem degenerace zárodečných buněk. Postupuje pomalu v kojeneckém období a raném dětství, zrychluje se během puberty a dospívání. Nakonec vede k rozsáhlé fibróze a hyalinizaci semenných kanálků a hyperplazii interstitia. Testikulární objem je významně snížen u kojenců a prepubertálních chlapců ve srovnání se zdravými chlapci ve stejném věku, což naznačuje, že počet semenných tubulů je před pubertou významně snížen. Degenerace zárodečných buněk je zaznamenána již u pubertálního chlapce s tímto syndromem. U prepubertálních chlapců byly zárodečné buňky ve varlatech pouze u 50 % chlapců, což naznačuje, že plodnost může být již v tomto mladém věku narušena. Dále bylo prokázáno, že diferenciace zárodečných buněk byla zastavena ve spermatogoniu, nebo v časném stadiu spermatocytů a že spermatogonie podstoupila apoptózu místo vstupu do meiózy na počátku puberty. Ukázalo se, že azoospermatičtí (absence spermií v ejakulátu) muži

s KS mohou mít jedno zbytkové ložisko se zachovanou spermatogenezí. To může hrát významnou roli při použití technik asistované reprodukce pro otce dítěte. [16, 17]

5.1.2 Mechanismy spermatogenetického selhání

Skutečnost, že se spermie nacházejí ve varlatech mužů s Klinefelterovým syndromem zpochybňuje předchozí předpoklad, že jsou tito muži vždy sterilní a nastolila otázku, zda se děti s Klinefelterovým syndromem rodí se značně sníženým počtem spermatogonií, nebo zda existuje období života, kdy spermatogonie podstoupí masivní apoptózu. Tato otázka je z klinického hlediska důležitým problémem, protože lepší pochopení mechanismů selhání varlat nám umožní nabídnout vědecky podložené možnosti léčby pro tyto pacienty. Na základě aktuálních údajů lze předpokládat, že většina mužů s KS se narodila se spermatogonií. Během rané puberty, nejpravděpodobněji po zahájení první vlny spermatogeneze, však spermatogonie prochází masivní apoptózou, což odpovídá rychlému nárůstu hladin FSH. Tato hypotéza je založena na třech faktech: identifikace a zotavení spermií u dospělých subjektů naznačuje, že spermatogonie je přítomna alespoň u poloviny těchto mužů, dále potom vzácná identifikace spermií v ejakulátu a údaje o biopsii chlapců v různých věkových a vývojových stádiích, které naznačují, že tito chlapci mají při narození spermatogonii a poškození zárodečného epitelu nastává brzy v pubertě. Konkrétním příkladem z praxe je identifikace dvou chlapců, kteří měli adekvátní počet spermií v ejakulátu během rané puberty, a tak byla možná kryokonzervace ejakulovaných spermií. To poskytuje důkaz, že spermatogenní selhání nastává brzy v pubertě a alespoň někteří chlapci dokončí úplnou vlnu spermatogeneze. [18]

Při zkoumání molekulárních mechanismů ztráty spermatogeneze byly navrženy tři potenciální mechanismy: intratestikulární hormonální nerovnováha spolu s přecitlivělostí na zvýšení intratestikulární koncentrace testosteronu a estradiolu, dysfunkce Sertoliho buněk a defekty v obnově spermatogonických kmenových buněk. Méně pravděpodobným, i když možným vysvětlením spermatogenního selhání, by byla ztráta spermatocytů během meiózy v důsledku abnormálního párování chromozomů X a Y. Nízký testosteron a zvýšené hladiny estradiolu jsou hlavními příznaky tohoto syndromu. U většiny mužů začíná elevace LH a FSH brzy během puberty. V tuto chvíli není známo, proč mají muži s KS nižší testosteron navzdory zvýšenému LH zejména proto, že 80 % Leydigových buněk má normální morfologii. Možným vysvětlením je nedostatek adekvátní zpětné vazby ze zárodečných buněk. Je známo, že Leydigovy buňky vyžadují

adekvátní parakrinní stimulaci ze Sertoliho buněk a zárodečných buněk. Sertoliho buňky jsou rozhodující pro normální produkci spermií, a právě funkce Sertoliho buněk je v těchto případech narušena. [18]

Nejnověji bylo prokázáno, že exprese genu cytochromu P450 rodiny 19 (CYP19), enzymu konvertujícího testosteron na estradiol, je 4krát vyšší ve varlatech mužů s Klinefelterovým syndromem. Objevují se důkazy, které naznačují, že snížení hladiny intratestikulárního estradiolu pomocí inhibitorů aromatázy má příznivý účinek na produkci testosteronu a může potenciálně zlepšit spermatogenezi. [18]

Spermie nalezené ve varlatech mají jen mírně zvýšenou frekvenci polysomií pohlavních chromozomů a většina chlapců narozených od otců s KS má normální karyotyp. To naznačuje, že během meiotického dělení jsou mechanismy kontrolních bodů schopné překonat polysomii chromozomů X, což vede ke spermiím s jediným chromozomem X. Během normálních meiotických dělení dochází k párování chromozomů X a Y v pseudoautozomálních oblastech, konkrétně v oblasti zvané sexuální tělo. Zdá se, že muži se spermiemi nalezenými během TESE mají 46, XY spermatogonie, jenž indikují výskyt procesu opravy během spermatogoniální obnovy. Výzkumy naznačují přítomnost opravného mechanismu, který při spermatogoniální obnově umožňuje ztrátu dodatečného chromozomu X a je nejpravděpodobnějším vysvětlením existence spermií haploidních pohlavních chromozomů takto postižených mužů. Lepší znalosti o opravných mechanismech během spermatogeneze by nám umožnily v budoucnu vyvinout nové terapeutické intervence. [18]

5.2 Hypogonadismus

Pojem hypogonadismus byl v souvislosti s KS zmíněn již nesčetněkrát. Nyní je důležité definovat si, co tento termín vlastně znamená a jaké jsou jeho důsledky. Hypogonadismus je lékařský termín označující sníženou funkční aktivitu pohlavních žláz. Charakteristickým znakem je nedostatek testosteronu – kritického hormonu pro sexuální a tělesné funkce, v neposlední řadě také pro vývoj. Klinicky nízké hladiny testosteronu mohou vést k absenci sekundárních pohlavních znaků, neplodnosti, snížené tvorbě svalů a mineralizaci kostí, poruchy metabolismu tuků a kognitivních funkcí. Hypogonadismus může vzniknout z onemocnění varlat (primární hypogonadismus), nebo z dysfunkce hypotalamo – hypofyzární jednotky (sekundární hypogonadismus). [19–21]

U primárního hypogonadismu jsou, jak již bylo zmíněno ovlivněna především varlata, koncentrace testosteronu v séru je podstatně snížena, je narušena spermatogeneze a dochází ke zvýšení koncentrace gonadotropinů – proto hypergonadotropní hypogonadismus. Fyziologická funkce varlat je důležitá pro virilizaci, fyzickou sílu, chování a reprodukci. U mužů mají varlata dvě klíčové funkce: produkci testosteronu a spermatogenezi. Testosteron, který je převládajícím cirkulujícím androgenem, je produkován Leydigovými buňkami a je zásadní pro udržení mužského fenotypu. Spermatogeneze probíhá uvnitř semenných kanálků a je nezbytná pro mužskou plodnost. Mužský hypogonadismus označuje narušení jedné, nebo obou těchto funkcí. [20]

Sekundární hypogonadismus naznačuje problém v hypotalamu, nebo hypofýze. Tedy částech mozku, které dávají pokyn varlatům k produkci testosteronu. Je charakterizován nízkými koncentracemi testosteronu v séru, sníženou spermatogenezí a nízkými, nebo nepřiměřenými koncentracemi gonadotropinů – hypogonadotropní hypogonadismus. [20]

U primárního hypogonadismu je narušení spermatogeneze obecně větší než u produkce testosteronu, zatímco u sekundárního hypogonadismu jsou obě funkce ovlivněny ve stejné míře. Sekundární hypogonadismus je spojen také s obezitou nezávisle na věku, zatímco primární hypogonadismus je naopak silně spojen s věkem, neboť cirkulující testosteron u mužů progresivně klesá o 0,4–2 % ročně od třetí dekády. Oba typy hypogonadismu mohou být buďto zděděny (jsou vrozené), nebo jsou ovlivněny událostmi, jako je zranění, nebo infekce, které se stanou později v životě (jsou získané). [20, 22]

Různé typy hypogonadismu mají různé terapeutické důsledky, a proto je důležitá přesná klasifikace pacientů. U mužů s primárním hypogonadismem nelze hormonální terapií obnovit plodnost, protože jsou poškozeny semenotvorné tubuly. Místo toho by mohlo být zváženo použití spermatu dárce, technologie asistované reprodukce, či adopce. Naproti tomu plodnost u sekundárního hypogonadismu může být často obnovena terapií gonadotropiny. [20]

Mezi běžné příčiny primárního hypogonadismu patří KS, kdy extra X chromozom způsobuje abnormální vývoj varlat, což má za následek nedostatečnou produkci testosteronu. Právě porucha varlat patří mezi typické znaky primárního hypogonadismu. Klinefelterův syndrom ovšem nemusí být jedinou příčinou vzniku. Příliš mnoho železa v krvi může způsobit selhání varlat, či dysfunkci hypofýzy, což opět ovlivňuje produkci testosteronu. Mezi další rizikové faktory patří například chemoterapie, eventuálně

radiační terapie. U sekundárního hypogonadismu jsou varlata normální, problémem je, že fungují nesprávně. Důvodem vzniku může být Kallmannův syndrom vyznačující se abnormálním vývojem hypotalamu, což je oblast mozku, která řídí sekreci hormonů hypofýzy. Zajímavým zjištěním je, že svůj podíl na vzniku sekundárního hypogonadismu může mít virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) způsobující syndrom získaného selhání imunity (AIDS). Tento virus může způsobit nízkou hladinu testosteronu ovlivněním hypotalamu, hypofýzy a varlat. [21]

5.2.1 Fyziologie osy hypotalamus – hypofýza – gonády

Osa gonád je regulována spojitostí hypotalamových neuronů v medio-bazálním hypotalamu, který reaguje na stimulaci peptidovým hormonem kisspeptinem. Hypotalamus vylučuje hormon uvolňující gonadotropin (GnRH), který působí na přední hypofýzu a produkuje hormony FSH a LH. LH působí na intersticiální Leydigovy buňky varlat a stimuluje je k produkci testosteronu, zatímco FSH stimuluje spermatogenezi a funkci Sertoliho buněk. Sekrece LH z hypofýzy není konstantní, ale sekretuje přibližně šest dávek denně. Nejvyšší produkce je ráno, nejnižší v podvečer. Varlata produkují 3–10 mg testosteronu denně, což zhruba odpovídá koncentracím 10,4–34,7 nmol/l v séru, které vrcholí ráno. Testosteron působí přímo prostřednictvím androgenních receptorů. Také je přeměněn na dva aktivní metabolity – konkrétně na dihydrotestosteron pomocí enzymu 5- α reduktázy, nebo na estradiol pomocí enzymu aromatázy. [20, 23]

Osa hypotalamus – hypofýza – gonády (HPG) je regulována mechanismem negativní zpětné vazby. Testosteron inhibuje frekvenci a amplitudu uvolňování GnRH z hypotalamu a také sekreci LH z hypofýzy. Sertoliho buňky varlat kromě stimulace spermatogeneze vylučují glykoproteinový hormon inhibin, který poskytuje negativní zpětnou vazbu hypofýze a inhibuje sekreci FSH. [23]

5.2.2 Role hypogonadismu v Klinefelterově syndromu

Účinky dlouhodobého hypogonadismu může být obtížné rozeznat od účinku genové dávky extra X – chromozomu. Ať už je příčina jakákoli, změny ve složení těla s větším množstvím tuku spolu s menším množstvím svalové hmoty a sníženou kostní minerální hmotou, doprovázené zvýšeným rizikem metabolických následků, jako je cukrovka typu 2 a metabolický syndrom, jsou u takto postižených mužů běžné. Tyto důkazy působí znepokojivě zvláště proto, že nejde pouze o laboratorní nálezy. Epidemiologické studie v populacích mužů s KS ukazují zvýšené riziko hospitalizace i úmrtí na různá

onemocnění. Během posledních desetiletí se objevilo mnoho nových informací o dlouhodobých důsledcích syndromu, které popisují spoustu problémů, jimiž tito muži trpí. Klinefelterův syndrom není jen o poruše varlat a nadměrné výšce. Má výrazné účinky na mozek, chování, psychiatrickou morbiditu, složení těla, citlivost na inzulín, tvorbu kostí, riziko zlomenin a negativně ovlivňuje obecnou morbiditu a mortalitu. I když tito chlapci nemají intelektuální postižení, často se u nich vyskytují jazykové potíže s učením, včetně nedostatků v expresivním jazyce, sociálním jazyce a čtení. [24, 25]

5.2.3 Chování, kognitivní funkce

Při zkoumání chování a sociální komunikace prokázané u této populace mužů je třeba vzít v úvahu variabilitu profilu 47, XXY. Zatímco někteří chlapci vykazují potíže s řešením konfliktů, vzájemnou interakcí, nebo sociální formulací řeči v sociálním prostředí, jiní naopak vykazují malé až žádné problémy s chováním. Lze tedy říci, že se jedná spíše o individuální záležitost každého jedince. Ovšem porucha komunikace byla zaznamenána u 92 % případů, přičemž hlavní nálezy popisovali poškození v sociálně – pragmatickém jazyce, v jazykové paměti a v gramotnosti. Dále je pozorována zvýšená psychiatrická morbidita, včetně zvýšené prevalence úzkosti, poruch pozornosti, hyperaktivity a schizofrenie. Za vyvolání neuropsychologického fenotypu pozorovaného u KS je zodpovědný jak genový dávkovací účinek způsobený nadpočetným chromozomem X, tak i nedostatečnost androgenu, či kombinace obojího. [24–27]

Muži s KS (konkrétně karyotyp 47, XXY) mají IQ v normálním rozmezí, i když je v průměru o 10–15 bodů nižší než IQ jejich sourozenců. Ovšem jazyková a řečová postižení se zvyšují s nárůstem nadpočetných chromozomů X (např. 48, XXXY) – viz podkapitola 4.6. Tyto studie ukázaly, že zpoždění řeči je časté a vyžaduje logopedická cvičení. [28]

Mnoho z kognitivních postižení a psychologických rysů je přítomno již v dětství, před vznikem hypergonadotropního hypogonadismu. Chlapci s prenatální diagnózou 47, XXY mají obecně méně problémů, ale aby byli úspěšně léčeni, vyžadují důslednou podporu a dohled. Děti, které dostávají časnou hormonální terapii v kojeneckém věku, mají méně problémů, než jejich neléčené a postnatálně diagnostikované protějšky. Vzhledem k tomu, že časná hormonální terapie může zvýšit funkci čelního laloku a expresivní schopnosti, její podání může minimalizovat projevené obtíže s chováním. V dospělosti se tento problém řeší hormonální substituční terapií, ovšem nedostává se takovému zlepšení

jako v případě prenatalní diagnostiky a léčby. Další výzkum také zjistil, že hormonální terapie snižuje autistické rysy, agresivitu, afektovanost a také zlepšuje sociální komunikaci. [24, 25]

Jedinci s karyotypem 47, XXY mají zvýšené riziko depresí, autistických rysů, poruchy pozornosti s hyperaktivitou (ADHD) a emoční dysregulace. Právě u ADHD byl zjištěn zvýšený výskyt symptomů tohoto onemocnění, přičemž projevy byly hlášeny u 41–63 % chlapců, proto by měli být tito jedinci sledováni po celé dětství až do mladé dospělosti. Ve srovnání s ostatními chlapci v jejich věku se adolescenti s KS považují za citlivé introverty, kteří si jsou nejistí sami sebou. Rovněž mají více problémů se skupinami svých vrstevníků a menší sexuální zájem o dívky. Sociálně emoční profil je proměnlivý, ale tito chlapci se obvykle projevují jako plaší, často jsou náchylní k zvýšené úzkosti, zvláště když nebyla včas zahájena hormonální substituční léčba. Vzhledem k prevalenci jazykových poruch učení mohou mít chlapci s KS potíže s identifikací a verbalizací svých emocí ve srovnání s jejich neurotypickými vrstevníky. Kombinace ženských tělesných rysů, špatné motorické koordinace, potíže s řečí a pamětí pravděpodobně narušuje dosažení přiměřeného sebevědomí, zvyšuje úzkost a podporuje nejistotu. Prolínání těchto faktorů ztěžuje určení, jaký vliv má další chromozom X, nebo nízké hladiny androgenu na lidské chování. Etiologie variability chování u Klinefelterova syndromu dosud není dobře známa, ale kritické faktory mohou zahrnovat včasnou biologickou léčbu, načasování diagnózy, rodinnou anamnézu, vychýlenou inaktivaci chromozomu X, nebo synergii mezi těmito faktory. [3, 24]

5.2.4 Osteoporóza, riziko zlomeniny

Hypogonadismus je u žen i mužů dobře známou příčinou nízké kostní minerální hustoty (BMD) a osteoporózy. U mužů hraje testosteron i estrogen zásadní roli při nárůstu a udržování kostní hmoty. Testosteron reguluje metabolismus mužských kostí jak nepřímou – aromatizací na estrogény, tak i přímo – působením na osteoblasty prostřednictvím androgenového receptoru. Čistým účinkem testosteronu je podpora tvorby periosteálních kostí většinou během puberty a snížení resorpce kostí během dospělosti. Konečným účinkem androgenů na kost je udržení spongiózní kostní hmoty a zvětšení velikosti kosti stimulací podélného i radiálního růstu. To vede k větší velikosti a pevnosti kostí ve srovnání se ženami. Testosteron je zásadní v kritickém stadiu kostního dozrávání, konkrétně k dosažení maximální kostní hmoty na konci puberty a k jejímu

udržení během dospělosti. Nedostatek produkce testosteronu během puberty je důležitým rizikovým faktorem předčasné mužské osteoporózy. [25, 29]

Ve skutečnosti je předčasná mužská osteoporóza obvykle spojena s hypogonadismem, jak je pozorováno u Klinefelterova syndromu. Bylo popsáno, že nejenom sérové hladiny testosteronu, ale také hladiny LH vykazují významnou souvislost s osteoporózou, nebo zlomeninami. Kromě toho existuje spojení mezi testosteronem a cestou vitamínu D. Testosteron nepřímo působí na osu parathormonu a vitamínu D. Nedostatek testosteronu souvisí se snížením aktivity 1α -hydroxylázy v ledvinách s následným snížením koncentrace 1,25-hydroxy vitamínu D, což je aktivní forma vitamínu D. [29]

Kostní obrat u mužů je ovlivňován také estrogeny. Velká část působení testosteronu na kostní metabolismus je zprostředkována jeho aromatizací na estrogeny. Estrogeny jsou důležitým zesilovačem kostní hmoty během růstu a zrání, zesilují kostní kůry, udržují BMD, zpomalují úbytek kostní hmoty a jsou nezbytné pro periosteální kostní expanzi během puberty. V případě KS může vysoká, nebo normální hladina estrogenu chránit před nadměrným úbytkem kostní hmoty. Neléčení pacienti mají normální sérovou koncentraci estrogenu (E2), ale vyšší poměr E2/testosteron než u normálních mužů, což naznačuje zvýšenou aromatizaci androgenů na estrogeny. Navíc ve srovnání s obecnou populací mají muži s KS zvýšenou úmrtnost na rakovinu prsu, což lze částečně vysvětlit abnormálními hladinami estrogenu. [25, 29, 30]

Studie zjistila, že 42,5 % pacientů s Klinefelterovým syndromem mělo kombinaci osteoporózy a osteopenie, která byla osmkrát vyšší než u mužů s normálním karyotypem. Snížená BMD je způsobena zvýšeným kostním obratem a je doprovázena vyšším rizikem zlomeniny kostí, zejména v oblasti femuru. Zlomeniny mužů trpících KS jsou závažnější, mají vliv na jejich tělo a socioekonomické aspekty, na rozdíl od zlomenin, které se vyskytují u stárnoucích mužů. Klinický význam snížené BMD se odráží v epidemiologických studiích popisujících zvýšené riziko morbidity a mortality na zlomeniny u takto postižených pacientů. [25, 31]

Mladí jedinci s Klinefelterovým syndromem mají v dětství a na začátku pubertálního vývoje normální kostní hustotu. V pozdějších fázích puberty se vyvine progresivní selhání varlat vedoucí k primárnímu hypogonadismu. Takový nedostatek produkce testosteronu během puberty představuje nejdůležitější rizikový faktor pro snížení kostní hmoty a osteoporózu. [29]

Další možný mechanismus, podílející se na rozvoji úbytku kostní hmoty, může souviset s nepříznivým poměrem tuk/svalovina, jež je způsobený zvýšenou tukovou hmotou a sníženou svalovou hmotou. Není však jasné, zda je tento poměr způsoben výlučně nízkou hladinou testosteronu, nebo jinými mechanismy souvisejícími s genetickým defektem. Nedávné studie ve skutečnosti naznačují, že nepříznivý poměr tuk/sval je přítomen již u mladých adolescentů, zatímco defekty kostní hmoty se objevují v pozdní pubertě, či později. Co se týče pozitivního účinku léčby testosteronem, je stejně jako v případě kognitivních funkcí doporučeno zahájit hormonální substituční léčbu adekvátními dávkami testosteronu brzy v pubertě, aby byl zajištěn správný vývoj objemu kostí a svalů a aby se zabránilo pozdějšímu riziku, jež představuje nízké BMD. Žádná studie nehodnotila účinek substituční léčby testosteronem na riziko zlomenin. [20, 25, 29]

5.2.5 Inzulínová rezistence, metabolický syndrom

V posledních 40 letech byla v řadě studií objevena souvislost mezi Klinefelterovým syndromem a diabetem. Abnormální hodnoty orálního glukózového tolerančního testu lze detekovat u více než třetiny pacientů, což vede k domněnce, že lze tento syndrom považovat za „prediabetes“. Studie provedená u 89 předpubertálních chlapců s KS zjistila, že 37 % má zvýšenou hladinu LDL cholesterolu, 24 % má inzulínovou rezistenci a 7 % splňuje kritéria metabolického syndromu. V obecné populaci byl hlášen jasný vztah mezi koncentrací testosteronu v séru a citlivostí na inzulín. Sérové hladiny testosteronu jsou nezávisle spojeny s inzulínovou rezistencí, zvýšeným rizikem vzniku diabetu typu 2, obezitou, nepříznivým lipidovým charakterem a metabolickým syndromem. To vše koreluje s rizikovým kardiovaskulárním profilem. Nízký testosteron spojený s obezitou a metabolickým syndromem také přispívá k sexuální dysfunkci. U mužů s KS bylo pozorováno pětinašobně zvýšené riziko metabolického syndromu. [31–35]

Metabolický syndrom je charakterizován skupinou metabolických rizikových faktorů, mezi něž patří abdominální obezita, charakteristická nadměrnou tukovou tkání kolem břicha, aterogenní dyslipidemie (poruchy krevního tuku – vysoké triacylglyceroly, nízký HDL a vysoký LDL cholesterol), zvýšený krevní tlak, rezistence na inzulín, nebo intolerance glukózy a protrombotický stav. Kromě souvislosti mezi nízkým testosteronem, složením těla, metabolickým syndromem a citlivostí na inzulín je hypogonadismus také spojován se zvýšeným C-reaktivním proteinem a chemokinovým ligandem 2 (CCL2), který je uvolňován monocyty a makrofágy a je spojen s inzulínovou rezistencí. Muži s KS, kteří nejeví známky metabolického syndromu, mají stále zvýšené

hladiny CCL2, což naznačuje, že tento ligand může být markerem metabolických poruch. U pacientů s KS testosteron pozitivně koreloval s CCL2. Dále bylo zjištěno, že testosteron snižuje sekreci několika cytokinů a chemokinů včetně CCL2 z mononukleárních buněk periferní krve. Když jsou dospělí muži trvale zbaveni testosteronu, hladiny CCL2 stoupají. Tato data naznačují, že prozánětlivý stav může také odpovídat za určitou dysfunkci Leydigových buněk, a že na vývoji metabolického syndromu v případě KS se může podílet infiltrace makrofágů do expandované tukové tkáně. [24, 35–37]

Patogeneze metabolických změn spojených s Klinefelterovým syndromem zůstává ne zcela pochopena. V běžné populaci je známo, že hypogonadismus a inzulinová rezistence mají oboustranný vztah. Zároveň fyziologické experimenty u dobrovolníků mužského pohlaví prokázaly, že inzulinová rezistence je spojena se sníženou odpovědí Leydigových buněk na lidský choriový gonadotropin, jež je analogem luteinizačního hormonu. [36]

Většina mužů s tímto syndromem má změny ve složení těla, které mohou vést k výše zmíněným problémům (diabetes, aterogenní dyslipidemie...). Tato onemocnění korelují se zvýšeným rizikem úmrtí na kardiovaskulární, nebo cerebrovaskulární poruchy. Právě tělesná konstrukce může hrát určitou roli v případě této problematiky. Multivariační analýza ukázala, že obezita byla hlavním determinantem jak přítomnosti metabolického syndromu, tak snížené citlivosti na inzulin. Leptin, silný biomarker celkového množství tělesného tuku, byl proto značně zvýšen. U indexu tělesné hmotnosti (BMI), který představuje poměr mezi výškou a hmotností a lze jej tedy označit jako měřítko obezity, mají muži 47, XXY vyšší procenta tělesného tuku než jejich 46, XY vrstevníci. Pokud bychom srovnali muže s Klinefelterovým syndromem s kontrolami zdravých mužů, trunkální adipozita je nejsilnějším prediktorem snížené citlivosti na inzulin. Je zajímavé, že zvýšená tělesná tuková hmota byla přítomna již u chlapců před pubertou. Novější studie zjistila, že 80 % prepubertálních chlapců postižených tímto syndromem mělo alespoň jednu vlastnost metabolického syndromu, definovaného jako abnormální obvod pasu, potíže s lipidy, glukózou, nebo krevním tlakem. Tento fakt ukazuje na možný genetický vliv tělesného tuku, kromě vlivu hypogonadismu, který se uplatňuje později v životě. [36, 38]

Několik dosavadních studií porovnálo „klasický“ karyotyp 47, XXY s atypickými formami (48, XXXY a 49, XXXXY). U atypických forem byl zaznamenán vyšší výskyt

diabetu, ovšem vzhledem k malému množství vzorků je obtížné vyvodit adekvátní závěry. [36]

Kromě kazuistik nebyly zveřejněny žádné prospektivní studie o vlivu léčby testosteronem na inzulinovou citlivost, složení těla, nebo markery metabolického syndromu, ale byly studovány i jiné populace. U obézních mužů středního věku došlo po 8 měsících léčby testosteronem k významnému snížení adipozity a zlepšení citlivosti na inzulin. Tyto studie naznačují, že léčba testosteronem u hypogonadálních mužů může zvrátit nepříznivé složení těla a mírně zlepšit inzulinovou rezistenci, i když se srovnatelné studie pacientů s Klinefelterovým syndromem v tomto případě neshodují. Ačkoli testosteron může potenciálně ovlivňovat metabolismus několika mechanismy, nezdá se, že by substituční terapie testosteronem u KS jedinců přímo ovlivňovala metabolismus glukózy, nezastaví ani nástup diabetu a nezmění jeho závažnost. Navzdory známým souvislostem mezi hladinami testosteronu a metabolickým zdravím nejsou prozatím osvědčené postupy pro léčbu diabetu typu 2 v případě KS dobře zavedeny. I když je role substituční terapie testosteronem stále nejasná, studie provedené u běžné populace naznačují, že intervence životního stylu spojená se snížením hmotnosti bude pravděpodobně pro lidi s KS přínosem. Úbytek váhy zvyšuje hladinu endogenního testosteronu u těžce obézních mužů a také zlepšuje inzulinovou rezistenci. Konečným cílem je samozřejmě snížení morbidity a mortality, respektive zlepšení kvality života pacientů s Klinefelterovým syndromem. [35, 36, 38, 39]

6 DIAGNOSTIKA

6.1 Prenatální

Diagnózu Klinefelterova syndromu lze stanovit *in utero*, když se provádí chromozomální karyotypizace vzorku plodové vody získávané rutinně od těhotných žen v pokročilém věku. Většina screeningových testů nezahrnuje analýzu aneuploidií pohlavních chromozomů, pokud si ji budoucí rodiče výslovně nevyberou. Vzhledem k relativně normálnímu fenotypu, zejména na ultrazvuku, je prenatálně diagnostikováno pouze malé procento (10–13 %) jedinců, navíc na ultrazvuku neexistují žádné typické malformace. S rostoucím využitím sérového screeningu a bezbuněčné DNA je však diagnóza KS stanovována častěji. K potvrzení prenatální diagnózy u dětí diagnostikovaných *in utero* je třeba provést cytogenetiku periferní krve. Analýza mikrolece chromozomu Y se provádí u azospermatických mužů. [3, 40–43]

Rodiče by měli být obeznámeni o problematice tohoto syndromu spolu s širokou škálou klinických projevů, které se u jejich dítěte mohou vyskytovat. Tyto informace mohou pomoci zvážit substituční terapii testosteronem brzy v pubertě a zvýšit jejich povědomí o poruchách učení a dalších postižení, které se mohou vyskytovat v dětství, nebo během dospívání. Na základě diagnózy 47, XXY se mnoho párů rozhodne těhotenství ukončit, respektive ne všechny případy prenatálně diagnostikovaného KS vedou k narození takto postiženého chlapce. Přibližně 70 % párů se rozhodne pro ukončení těhotenství, což je méně než u autozomálních trizomií, ovšem více než u jiných poruch pohlavních chromozomů (například 47, XYY). [3, 41, 42]

Během posledních čtyř desetiletí byly prenatální diagnostiky abnormalit chromozomů prováděny cytogenetickou analýzou amniotických, choriových, nebo fetálních krevních buněk. Ty byly po několikadenní kultivaci *in vitro* vyšetřeny v metafázi pomocí vhodných postupů barvení. Chromozomové analýzy umožňují přesnou detekci numerických i strukturních abnormalit ve všech chromozomech. Hlavní nevýhodou je dlouhodobá kultivace plodových buněk. Interval mezi odběrem vzorků a závěrečnou zprávou činí přibližně 10–14 dnů a může pro rodiče představovat velmi úzkostlivé období, zvláště pokud se v prvním, nebo druhém trimestru provádějí neinvazivní screeningové testy (například ultrazvuk, biochemický test) a naznačují zvýšený výskyt poruch chromozomů. [44]

Invazivní postupy pro prenatální testování jako je aminocentéza, nebo odběr vzorků choriových klků, se používají jako diagnostické možnosti pro vysoce rizikové matky, například pro ty s rodinnou anamnézou genetických poruch. Při volbě použití těchto testů se rodiče nejčastěji zabývají identifikací běžných autosomálních abnormalit, jako jsou trizomie chromozomu 13 (Patauův syndrom), 18 (Edwardsův syndrom) a 21 (Downův syndrom), aniž by nutně věděli, že tyto metody mají také schopnost prenatálně detekovat aneuploidie pohlavních chromozomů, což může vést k náhodné diagnostice jako je 47, XXY. [24]

Zavedením neinvazivního prenatálního testování (NIPT) došlo ke zvýšení prenatální identifikace 47, XXY prováděných již v 10. týdnu těhotenství. NIPT izoluje a analyzuje bezbuněčnou fetální DNA v mateřské krvi za účelem identifikace chromozomálních anomálií. Toto je nyní možnost screeningu pro všechny těhotné ženy bez ohledu na věk a je často považována za příznivou kvůli neinvazivní povaze testu. Objev bezbuněčné fetální DNA v mateřském séru představuje pokrok v medicíně a je průkopníkem prenatálního screeningu chromozomálních abnormalit. Přestože je NIPT považován za vysoce přesný (citlivost 91,0 % a specifická 99,6 %), není tato testovací metoda diagnostická. Současné metody NIPT navíc nedisponují schopnostmi potvrdit přítomnost více než jednoho chromozomu X. To znamená, že NIPT během těhotenství odhalí pouze karyotyp 47, XXY, ovšem postnatálně může být identifikován karyotyp 48, XXXY, nebo 49, XXXXY. Pozitivní výsledky proto musí být potvrzeny amniocentézou, odběrem vzorků choriových klků, či pomocí chromozomálního mikročipu, nebo karyotypového testování po narození. Rodiče dětí s KS mají navzdory těmto omezením příznivý vztah k tomuto vyšetření, neboť jeho výsledky jim poskytnou dostatečný čas seznámit se s poruchou. Tím se mohou včas připravit na možné intervence a porozumět tak jejich dítěti již před jeho narozením. Riziko potratu plodu v důsledku invazivního prenatálního testování se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 1,0 %. Navzdory tomuto relativně nízkému procentu je mnoho žen tímto faktem značně znepokojeno, a proto je jednou z největších výhod NIPT snížené nebezpečí jak pro plod, tak i pro matku. [24, 41, 45]

Vznik testu kvantitativní fluorescenční polymerázové řetězové reakce (QF-PCR) poskytl další neinvazivní mechanismus, ve kterém lze prenatálně detekovat chromozomální aneuploidie. Tento test přináší výsledky již do několika hodin po odběru vzorku, což umožňuje rodičům informovanost do 24 hodin od testování. Ve studii se 43 000 matkami

byl karyotyp správně identifikován u 41 019 případů (95 %). U 65 nastávajících matek byl pomocí tohoto vyšetření odhalen karyotyp 47, XXY. [24, 44]

6.2 Postnatální

Jak již bylo několikrát naznačeno, tak pozdní diagnostika zůstává zásadním problémem ve vztahu ke Klinefelterově syndromu. Zatímco prenatalní screeningové techniky mohou svou včasnou detekcí zlepšit budoucí život nenarozených pacientů, současná nízká úroveň postnatální diagnózy zůstává problematická, zejména pokud jde o možnost zlepšení výsledků v oblasti fyzického a duševního zdraví. Diagnóza KS by měla být zvažována u mužů se stížnostmi souvisejícími s hypogonadismem, tj. únavou, slabostí, gynekomastií, neplodností, erektilní dysfunkcí a osteoporózou. [3, 46]

Novorozenci mají obvykle normální mužský fenotyp. Pozorný chirurg může mít podezření na tento typ syndromu u dítěte s bilaterálním kryptorchismem, ale jinak k diagnóze v této fázi života nevedou žádné specifické příznaky. Během dětství může vést opožděný vývoj, porucha řeči, nadměrný růst, nebo problémy s chováním k podezření na genetickou poruchu, nicméně bylo prokázáno, že pouze malý zlomek případů je identifikován před pubertou. Ačkoliv se nástup puberty může objevit v očekávaném věku, varlata u těchto chlapců nedosahují velikosti pozorované u zdravých vrstevníků. Tato klíčová vlastnost často vybízí lékaře k postnatální diagnóze. Chlapcům ve školním věku, by mělo být doporučeno nechat si prohmátat varlata jako součást kompletního fyzického vyšetření. To platí především pro jedince, kteří vykazují znaky, jako jsou gynekomastie, postpubertální výška větší než 184 cm, abnormálně dlouhé nohy a rozpětí paží přesahující výšku. Všechny tyto symptomy jsou důležitým vodítkem pro diagnostiku Klinefelterova syndromu. Mezi další projevy objevené v období dospívání patří skolióza a kyfóza, vazová laxnost, široké boky a úzká ramena. V dospělosti muži vykazují příznaky nedostatku testosteronu (malá varlata, nízká plodnost), stejně jako sociální a behaviorální anomálie. [3, 24, 47]

Výše zmíněná charakteristika, jež napomáhá k odhalení KS je založena výhradně na vzhladu vyšetřovaného pacienta, či klinických příznacích. Ovšem pro konečný verdikt je nutno provést screeningové vyšetření, které odhalí jeden, či více nadbytečných chromozomů. V současné době je pro správnou diagnózu mikroskopická analýza G vázaných chromozomů zlatým standardem. Tato technika však není vhodná pro

screening, protože je časově náročná, relativně nákladná a lze ji spolehlivě provést pouze ve specializovaných cytogenetických laboratořích. [48]

Dále se používá technika kvantitativní real – time PCR (qPCR), jež slouží pro detekci počtu kopií jednoho genu a androgenového receptoru (AR) umístěného na Xq11.2–q12. Kvantifikace počtu kopií genu AR v genomové DNA purifikované z krevních buněk pomocí qPCR poskytuje rychlou metodu detekce KS a dalších abnormálních karyotypů zahrnujících aberantní počet X – chromozomů. Metoda je vysoce specifická a spolehlivá, lze ji použít k rychlému genetickému screeningu u pacientů se symptomy vzbuzujícími podezření na KS, nebo na jiné aneuploidie pohlavních chromozomů, jako je například Turnerův syndrom (45, X). Je důležité zdůraznit, že technika qPCR představuje screeningovou metodu a pro potvrzení diagnózy zůstává karyotypizace pomocí G – pruhování povinná, zejména v případech nesouladu mezi genotypem a fenotypem. [48]

Mezi další možnosti detekce patří methylačně specifická PCR (M–PCR) umožňující rychlé stanovení chromozomové dizomie a navíc odhaluje zkreslenou inaktivaci X chromozomu. Používá se k vyhodnocení inaktivačního vzorce nadpočetných X chromozomů. Jedná se o rychlou a nákladově efektivní metodu, což z ní činí cenný nástroj pro včasnou diagnostiku Klinefelterova syndromu. Vysoká citlivost a spolehlivost jsou jasnými výhodami použití M–PCR jako screeningového nástroje. Také dokáže detekovat velmi nízké úrovně mozaiky, proto by mohla být užitečná při ověřování mozaicismu v případech, kdy je klinicky podezřelý, ale výsledky karyotypu jsou negativní. Dalším nesporným pozitivem této techniky je časová náročnost, která činí méně než 48 hodin a cenová dostupnost na rozdíl od karyotypové analýzy a kvantitativní PCR v reálném čase, které jsou drahé. Lze očekávat, že dostupnost rychlého a nákladově efektivního postnatálního screeningového testu významně zlepší diagnostiku a sledování jedinců s KS. [49]

Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, tak analýza Barrova tělíska poskytuje rychlý a spolehlivý screeningový test, který však musí být potvrzen karyotypizací. Diagnostická přesnost tohoto screeningu však nikdy nebyla systematicky hodnocena a tento jednoduchý test je v posledních letech opomíjen. [50]

7 LÉČBA

7.1 Léčba pomocí testosteronu

Když u pacientů s Klinefelterovým syndromem klesne koncentrace testosteronu v séru je indikována celoživotní substituční léčba. Ta zabrání příznakům a následkům nedostatku androgenu a tím zlepší kvalitu života. Za mezní hodnotu, kdy je nutno zahájit léčbu se považuje celková hladina testosteronu v séru nižší než 12 nmol/l (mezi věkem 20 až 30 let). Příznivé účinky léčby testosteronem u hypogonadálních mužů byly prokázány v několika studiích. Subjekty postižené KS mohou mít prospěch ze suplementace testosteronem již během prvních 2–3 měsíců života, i když nám stále chybí vyhodnocení role minipuberty, jakožto prediktora testikulární nedostatečnosti. Jakákoliv léčba by měla být prováděna pouze v kontrolovaných, randomizovaných klinických studiích. Chlapci mají dostatečné hladiny testosteronu, aby došlo k normálnímu nástupu a progresi puberty, ovšem vývoj relativního nedostatku testosteronu od střední puberty je zřejmý – příkladem je vyrovnání hladin INSL3 a přehnané reakce na stimulaci GnRH, jež naznačují dysfunkci Leydigových buněk. [2, 51]

Bylo zjištěno, že neléčení pacienti mají horší metabolický profil, složení těla, stejně jako sníženou BMD. Substituční terapie testosteronem je schopna zmírnit všechny tyto zmíněné obtíže, ale její role v případě zlepšování lipidového a glykemického profilu je neúčinná. To znamená, že tito pacienti bohužel stále vykazují horší metabolické parametry ve srovnání s kontrolami odpovídajícímu věku (viz kapitoly výše). [52]

Podle pokynů Světové zdravotnické organizace pro používání androgenů u mužů, by ideální substituční léčba testosteronem měla nabízet: bezpečnost, účinnost, vhodný poměr cena/výkon, pohodlí, flexibilitu dávkování a účinnou normalizaci hladin testosteronu. Ideální léčba testosteronem by měla také nahradit testosteron na fyziologické úrovni pomocí přírodního (nemodifikovaného) testosteronu. Dostupné studie dosud nezjistily závažné nežádoucí účinky spojené se správnou léčbou testosteronem u dospělých jedinců postižených KS. To naznačuje, že je léčba testosteronem u těchto mužů bezpečná a není důvod k obavám. [53, 54]

Mezi nejdůležitější terapeutická kritéria patří zcela jednoznačně doba zahájení léčby. Klinická praxe ve většině zemí spočívá v tom, že je suplementace testosteronem načasována s přirozeným nástupem puberty, pokud je produkce testosteronu nedostatečná, či stoupají hodnoty LH a FSH nad normální limity. Jiné studie tvrdí, že

s doplňováním testosteronu by se nemělo začínat dříve, nežli klesne celkový testosteron v séru pod fyziologické rozmezí. Vzhledem k tomu, že je většina případů diagnostikována v dospělosti a pubertální okno pro zahájení léčby často chybí je suplementace spuštěna po stanovení diagnózy, pokud je přítomen hypogonadismus. [53]

Mnoho příznaků hypogonadismu lze zlepšit injekčními estery testosteronu, které tvoří základní kámen léčby od padesátých let. V posledních letech však byly vyvinuty novější terapeutické modalitty s cílem produkovat hladiny testosteronu, které se více přibližují fyziologickým hladinám a zlepšují přijatelnost pro pacienta. Chirurgicky implantované testosteronové pelety představují další preferovanou možnost léčby, stejně jako transdermální náplasti a gely. Vývoj mukoadhezivní bukalní tablety s prodlouženým uvolňováním je nejnovější inovací, která pacientům poskytne další možnosti. [54]

7.2 Možnosti léčby testosteronem

7.2.1 Implantáty

Jedná se o nejstarší formu substituční terapie testosteronem, která je k dispozici od 40. let 20. století a stále se prodává ve Velké Británii. Tři až šest pelet po 200 mg nemodifikovaného testosteronu se implantuje subkutánně každých 4–6 měsíců, což zajišťuje stabilní fyziologické hladiny testosteronu. Nicméně zavedení implantátů vyžaduje menší chirurgický zákrok, což může být bolestivé, a vytlačování pelet je časté. [54]

7.2.2 Intramuskulární injekce

Intramuskulární injekce esterů testosteronu jsou nejběžněji používanou formou substituční terapie testosteronem, pravděpodobně kvůli nízkým nákladům na léčbu a výhodám jako je například relativně nepravidelné dávkování. Esterifikace testosteronu na 17 β -hydroxylové skupině zvyšuje rozpustnost těchto molekul v tucích, což umožňuje jejich použití jako dlouhodobě působících depotních injekcí. *In vivo* jsou tyto estery hydrolyzovány za účelem uvolnění nativního testosteronu. Depotní účinek se zvyšuje s délkou postranního řetězce esteru, takže různé estery testosteronu mají různé biologické poločasy a produkty jsou k dispozici s různou dobou účinku. Například testosteron propionát vyžaduje podávání každé 2–3 dny, zatímco testosteron enanthát a testosteron cypionát vyžadují injekci pouze každé 2–3 týdny. [54]

7.2.3 Transdermální náplasti

Transdermální testosteronové náplasti byly zavedeny počátkem 90. let. Slouží ke zvyšování hladin testosteronu ve fyziologickém rozmezí a napodobují přirozený cirkadiánní rytmus hladin testosteronu. Zpočátku byly vyvinuty šourkové (skrotální) náplasti, které využívají rychlé absorpce přes vysoce vaskularizovanou šourkovou kůži. Tyto náplasti pokrývají plochu 40 nebo 60 cm² a denně se aplikují na oholený šourek. Skrotální náplasti mohou způsobit suprafyziologické hladiny DHT (dihydrotestosteron) vlivem aktivity 5 α -reduktázy nacházející se v šourkové kůži. Dlouhodobé účinky zvýšené hladiny DHT na prostatu mohou být důvodem k obavám, přestože během několika let používání nebyly pozorovány žádné závažné nežádoucí účinky. [54]

Nověji byly vyvinuty neskrotální náplasti, jež se aplikují jednou denně. Ty vyžadují alkoholovou bázi pro zvýšení permeace, což vedlo k podráždění kůže u více než 32 % pacientů. Aplikace 0,1% triamcinolon acetonidu pod náplast zlepšuje místní snášenlivost. Tyto vedlejší účinky a rušivá přítomnost náplastí na pokožce omezují přijatelnost této formy léčby pro mnoho pacientů. [54]

7.2.4 Transdermální gely

V poslední době je k dispozici transdermální podání pomocí hydroalkoholických gelů (5 g sáčků gelu, z nichž každý obsahuje 50 mg nemodifikovaného testosteronu). Gel se nanáší jednou denně na trup a horní část paží. Dávka se titruje tak, aby dosáhla ideálních hladin. Gelové formulace poskytují stabilní hladiny testosteronu v séru v normálním rozmezí a nejsou spojeny s podrážděním pokožky, které můžeme nacházet u transdermálních náplastí. Transdermální gely s testosteronem byly také spojeny se zvýšenými hladinami DHT v séru, opět pravděpodobně v důsledku přítomnosti 5 α -reduktázy v kůži a potřebě rozetřít gel na co největší plochu. Kromě toho je nutné, aby se pacienti vyhýbali koupání, nebo sprchování do 6 hodin po aplikaci a aby se minimalizovala možnost přenosu testosteronu na partnery při kontaktu s jejich pokožkou. [54]

7.2.5 Bukální podání

První studie potvrdily proveditelnost podání náhrady testosteronu pacientům přes sliznici dutiny ústní. Bukální podání se vyhýbá metabolismu prvního průchodu, protože venózní odtok z úst je do horní duté žíly, což umožňuje použití nemodifikovaného testosteronu. Po těchto počátečních studiích, jež se zabývaly použitím tablet s krátkým účinkem, byly

nedávno v USA a Evropě povoleny mukoadhezivní bukální tablety s prodlouženým uvolňováním obsahující 30 mg nemodifikovaného testosteronu. Tato bukální tableta je dvakrát denně umístěna do malé prohlubně v ústech nad řezákem po obou stranách úst, což poskytuje diskrétní formu terapie. Léčba touto tabletou obnovuje sérové koncentrace testosteronu do normálního rozmezí do 4 hodin po aplikaci. Ustálení koncentrací je dosaženo do 24 hodin. Průměrné hladiny testosteronu jsou udržovány ve fyziologickém rozmezí, které je pozorováno u zdravých, mladých mužů. Sérové hladiny DHT se zvyšují paralelně s testosteronem v séru do normálního rozmezí a nejsou tak vysoké jako u transskrotálních náplastí. [54]

7.3 Léčba plodnosti

Klinefelterův syndrom je již dlouho považován za modelový vzor definitivní mužské sterility. Pacienti s mozaikou měli občasné nález spermií v ejakulátu, ale muži s nemozaickým syndromem byli považováni za sterilní z důvodu primárního selhání varlat, i když v některých případech je přítomna fokální spermatogeneze, a tak byly získány testikulární spermie. Dokonce byla popsána spontánní těhotenství, kdy otcem byl muž s nemozaickým KS, ovšem takové případy jsou vzácné. Příchod moderních technik asistované reprodukce v posledních letech, včetně extrakce spermií varlat (TESE) a intracytoplazmatické injekce spermií (ICSI) prokázal úspěšnou léčbu neplodnosti mužů. Díky tomuto objevu se stali stovky mužů s KS po celém světě biologickými otcí. V roce 1996 bylo poprvé hlášeno úspěšné zotavení spermií pomocí TESE, přičemž první těhotenství byla hlášena v roce 1997. [16, 55–57]

Pacientům, kteří mají v ejakulátu pohyblivé spermie, by měla být nabídnuta kryokonzervace. Bylo navrženo, že šance na nalezení pohyblivých spermií v ejakulátu bude vyšší ve vzorcích spermatu od raně pubertálních chlapců před dokončením destrukce semenných kanálků. Vzhledem k tomu, že pokles funkce varlat začíná v pubertě a zhoršuje se v dospělosti, měla by intervence před, nebo na začátku tohoto poklesu přinést nejúspěšnější získání spermií. Pokud jsou tedy mladší pacienti schopni a ochotni poskytnout ejakulovaný vzorek, mohou se v budoucnu vyhnout invazivnějším chirurgickým zákrokům. I přes to se ale jedná spíše o spekulace, jelikož doposud nebylo dosaženo shody ohledně optimálního věku pro úspěšné získání spermií, přestože studie s nejnižším průměrným věkem má nejvyšší míru obnovy spermií (56 %), nelze v současné době odhadnout pokles míry obnovy závislý na věku. [16, 17, 58]

Svou roli v plodnosti zaujímá také hormonální terapie. Svůj nesporný pozitivní význam má při podpoře normálního vývoje sekundárních sexuálních charakteristik, tělesného habitu a během dlouhodobé léčby navíc brání rozvoji významných zdravotních problémů, jako je například osteoporóza, či cukrovka a další. U léčby plodnosti již takový úspěch zaznamenan není, protože přebytek extratestikulárních androgenů dále potlačuje už tak narušenou spermatogenezi. U pacientů, kteří dostávají androgenní substituční terapii, bylo navrženo přerušit tuto léčbu po dobu nejméně 6 měsíců před mikro-TESE. [16, 58]

Mikro-TESE je vylepšená technika, jejíž princip popsal v roce 1999 Schlegel. Konvenční TESE je založena na biopsiích více slepých varlat, zatímco mikro-TESE je založena na mikrochirurgii k identifikaci jednotlivých semenotvorných tubulů s aktivní spermatogenezí. Značnou výhodou mikro-TESE je minimální poškození tkáně varlat, maximální úspěšnost odběru spermií a také způsobuje méně akutních a chronických komplikací. Samotný zákrok spočívá v širokém otevření varlete v ekvatoriální a avaskulární linii. Dále je varle prozkoumáno pod optickým zvětšením pomocí operačního mikroskopu, ideálně až 15×. Poté dochází k identifikaci zvětšených a bělejších kanálků varlete a jejich odběru. Při mikro-TESE jsou po optické identifikaci suspektních míst cíleně odebírány velmi malé vzorky tkáně, čímž může být vyšetřeno jejich větší počet. I přesto je celkové množství odstraněné tkáně menší než u konvenční TESE. Vyříznuté vzorky testikulární tkáně se umístí do Petriho misky s vnějšími jamkami obsahující sperma. Vzorky se hrubě promyjí, aby se odstranily krevní sraženiny, a putují do laboratoře ke zpracování, kde nastává práce laborantek, jejichž úkolem je najít v odebraném materiálu spermie. [16, 59, 60]

TESE je považován za klasický přístup v chirurgickém odběru spermií a poprvé byl popsán v roce 1995. V dnešní době je již v mnoha ohledech překonaný. Výkon probíhá v celkové anestezii, kdy je proveden příčný řez 2 cm skrz přední šourkovou kůži, dartos a tunica vaginalis. Na varle je vyvíjen jemný tlak, aby došlo k vytlačení testikulárního parenchymu. Malý fragment (přibližně 5 × 5 mm) je vyříznut ostrými nůžkami a okamžitě umístěn do kultivačního média pro spermie. Vzorky varlat jsou opět odeslány do laboratoře ke zpracování a okamžitému mikroskopickému vyšetření. Varle se poté uzavře pomocí nevstřebatelných stehů a zákrok je ukončen. [59, 60]

Zavedením mikromanipulační metody ICSI v roce 1992 dramaticky změnilo zvládnutí těžké mužské neplodnosti. Jedná se o dominující až výhradní techniku asistované fertilizace a vedle IVF (*in vitro* fertilization – mimotělní otěhotnění) je nejčastější

metodou asistované reprodukce. Tedy poté co byly spermie získány pomocí techniky TESE, nebo mikro-TESE se zcentrifugují, promyjí a embryolog pod mikroskopem vybere vhodnou spermii k oplození. Jeho snahou je najít spermii s nejpřirozenějším tvarem a se zachovalým, nebo nejlepším pohybem. Tato spermie je poté pomocí mikropipety vpravena přímo do vajíčka. Celý proces probíhá v mikromanipulátoru pod mikroskopickou kontrolou. Mikromanipulátor je přístroj, který převádí poměrně hrubé a ostré pohyby ruky na jemné miniaturní pohyby. Vzhledem k velikosti vajíčka, která činí 0,1 mm, by i velmi jemný pohyb byl značně nešetrný. Respektive pokud lékař pohne rukou zhruba o 10 cm, mikromanipulátor přenesení tento pohyb na posunutí o 1 mm. Do tohoto přístroje se upevní držící pipeta, která přidržuje vajíčko. Menší manipulační pipetou se nasaje jedna spermie a vloží se do ženské pohlavní buňky. Úspěšnost oplodnění vajíček touto metodou se pohybuje přibližně okolo 90 %, a proto není divu, že je velmi často využívána nejen pacienty s Klinefelterovým syndromem. [61–63]

7.4 Další terapie související s psychickým stavem pacienta

Problémy s početím dítěte, obezita, inzulinová rezistence vyúsťující v metabolický syndrom, počínaje obtížemi se studiem a konflikty s vrstevníky během školního věku – všechna zmíněná problematika, jenž neodmyslitelně patří ke Klinefelterově syndromu může vést k psychickým problémům. Navíc samotná diagnóza může být těžko přijatelná, pokud žil pacient po určitou dobu svého života v nevědomosti o této chorobě. Řešením této záležitosti je jednoznačně včasné psychologické poradenství, díky kterému se může předejít schizofrenii a psychotickým poruchám, které již vyžadují intenzivní psychiatrickou léčbu. [51]

Pro většinu dospívajících, mladých mužů představuje právě neplodnost nejobtížnější problém, co se týče psychického zdraví. Mnoho pacientů s KS nechce hovořit ani diskutovat o svém problému se svou rodinou, blízkými, nebo přáteli. Psychologická poradna je ideálním řešením pro překonání jejich utrpení. Vyhledání odborné pomoci může pacientovi nastínit myšlenku využití technik asistované reprodukce, využití metody TESE a následného ICSI, umělé oplodnění dárcovským spermatem, popřípadě adopci. [51]

ZÁVĚR:

Jak již bylo několikrát zmíněno, tak Klinefelterův syndrom nepředstavuje pouze neplodnost, vysoký vzrůst a nadměrnou tělesnou hmotnost, i když možná právě takto se zapsal do povědomí veřejnosti. I přes to, že se první zmínky o onemocnění objevili již v roce 1942, spousta lidí nemá ani ponětí o výskytu této genetické poruchy. Důvodem je fenotyp těchto mužů, jelikož na první pohled nejeví známky postižení. To pochopitelně neznamená, že nemají závažnější zdravotní problémy. Degenerativní proces může nastat již během nitroděložního vývoje. Vyznačuje se nedostatečně rozvinutými genitáliemi a kryptorchismem, což není samozřejmě jediná patologie, která se může u vyvíjejícího se plodu vyskytnout. Čím jsou pacienti starší, tím jsou jejich příznaky výraznější a závažnější. Jádrem problému je nondisjunkce během první, nebo druhé části gametogeneze, jejímž výsledkem je nadbytečný chromozom X a vzniklý karyotyp 47, XXY.

Za hlavní znak Klinefelterova syndromu by se dal považovat hypergonadotropní hypogonadismus, jehož charakteristickým znakem je nedostatek testosteronu. Právě tento stěžejní faktor provází muže s KS celý život, již od adolescence.

Tato bakalářská práce byla sepsána s cílem seznámení se s problematikou, diagnostikou a léčebnými metodami u syndromu zvaném Klinefelterův. V současné době se řadí mezi nejčastější poruchy pohlavních chromozomů. Výskyt je přibližně u 1 z 500 narozených mužů. Vzhledem k tomu, že jsou klinické příznaky u některých jedinců nenápadné, diagnostika onemocnění se dostavuje až v pozdějším věku, kdy se začínají řešit problémy s početím dítěte. Právě tento fakt představuje aktuální problematiku, na kterou je nutné se zaměřit. Časnou diagnózou lze zlepšit kvalitu života mnoha dalším postiženým mužům.

Ve své bakalářské práci jsem se zaměřila na celkovou kazuistiku KS počínaje historií a objevem, až po možnosti léčby a terapie. Popsala jsem jednotlivé symptomy napříč věkovými kategoriemi a objasnila příčinu vzniku. Druhá část je věnována roli hypogonadismu a problematice jako je například riziko zlomeniny, inzulínová rezistence, metabolický syndrom a nelze opomenout kapitulu, kde věnuji pozornost chování těchto jedinců. Zajímavým zjištěním bylo, že s každým nadpočetným chromozomem X klesá IQ. Závěrečná část se zabývá diagnostikou jak prenatalní, tak i postnatalní. Poslední kapitola nabízí možnosti, kterých mohou muži s KS využít, aby se stali biologickými otci.

Intramuskulární injekce, transdermální náplasti, či gely tvoří důležitou část substituční terapie testosteronem. Pro mě osobně činily právě tyto závěrečné kapitoly nejzajímavější část mé bakalářské práce, ovšem důsledky hypogonadismu (př. osteoporóza, metabolický syndrom a další...) byly také zajímavým zjištěním a potvrdily důležitost testosteronu pro lidský organismus.

Klinefelterův syndrom nemusí představovat závažné postižení, avšak není to důvod k tomu, aby byl opomíjen. Naopak existuje ještě spousta mechanismů, které nebyly v kontextu s tímto syndromem objasněny, a nyní je důležité jim věnovat pozornost.

ZDROJE:

- [1] VISOOTSAK, Jeannie a John M. GRAHAM. Klinefelter syndrome and other sex chromosomal aneuploidies. *Orphanet Journal of Rare Diseases* [online]. 2006, **1**(1), 42. ISSN 1750-1172. Dostupné z: doi:10.1186/1750-1172-1-42.
- [2] WIKSTRÖM, Anne M. a Leo DUNKEL. Klinefelter syndrome. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2011, **25**(2), Male Reproductive Endocrinology, 239–250. ISSN 1521-690X. Dostupné z: doi:10.1016/j.beem.2010.09.006.
- [3] SMYTH, Cynthia M. a William J. BREMNER. Klinefelter Syndrome. *Archives of Internal Medicine* [online]. 1998, **158**(12), 1309–1314. ISSN 0003-9926. Dostupné z: doi:10.1001/archinte.158.12.1309.
- [4] GRAVHOLT, Claus H., et al. Klinefelter Syndrome: Integrating Genetics, Neuropsychology, and Endocrinology. *Endocrine Reviews* [online]. 2018, **39**(4), 389–423. ISSN 0163-769X. Dostupné z: doi:10.1210/er.2017-00212.
- [5] WATTENDORF, Daniel J. a Maximilian MUENKE. Klinefelter Syndrome. *American Family Physician*. 2005, **72**(11), 2259–2262. ISSN 0002-838X, 1532-0650.
- [6] BOJESEN, Anders, Svend JUUL a Claus Højbjerg GRAVHOLT. Prenatal and Postnatal Prevalence of Klinefelter Syndrome: A National Registry Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2003, **88**(2), 622–626. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2002-021491.
- [7] DAVIS, Shanlee M., Alan D. ROGOL a Judith L. ROSS. Testis Development and Fertility Potential in Boys with Klinefelter Syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* [online]. 2015, **44**(4), Reproductive Consequences of Pediatric Disease, 843–865. ISSN 0889-8529. Dostupné z: doi:10.1016/j.ecl.2015.07.008.
- [8] KANAKIS, George A. a Eberhard NIESCHLAG. Klinefelter syndrome: more than hypogonadism. *Metabolism* [online]. 2018, **86**, Reproductive Endocrinology: Novel Insights into Pathophysiology and Clinical Practice, 135–144. ISSN 0026-0495. Dostupné z: doi:10.1016/j.metabol.2017.09.017.
- [9] LANFRANCO, Fabio, Axel KAMISCHKE, Michael ZITZMANN a Eberhard NIESCHLAG. Klinefelter's syndrome. *The Lancet* [online]. 2004, **364**(9430), 273–283. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(04)16678-6.
- [10] BONOMI, Marco, et al. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism. *Journal of Endocrinological Investigation* [online]. 2017, **40**(2), 123–134. ISSN 1720-8386. Dostupné z: doi:10.1007/s40618-016-0541-6.
- [11] BEARELLY, Priyanka a Robert OATES. Recent advances in managing and understanding Klinefelter syndrome. *F1000Research* [online]. 2019, **8** [vid. 2021-03-03]. ISSN 2046-1402. Dostupné z: doi:10.12688/f1000research.16747.1.

- [12] RAMASAMY, Ranjith, Koji CHIBA, Peter BUTLER a Dolores J. LAMB. Male biological clock: a critical analysis of advanced paternal age. *Fertility and Sterility* [online]. 2015, **103**(6), 1402–1406. ISSN 0015-0282. Dostupné z: doi:10.1016/j.fertnstert.2015.03.011.
- [13] DEEBEL, Nicholas A., Aaron W. BRADSHAW a Hooman SADRI-ARDEKANI. Infertility considerations in Klinefelter syndrome: From origin to management. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2020, **34**(6), Genetics of male infertility, 101480. ISSN 1521-690X. Dostupné z: doi:10.1016/j.beem.2020.101480.
- [14] NASSAU, Daniel E., et al. Androgenization in Klinefelter syndrome: Clinical spectrum from infancy through young adulthood. *Journal of Pediatric Urology* [online]. 2021 [vid. 2021-03-21]. ISSN 1477-5131. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpuro.2021.02.021.
- [15] NIESCHLAG, Eberhard, Steffi WERLER, Joachim WISTUBA a Michael ZITZMANN. New approaches to the Klinefelter syndrome. *Annales d'Endocrinologie* [online]. 2014, **75**(2), 57es Journées internationales d'Endocrinologie clinique, Henri-Pierre Klotz (05/06/2014-06/06/2014), 88–97. ISSN 0003-4266. Dostupné z: doi:10.1016/j.ando.2014.03.007.
- [16] AKSGLAEDE, Lise a Anders JUUL. Therapy of endocrine disease: Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. *European Journal of Endocrinology* [online]. 2013, **168**(4), R67–R76. ISSN 0804-4643, 1479-683X. Dostupné z: doi:10.1530/EJE-12-0934.
- [17] FRANIK, Sebastian, et al. Klinefelter syndrome and fertility: sperm preservation should not be offered to children with Klinefelter syndrome. *Human Reproduction* [online]. 2016, **31**(9), 1952–1959. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/dew179.
- [18] PADUCH, Darius, Alexander BOLYAKOV, Paula COHEN a Alexander TRAVIS. Reproduction in Men with Klinefelter Syndrome: The Past, the Present, and the Future. *Seminars in Reproductive Medicine* [online]. 2009, **27**(02), 137–148. ISSN 1526-8004, 1526-4564. Dostupné z: doi:10.1055/s-0029-1202302.
- [19] CRISÓSTOMO, Luís, et al. Lifestyle, metabolic disorders and male hypogonadism – A one-way ticket? *Molecular and Cellular Endocrinology* [online]. 2020, **516**, 110945. ISSN 0303-7207. Dostupné z: doi:10.1016/j.mce.2020.110945.
- [20] BASARIA, Shehzad. Male hypogonadism. *The Lancet* [online]. 2014, **383**(9924), 1250–1263. ISSN 0140-6736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(13)61126-5.
- [21] KUMAR, Peeyush, Nitish KUMAR, Devendra Singh THAKUR a Ajay PATIDAR. Male hypogonadism: Symptoms and treatment. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* [online]. 2010, **1**(3), 297–301. ISSN 2231-4040. Dostupné z: doi:10.4103/0110-5558.72420.
- [22] TAJAR, Abdelouahid, et al. Characteristics of Secondary, Primary, and Compensated Hypogonadism in Aging Men: Evidence from the European Male

- Ageing Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2010, **95**(4), 1810–1818. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2009-1796.
- [23] DANDONA, Paresh, Matt T. ROSENBERG. A practical guide to male hypogonadism in the primary care setting. *International Journal of Clinical Practice* [online]. 2010, **64**(6), 682–696. ISSN 1742-1241. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2010.02355.x.
- [24] SAMANGO-SPROUSE, Carole A., et al. Update On The Clinical Perspectives And Care Of The Child With 47,XXY (Klinefelter Syndrome). *The Application of Clinical Genetics* [online]. 2019, **12**, 191–202. ISSN 1178-704X. Dostupné z: doi:10.2147/TACG.S180450.
- [25] HØST, Christian, Anne SKAKKEBÆK, Kristian A GROTH a Anders BOJESEN. The role of hypogonadism in Klinefelter Syndrome. *Asian Journal of Andrology* [online]. 2014, **16**(2), 185–191. ISSN 1008-682X. Dostupné z: doi:10.4103/1008-682X.122201.
- [26] ST JOHN, Miya, et al. Speech and language in children with Klinefelter syndrome. *Journal of Communication Disorders* [online]. 2019, **78**, 84–96. ISSN 0021-9924. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcomdis.2019.02.003.
- [27] SKAKKEBÆK, Anne, et al. Neuropsychology and brain morphology in Klinefelter syndrome – the impact of genetics. *Andrology* [online]. 2014, **2**(4), 632–640. ISSN 2047-2927. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.2047-2927.2014.00229.x.
- [28] GIRARDIN, Céline M. a Guy Van VLIET. Counselling of a couple faced with a prenatal diagnosis of Klinefelter syndrome. *Acta Paediatrica* [online]. 2011, **100**(6), 917–922. ISSN 1651-2227. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02156.x.
- [29] FERLIN, Alberto, et al. Osteoporosis in Klinefelter’s syndrome. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2010, **16**(6), 402–410. ISSN 1360-9947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gaq026.
- [30] HIÉRONIMUS, Sylvie, et al. Klinefelter’s syndrome and bone mineral density: Is osteoporosis a constant feature? *Annales d’Endocrinologie* [online]. 2011, **72**(1), 14–18. ISSN 0003-4266. Dostupné z: doi:10.1016/j.ando.2010.10.002.
- [31] SHIRAIISHI, Koji a Hideyasu MATSUYAMA. Klinefelter syndrome: From pediatrics to geriatrics. *Reproductive Medicine and Biology* [online]. 2019, **18**(2), 140–150. ISSN 1447-0578. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/rmb2.12261.
- [32] BETANCOURT-ALBRECHT, Marion, a Glenn R. CUNNINGHAM. Hypogonadism and diabetes. *International Journal of Impotence Research* [online]. 2003, **15**(4), S14–S20. ISSN 1476-5489. Dostupné z: doi:10.1038/sj.ijir.3901031.

- [33] GROTH, Kristian A., et al. Klinefelter Syndrome—A Clinical Update. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2013, **98**(1), 20–30. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2012-2382.
- [34] DIMOPOULOU, Christina, Dimitrios G. GOULIS, Giovanni CORONA a Mario MAGGI. The complex association between metabolic syndrome and male hypogonadism. *Metabolism* [online]. 2018, **86**, Reproductive Endocrinology: Novel Insights into Pathophysiology and Clinical Practice, 61–68. ISSN 0026-0495. Dostupné z: doi:10.1016/j.metabol.2018.03.024.
- [35] SALZANO, Andrea, et al. Klinefelter syndrome, insulin resistance, metabolic syndrome, and diabetes: review of literature and clinical perspectives. *Endocrine* [online]. 2018, **61**(2), 194–203. ISSN 1559-0100. Dostupné z: doi:10.1007/s12020-018-1584-6.
- [36] O’CONNOR, Mark J., Emma A. SNYDER a Frances J. HAYES. Klinefelter Syndrome and Diabetes. *Current Diabetes Reports* [online]. 2019, **19**(9), 71. ISSN 1539-0829. Dostupné z: doi:10.1007/s11892-019-1197-3.
- [37] ISHIKAWA, Tomomoto, et al. Metabolic Syndrome in Men with Klinefelter’s Syndrome. *Urology* [online]. 2008, **71**(6), 1109–1113. ISSN 0090-4295. Dostupné z: doi:10.1016/j.urology.2008.01.051.
- [38] BOJESEN, Anders, Christian HØST a Claus H. GRAVHOLT. Klinefelter’s syndrome, type 2 diabetes and the metabolic syndrome: the impact of body composition. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2010, **16**(6), 396–401. ISSN 1360-9947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gaq016.
- [39] GRAVHOLT, Claus H., Anne S. JENSEN, Christian HØST a Anders BOJESEN. Body composition, metabolic syndrome and type 2 diabetes in Klinefelter syndrome. *Acta Paediatrica* [online]. 2011, **100**(6), 871–877. ISSN 1651-2227. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.2011.02233.x.
- [40] WOSNITZER, Matthew S. a Darius A. PADUCH. Endocrinological issues and hormonal manipulation in children and men with Klinefelter syndrome. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* [online]. 2013, **163**(1), 16–26. ISSN 1552-4876. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31350.
- [41] SAMANGO-SPROUSE, Carole, Colleen KEEN, Teresa SADEGHIN a Andrea GROPMAN. The benefits and limitations of cell-free DNA screening for 47, XXY (Klinefelter syndrome). *Prenatal Diagnosis* [online]. 2017, **37**(5), 497–501. ISSN 1097-0223. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/pd.5044.
- [42] DOTTERS-KATZ, Sarah K., et al. The impact of prenatally diagnosed Klinefelter Syndrome on obstetric and neonatal outcomes. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* [online]. 2016, **203**, 173–176. ISSN 0301-2115. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejogrb.2016.05.006.
- [43] GRUCHY, Nicolas, et al. Pregnancy outcomes in 188 French cases of prenatally diagnosed Klinefelter syndrome. *Human Reproduction* [online]. 2011, **26**(9), 2570–2575. ISSN 0268-1161. Dostupné z: doi:10.1093/humrep/der193.

- [44] CIRIGLIANO, Vincenzo, et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2001, **7**(10), 1001–1006. ISSN 1360-9947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/7.10.1001.
- [45] SAMANGO-SPROUSE, Carole A., et al. Impact of early diagnosis and noninvasive prenatal testing (NIPT): Knowledge, attitudes, and experiences of parents of children with sex chromosome aneuploidies (SCAs). *Prenatal Diagnosis* [online]. 2020, **40**(4), 470–480. ISSN 1097-0223. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/pd.5580.
- [46] HANNA, Esmée Sinéad, et al. The Lived Experience of Klinefelter Syndrome: A Narrative Review of the Literature. *Frontiers in Endocrinology* [online]. 2019, **10** [vid. 2021-04-21]. ISSN 1664-2392. Dostupné z: doi:10.3389/fendo.2019.00825.
- [47] AKSGLAEDE, Lise, et al. 47,XXY Klinefelter syndrome: Clinical characteristics and age-specific recommendations for medical management. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* [online]. 2013, **163**(1), 55–63. ISSN 1552-4876. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31349.
- [48] OTTESEN, Anne Marie, et al. A simple screening method for detection of Klinefelter syndrome and other X-chromosome aneuploidies based on copy number of the androgen receptor gene. *Molecular Human Reproduction* [online]. 2007, **13**(10), 745–750. ISSN 1360-9947. Dostupné z: doi:10.1093/molehr/gam053.
- [49] MEHTA, Akanksha, et al. Methylation-Specific PCR Allows for Fast Diagnosis of X Chromosome Disomy and Reveals Skewed Inactivation of the X Chromosome in Men With Klinefelter Syndrome. *Journal of Andrology* [online]. 2012, **33**(5), 955–962. ISSN 1939-4640. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.2164/jandrol.111.016030.
- [50] KAMISCHKE, Axel, Arthur BAUMGARDT, Jürgen HORST a Eberhard NIESCHLAG. Clinical and Diagnostic Features of Patients With Suspected Klinefelter Syndrome. *Journal of Andrology* [online]. 2003, **24**(1), 41–48. ISSN 1939-4640. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2003.tb02638.x.
- [51] GIES, Inge, David UNUANE, Brigitte VELKENIERS a Jean DE SCHEPPER. Management of Klinefelter syndrome during transition. *European Journal of Endocrinology* [online]. 2014, **171**(2), R67-77. ISSN 1479-683X. Dostupné z: doi:10.1530/EJE-14-0213.
- [52] PIZZOCARO, Alessandro, et al. Testosterone treatment in male patients with Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Endocrinological Investigation* [online]. 2020, **43**(12), 1675–1687. ISSN 1720-8386. Dostupné z: doi:10.1007/s40618-020-01299-1.
- [53] CHANG, Simon, Anne SKAKKEBÆK, Shanlee M. DAVIS a Claus H. GRAVHOLT. Morbidity in Klinefelter syndrome and the effect of testosterone

- treatment. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* [online]. 2020, **184**(2), 344–355. ISSN 1552-4876. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31798>.
- [54] NIESCHLAG, Eberhard, et al. Testosterone replacement therapy: current trends and future directions. *Human Reproduction Update* [online]. 2004, **10**(5), 409–419. ISSN 1355-4786. Dostupné z: doi:[10.1093/humupd/dmh035](https://doi.org/10.1093/humupd/dmh035).
- [55] PLOTTON, Ingrid, Aurélie BROSSE, Beatrice CUZIN a Hervé LEJEUNE. Klinefelter syndrome and TESE-ICSI. *Annales d'Endocrinologie* [online]. 2014, **75**(2), 57es Journées internationales d'Endocrinologie clinique, Henri-Pierre Klotz (05/06/2014-06/06/2014), 118–125. ISSN 0003-4266. Dostupné z: doi:[10.1016/j.ando.2014.04.004](https://doi.org/10.1016/j.ando.2014.04.004).
- [56] SCHIFF, Jonathan D., et al. Success of Testicular Sperm Injection and Intracytoplasmic Sperm Injection in Men with Klinefelter Syndrome. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2005, **90**(11), 6263–6267. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:[10.1210/jc.2004-2322](https://doi.org/10.1210/jc.2004-2322).
- [57] YARALI, Hakan, et al. TESE–ICSI in patients with non-mosaic Klinefelter syndrome: a comparative study. *Reproductive BioMedicine Online* [online]. 2009, **18**(6), 756–760. ISSN 1472-6483. Dostupné z: doi:[10.1016/S1472-6483\(10\)60023-5](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60023-5).
- [58] HAWKSWORTH, Dorota J., et al. Infertility in Patients With Klinefelter Syndrome: Optimal Timing for Sperm and Testicular Tissue Cryopreservation. *Reviews in Urology* [online]. 2018, **20**(2), 56–62. ISSN 1523-6161. Dostupné z: doi:[10.3909/riu0790](https://doi.org/10.3909/riu0790).
- [59] ESTEVES, Sandro C., Ricardo MIYAOKA a Ashok AGARWAL. Sperm retrieval techniques for assisted reproduction. *International braz j urol* [online]. 2011, **37**(5), 570–583. ISSN 1677-5538. Dostupné z: doi:[10.1590/S1677-55382011000500002](https://doi.org/10.1590/S1677-55382011000500002).
- [60] BITTNER, Lukáš. Methods of surgical sperm extraction in azoospermic patients. *Urologie pro praxi* [online]. 2020, **21**(1), 31–33. ISSN 12131768, 18035299. Dostupné z: doi:[10.36290/uro.2020.020](https://doi.org/10.36290/uro.2020.020).
- [61] THE ESHRE CAPRI WORKSHOP GROUP. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 2006: Evidence and Evolution. *Human Reproduction Update* [online]. 2007, **13**(6), 515–526. ISSN 1355-4786. Dostupné z: doi:[10.1093/humupd/dmm024](https://doi.org/10.1093/humupd/dmm024).
- [62] Intracytoplazmatická injekce morfologicky selektované spermie – ICSI. *Lékaři-online.cz* [online]. [vid. 2021-05-21]. Dostupné z: <https://www.lekari-online.cz/lecba-neplodnosti/zakroky/injekce-spermii-icsi>.
- [63] *Metoda ICSI | GENNET Praha, Liberec* [online]. [vid. 2021-05-21]. Dostupné z: <https://www.gennet.cz/icsi-intracytoplazmaticka-injekce-spermie>.