

616.441—072.7:616.153:[547.96:577.17.441]

## VAZEBNÁ KAPACITA BÍLKOVIN KREVNIHO SÉRA NA THYROXIN JAKO TEST FUNKCE ŠTÍTNÉ ŽLÁZY

Plk. MUDr. Jan HAUER, CSc., mjr. MUDr. Miroslav VODÁK, pplk. MUDr. Antonín FRKAL  
II. vnitřní oddělení ÚVN (náčelník genmjr. MUDr. Jiří Smrčka)  
Radioizotopové oddělení ÚVN (náčelník major MUDr. Miroslav Vodák)  
Oddělení pracovního lékařství (náčelník podplukovník MUDr. Antonín Frkal)

K šedesátinám gen. MUDr. Jiřího Smrčky

Thyroxin produkovaný normálně v denním množství asi 70  $\mu\text{g}$  koluje v krvi jednak ve volné formě, jednak ve formě vázané na bílkoviny krevní plazmy (19). Tato frakce je stanovitelná in vivo jako PBI, resp. BEI (19, 20, 21, 24). Přidáním exogenního thyroxinu značeného radioizotopem jódu je možno také in vitro stanovit volné, tj. thyroxinem neobsazené vazebné kapacity bílkovin krevní plazmy.  $T_4$  je vázán převážně na alfa-1-glykoprotein („interalfaglobulin“) — (19) o poměrně nízké molekulární váze asi 50 000. Snad právě glycidová složka tohoto globulinu je odpovědná za jeho specifickou afinitu k  $T_4$  i  $T_3$  (26). Vlastnosti thyroxin vázajícího globulinu vázat thyroxin také in vitro se využívá při stanovení volných vazebných kapacit jako testu funkce štítné žlázy různými metodami (1, 4, 15, 16, 19, 20, 21, 24).

Zkratky v textu:  $T_3$  — trijodothyronin,  $T_4$  — thyroxin, PBI — proteinový jód, BEI — jód extrahovatelný butanolem,  $T_4\text{BG}$  — thyroxin binding globulin,  $T_4\text{BA}$  — thyroxin binding albumin,  $T_4\text{BPA}$  — thyroxin binding prealbumin, ART — test šlachy Achillovy.

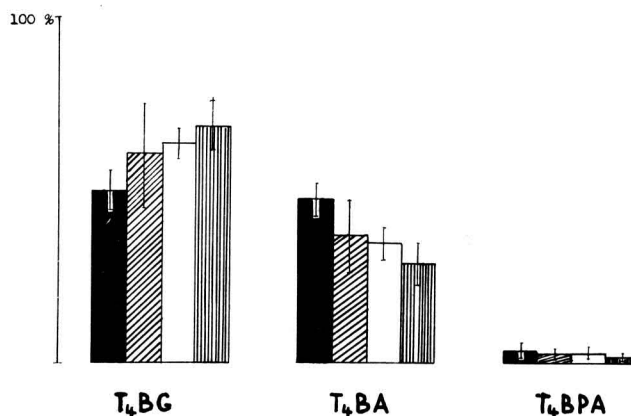
### Metodika

V naší práci používáme ke stanovení volných transportních kapacit radioelektroforetickou metodu na papíře nasyceném pufrovaným agarovým roztokem. Elektroforézu provádíme běžným způsobem při pH 8,6 a standardních provozních podmínkách (350 V, 10 mA na jeden pásek), papír Whatman 1, rozměr pásku 3,5 X 40 cm. Metoda byla publikována pracovní skupinou VÚE v Praze (19, 20, 21, 24). Elektroforéza probíhá 5 hodin. Získaný radioelektroforeogram se podle označených bílkovinných frakcí rozdělí a aktivita navázaného radiothyroxinu se měří ve studnovém scintilačním krystalu se spektrálním analyzátozem impulsů, nebo při nižších specifických aktivitách radiothyroxinu v tekutých scintilačních mediích. Výsledkem měření je relativní poměr thyroxinu  $^{131}\text{I}$  navázaného v oblasti alfa 1 — alfa 2 globulinů, albuminů a prealbuminové oblasti vyjádřený v procentech.

Položili jsme si otázku, jak dalece odpovídají výsledky  $T_4\text{BG}$  testu klinice a jak se mění během léčení tyreopatií.

### Vyšetřování a výsledky

$T_4\text{BG}$  test jsme provedli u 50 zdravých osob, u 20 osob s hypertyreózou (u 16 z těchto byl test proveden opakovaně během léčení), u 25 s hypothyreózou, u 41 tzv. patologických netyreopatií, tj. osob s abnormálním elektroforeogramem, ale s normální funkcí štítné žlázy; konečně ještě u 72 vyšetřovaných s předběžnou klinickou suspekci na hypertyreózu. Na grafu 1



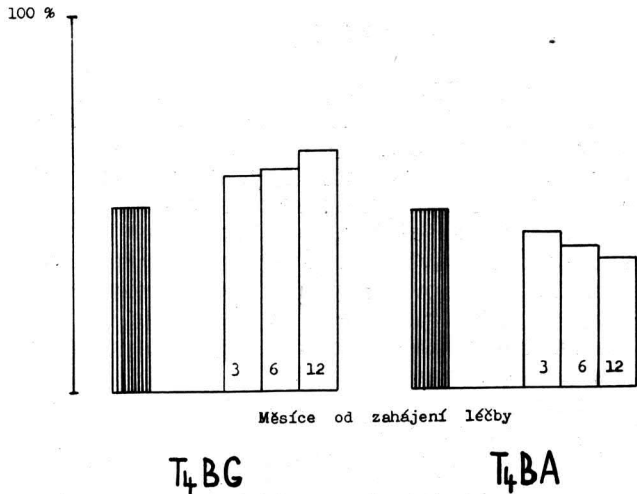
Graf 1  
Průměrné hodnoty volných vazebných kapacit pro  $T_4$ <sup>131</sup>I

- Klinicky prokázané hyperthyreózy
- ▨ Klinicky suspektní hyperthyreózy
- Kontrolní skupina euthyreoidních
- ▤ Hypothyreózy

je vidět, jak nehomogenní je tato poslední skupina. Naše průměrné výsledky u zdravých osob i u tyreopatií se v oblasti  $T_4\text{BG}$  a  $T_4\text{BA}$  podstatně neliší od průměrů uváděných v literatuře ( $T_4\text{BG}$  61,5 ± 3,3 %,  $T_4\text{BA}$  35,2 ± 3,7 %).

Dynamická souběžnost je u hypertyreóz jasná, závisí na léčbě, i když s malým opožděním; tak tomu bylo u všech našich 16 dynamicky sledovaných hypertyreóz (graf 2).

Naproti tomu u hypothyreóz není vždy taková závislost výsledků TBG testu na správné substituční léčbě, jak je v některých publikacích uvá-



Graf 2  
Vazebné kapacity pro T<sub>4</sub> v průběhu léčby hyperthyreózy

- Výchozí průměrné hodnoty před zahájením terapie
- Hodnoty v 3., 6. a 12. měsíci po zahájení terapie

děno; naopak i při dobrém celkovém stavu nemocných, při dostatečné substituci a při normalizaci ostatních parametrů (akumulace <sup>131</sup>I, ART atd.) může u některých nemocných TBG test zůstat dlouho nezměněn. Jako příklad uvádíme dvě stručné kasuistiky:

U H. M., narozené 1926, provedena strumektomie pro hyperfunkční strumu v roce 1956. Hypofunkční příznaky se objevily v červnu r. 1970 a jim odpovídal i klinický a laboratorní nález

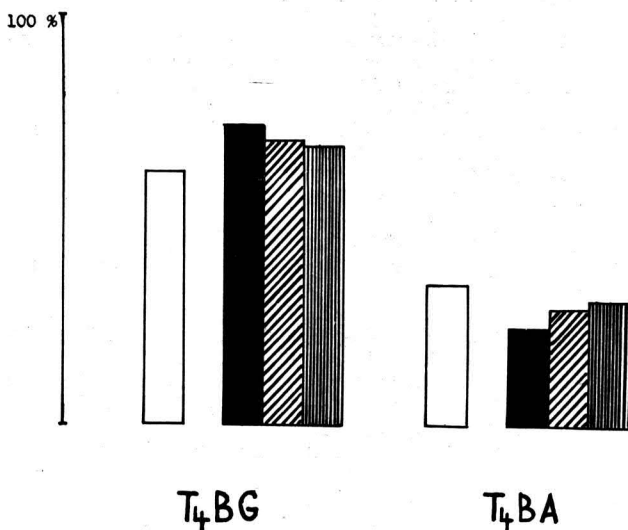
Maximální akumulace <sup>131</sup>I byla 2,9 % za 24 hodin, T<sub>4</sub>BG 81,2 %. Během substituční léčby T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub> se klinický stav téměř upravil, T<sub>4</sub>BG byl 3. 1. 1971 71,5 %, maximální akumulace <sup>131</sup>I 7,6 % za 24 hodin, ART 320 ms.

T. H., narozená 1919; potíže ve smyslu hypotyreózy od roku 1965, zhoršené po infekční mononukleóze 1966 a zejména po nové atace zánětu štítné žlázy 1968. Laboratorní testy: akumulace <sup>131</sup>I, PBI, BEI, ART a zvláště T<sub>4</sub>BG byly pro hypofunkci pozitivní. Během intenzivní substituční léčby T<sub>3</sub> + T<sub>4</sub> byly hodnoty T<sub>4</sub>BG 1967 72,3 %, 20. 2. 1970 60,9 %, 1. 9. 1970 68,8 % a 22. 2. 1971 71,5 %, T<sub>4</sub>BA 27,6 % a T<sub>4</sub>BPA 0,9 % přes zřetelné zlepšení kliniky i ostatních laboratorních testů zvláště ART.

U 36 tzv. patologických netyreopatů (graf 3) 69 % mělo změněnou vazebnou schopnost — nejvýrazněji tam, kde byla zjištěna hyperalfa-globulinémie, dále též výrazná hypalbuminémie buď samostatná, nebo doprovázející hypergama-globulinémií. Šlo většinou o malignity, v menším počtu o hepatopatie nebo o diabetiky. U 5 těhotných žen bez tyreopatie jsme našli TBG test v normálních mezích.

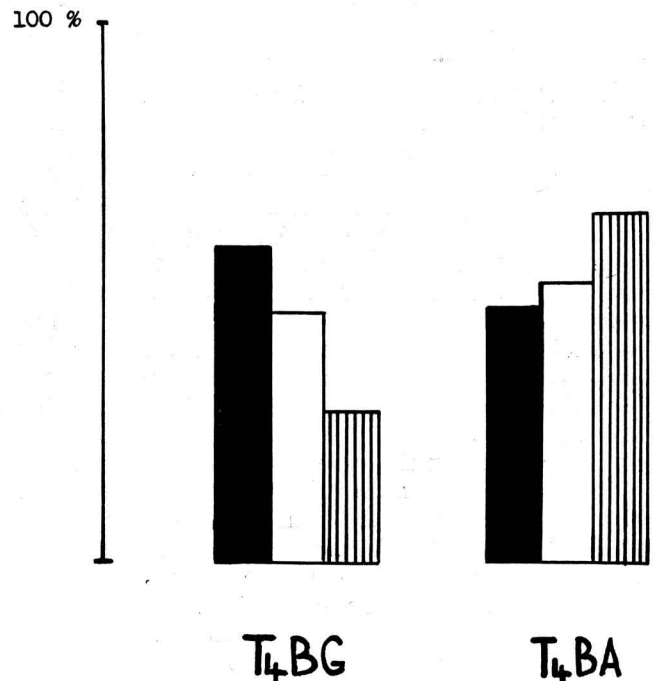
**Diskuse**

Závislost změn vazebné schopnosti T<sub>4</sub>BG při měření in vitro na použité metodice vyžaduje pro získání reprodukovatelných výsledků její přísnou standardizaci.



Graf 3  
Průměrné hodnoty vazebných kapacit pro T<sub>4</sub><sup>131</sup>I u stavů s dysproteiniemi

- Kontrolní skupina euthyreoidních
- Typ hyperalfa 1 a hyperalfa 2 globulinémií
- Typ hypalbuminémií
- Skupina hypergama-globulinémií (nejčastěji spojená s hypalbuminémií)



Graf 4  
Změna poměru vazebných kapacit v závislosti na množství inkubovaného thyroxinu

- 26 µg thyroxinu <sup>131</sup>I/100 ml séra
- 52,8 µg thyroxinu <sup>131</sup>I/100 ml séra
- 105,0 µg thyroxinu <sup>131</sup>I/100 ml séra

Je dobře známo, že vazebná schopnost je závislá na pH prostředí, ve kterém probíhá vazba (1, 4, 11) na teplotě (25) a na druhu elektroforézy (papír, škrobové gely apod.) — (2, 4, 10).

Z principu metody je zřejmé, že množství přidávaného thyroxinu, stejně jako množství použitého séra musí být vždy standardní, zejména záleží na přesném váhovém množství radiothyroxinu o dostatečné specifické aktivitě značkovacího radiojodu 131, jak vyplývá z grafu 4.

Při vyšší koncentraci radiothyroxinu při úplném nasycení vazebné kapacity  $T_4BG$  se přebytečný  $T_4$  naváže vždy na volné kapacity albuminů ( $T_4BA$ ); tato vazba je však poměrně slabá. Při nadbytku séra ve vztahu k dodanému thyroxinu může dojít ke zkreslení vzájemného poměru v opačném smyslu.

Za nevhodnější množství proto považujeme přidávat 25  $\mu\text{g}$  L-thyroxinu  $^{131}\text{I}/100$  ml séra vyšetřovaného.

Metoda má řadu dalších úskalí, která nás nutí přísně zachovávat vždy standardní, srovnatelné podmínky. Řada těchto problémů je dobře známa z klasické elektroforézy, zde však, např. při barvení elektroforeogramu, dochází k úniku aktivity thyroxinu  $^{131}\text{I}$  z jednotlivých bílkovinných frakcí (i když ve stejném vzájemném poměru), což při měření takových vzorků vede k chybám při srovnávání malých čísel. Proto další úpravu elektroforeogramů nedoporučujeme a pro kontrolu rozdělení frakcí se nám osvědčilo barvit pouze kontrolní pásek, získaný za stejných podmínek v jedné sérii elektroforéz.

Kromě změn vlastností  $T_4BG$  způsobených metodou měření jeho vazebné schopnosti mohou thyroxinovou kapacitu ovlivnit i některé další fyziologické i patologické okolnosti. Z fyziologických je nejvýznamnější značné zmnožení  $T_4BG$  a tudíž i zvětšení vazebné kapacity na  $T_4$  v těhotenství. Jelikož však úměrně stoupá i množství vylučovaného thyroxinu, jejich vzájemný poměr se nemění, a proto nejsou přítomny klinické známky tyreotoxikózy, i když štítná žláza jeví zvýšené známky produkce hormonu; nemění se ani rozměr transportních kapacit  $T_4BG$  určených in vitro (5). Tuto skutečnost jsme také zjistili v naší malé orientační sestavě gravidních žen, u nichž hodnoty volných transportních kapacit v oblasti  $T_4BG$  činí  $59,1 \pm 4,4\%$ ,  $T_4BA$   $38,6 \pm 6,4\%$  a  $T_4BPA$   $2,3 \pm 3,0\%$ . Jinou fyziologickou změnou  $T_4BG$  testu je jeho chování u dospívajícího h, způsobené přímým vlivem hormonů (androgenů resp. estrogenů) na bílkoviny séra (byl prokázán i u tyroidektomovaných — 6). Z patologických okolností je podstatou naší práce chování  $T_4BG$  a jeho použitelnost u tyreopatů jako testu, a také u patologických stavů nesouvisejících se štítnou žlázou, nýbrž s množstvím  $T_4BG$ ; z těchto může jít o některá onemocnění ledvin, kde dochází k úniku  $T_4BG$  o poměrně malé molekulové váze spolu s ostatními bílkovinami močí a tím k jeho snížení v cirkulujících objemech.

## Závěry

Zdá se, že TBG test je citlivý funkční parametr stanovitelný in vitro, který zejména u hypertyreózy velmi těsně sleduje hojení během konzervativní i chirurgické léčby. U hypotyreózy je tento test sice při jednorázovém vyšetření také jednoznačný, avšak během léčby se mění pomaleji. To lze vysvětlit zapojením vlivu i jiných orgánů a orgánových systémů, než jenom štítné žlázy (21). Při interpretaci výsledků je třeba si uvědomit ještě navíc vrozené i získané úchytky ve vazebné kapacitě bílkovin krevního séra, jež by mohly vést (a už také nejednou vedly) k chybné interpretaci a dokonce i k nesprávnému léčení takových „tyreopatů“. Z vrozených úchytek je to geneticky podmíněný nedostatek nebo naopak přebytek některých bílkovinných nosičů (3, 7, 8, 9, 13, 14, 17, 18), ze získaných pH ovlivněných např. hyperventilací (22), stressovými situacemi (7, 19), hypoxií, růstem (16, 23), pohlavím (16), pubertou (19), konzumací estrogenů (7), někdy i menstruací (7, 19), předchozím příjmem jódu (7, 21, 22) aj.

Jako vždy musí být vedoucím kritériem klinika (12), popř. celý soubor laboratorních parametrů, z nichž jedním může být i TBG test, zvláště dynamicky sledovaný.

## Literatura

1. Balfour, W. E., Tunnicliffe, H. E.: Thyroxin Binding by Serum Proteins. *J. Physiol.*, 153, 1960, s. 179.
2. Bednář, J., Soumar, J., Němec, J., Röhling, S.: Vazba hormonů štítné žlázy s bílkovinami séra I. Českoslov. farm., 16, 1967, s. 223—226.
3. Beierwalters, W. H., Robbins, J.: Familial Increase in Thyroxin Binding Sites in Serum — Alpha — Globulin. *J. Clin. Investig.*, 38, 1959, s. 1683.
4. Davis, P. J., Gregerman, R. I.: Separation of Thyroxine — Binding Proteins of Human Serum in Polyacrylamide Gel at pH 7,4. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 30, 1970, s. 237.
5. Dowling, S. T. et coll.: Effects of Pregnancy on Iodine Metabolism. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 21, 1961, s. 779.
6. Dreyer, D. J., Man, E. B.: Thyroxine — Binding — Proteins and BEI in Sera of Adolescent Males. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 22, 1962, s. 31.
7. Editorial JAMA, vol. 210, Nro. 13: Bound Iodine and Binding Protein.
8. Fialkow, P. J., Giblett, E. R., Mura, B.: Increased Serum Thyroxine Binding Globulin Capacity. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 30, 1970, s. 66.
9. Florsheim, W. H. et coll.: Familial Elevation of Serum Thyroxine — Binding — Capacity. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 22, 1962, s. 735.
10. Hollander, C. S. et coll.: Evaluation of the Role of Prealbumin in Binding of Thyroxine. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 22, 1962, s. 612.
11. Lutz, J. H., Gregerman, R. I.:  $\text{pH}$  — Dependence of the Binding of Thyroxine to Prealbumin in Human Serum. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 29, 1969, s. 487.
12. Němec, J., Röhling, S.: Izotopová diagnostika nemocí štítné žlázy. *Čas. Lék. čes.*, 109, 1970, č. 44, s. 1039 až 1041.
13. Nikolai, T. F., Seal, V. S.: X-Chromosome Linked Inheritance of Thyroxine Binding Globulin Deficiency. *J. Clin. Endocrinol. & Metabol.*, 27, 1967, s. 1815.
14. Nikolai, T. F., Roberts, R. C.: Thyroxine Binding Globulin Deficiency. *Arch. Intern. Med.*, 124, 1969, s. 691.
15. Pensly, J., Marshall, J. S.: Studies on Thyroxine Binding Globuline. *Arch. Biochem.*, 135, 1969, s. 304—310.

16. Riečanský, I., Birčák, J., Nikš, M.: Vplyv pohlavia na väzbu thyroxínu bielkovinami krvného séra u detí v puberte. Čas. Lék. čes., 106, 1967, r. 48, s. 1284 až 1289.
17. Roberts, R. C., Nikolai, T. F., Lohrenz, T. N.: A TBG — Deficient Family with a Male Exhibiting but not Zero TBG Levels. J. Clin. Endocrinol. & Metabol., 30, 1970, č. 1, s. 131.
18. Siersbach — Mielsen, K., Mölholm Hansen, J., Hippe, F.: Familial Elevation of Serum Thyroxine — Binding — Globulin — Capacity. Acta Endocrinol. (Københ.) 60, 1969, č. 1, s. 130—136.
19. Soumar, J., Strašek, J., Röhling, S.: Chování volných kapacit bílkovin vázajících in vitro thyroxin u eufunkcí a během onemocnění štítné žlázy. Čas. Lék. čes., 106, 1967, č. 41, s. 1089—1093.
20. Soumar, J., Bednář, J., Strašek, J.: Vergleichswerte des eiweißgebundenen Jodes der in vitro Thyroxinbindenden Eiweißkapazität und des Cholesterinspiegels bei einigen Erkrankungen der Schilddrüse. Endokrinologie (Leipzig), 52, 1967, s. 216—227.
21. Soumar, J., Bednář, J., Strašek, J., Soutorová, M.: Srovnání hladin bílkovinného jódu a volných kapacit vázajících thyroxin in vitro během léčení některých onemocnění štítné žlázy. Vnitř. Lék., 14, 1968, s. 588 až 595.
22. Soumar, J., Bednář, J., Maršíková, L., Strašek, J.: Pohyb bílkovinného jódu a volných kapacit bílkovin vázajících thyroxin a trijodothyronin po hyperventilaci. Čas. Lék. čes., 110, 1971, č. 16, s. 365—367.
23. Straková, M., Strašek, J., Vohnout, S., Röhling, S.: Vazebná kapacita sérových bílkovin pro thyroideální hormóny u dětí. Čas. Lék. čes., 106, 1967, č. 41, s. 1094—1095.
24. Strašek, J., Röhling, S., Vohnout, S.: Elektroforetické vyšetřování vazebné kapacity sérových bílkovin v diagnostice chorob štítné žlázy. Čas. Lék. čes., 108, 1969, č. 20, s. 601—604.
25. Takemura, J., Hoeman, G., Sterling, K.: Thermal Stability of Serum Thyroxine Binding Protein. J. Clin. Endocrinol. & Metabol., 32, 1971, č. 2, s. 222—224.
26. Tata, J. R.: Nature of Thyroxin — Binding Globulin in Human Serum. Nature, 189, 1961, s. 573.