

## **OBSAH**

1. PŘEDMLUVA.....	4
2. PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK .....	6
3. SOUHRN DISERTAČNÍ PRÁCE .....	8
4. PŘEHLED KLÍČOVÝCH SLOV .....	9
5. ÚVOD DO ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	10
5.1. Renální osteopatie a CKD-MBD .....	10
5.1.1. Definice renální osteopatie a CKD-MBD.....	10
5.1.2. Klasifikace renální osteopatie .....	12
5.1.3. Epidemiologie renální osteopatie.....	14
5.1.4. Patogeneze renální osteopatie .....	15
5.2. Vyšetřovací postupy .....	17
5.2.1. Úvod.....	17
5.2.2. Klinická symptomatologie .....	17
5.2.3. Biochemické markery kostního metabolismu.....	20
5.2.4. Zobrazovací metody .....	29
5.2.5. Denzitometrické vyšetření skeletu.....	31
5.2.6. Kostní biopsie .....	33
6. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE .....	35
7. VLASTNÍ PRÁCE .....	36
7.1. Metody .....	36
7.1.1. Soubor nemocných .....	36
7.1.2. Laboratorní metody.....	36
7.1.3. Kostní denzitometrie.....	39

7.1.4.	Statistické metody.....	39
7.2.	Zhodnocení biochemických a denzitometrických dat u souboru pacientů nově zařazených do hemodialyzační léčby.....	40
7.2.1.	Demografická a biochemická data souboru.....	40
7.2.2.	Nález kostní denzitometrie .....	42
7.2.3.	Diskuze .....	48
7.3.	Sledování hladin biochemických markerů kostního metabolismu a změny kostní minerální denzity v průběhu hemodialyzační léčby .....	51
7.3.1.	Demografická a biochemická data souboru sledovaného 1 rok .....	51
7.3.2.	Nález kostní denzitometrie souboru sledovaného 1 rok .....	56
7.3.3.	Demografická a biochemická data souboru sledovaného 2 roky .....	67
7.3.4.	Nález kostní denzitometrie souboru sledovaného 2 roky .....	71
7.3.5.	Diskuze .....	82
7.4.	Zhodnocení senzitivity kostí k účinkům PTH u skupiny postmenopauzálních žen a skupiny mužů.....	88
7.5.	Zhodnocení změn biochemických parametrů, nutrice a kostní minerální denzity po transplantaci ledviny .....	89
7.5.1.	Úvod.....	89
7.5.2.	Demografická, biochemická a denzitometrická data souboru .....	89
7.5.3.	Diskuze .....	93
8.	ZÁVĚRY DISERTAČNÍ PRÁCE.....	95
8.1.	Zhodnocení biochemických a denzitometrických dat u souboru pacientů nově zařazených do hemodialyzační léčby.....	95
8.2.	Sledování hladin biochemických markerů kostního metabolismu a změny kostní minerální denzity v průběhu hemodialyzační léčby .....	95

8.3. Zhodnocení změn biochemických parametrů, nutriční a kostní minerální denzity po transplantaci ledviny .....	97
9. SEZNAM TABULEK A GRAFŮ .....	98
10. LITERATURA .....	101

## 1. PŘEDMLUVA

Nemocní s chronickým onemocněním ledvin (CKD) mají významné poruchy kostního a minerálového metabolismu, jenž jsou dnes označovány jako minerálová a kostní porucha při chronickém onemocnění ledvin (Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder, zkráceně CKD-MBD) (1). Progresivní ztráta renálních funkcí vede k řadě poruch minerálového metabolismu, které nakonec vedou k poškození kostí a kalcifikacím měkkých tkání včetně kalcifikací kardiovaskulárních. Studie z posledních let ukazují, že existuje silná asociace mezi poruchou kostního a minerálového metabolismu, frakturami a kardiovaskulárním postižením, jenž je hlavní příčinou mortality u pacientů s CKD (2).

Změny ve skeletu začínají hned v počátečních fázích chronického selhání ledvin, což se projevuje, mimo jiné, snížením kostní minerální denzity (BMD) (3, 4). Ženy i muži s poškozenou funkcí ledvin jsou ohroženi ztrátou kostní hmoty již při minimálním poklesu renální funkce (5). Je racionální předpokládat, že mnoho pacientů s chronickým onemocněním ledvin může mít i jiné kostní abnormality, které mohou přispět ke konečnému obrazu renální osteopatie. Osteoporóza je nejčastější kostí poruchou u obecné populace, přesto je věnována relativně malá pozornost jejímu podílu na poškození kostí, které pozorujeme u pacientů s CKD, zvláště když si uvědomíme narůstající podíl nemocných středního a staršího věku, jenž tvoří více než polovinu dialyzovaných pacientů (2). Ženy se selháním ledvin mají menopauzu v průměru o 4 roky dříve a porucha steroidních hormonů (deficit estrogenu) je u nich pravidlem. U mužů se selháním ledvin klesá koncentrace testosteronu. Všechny jmenované faktory jsou predispozicí pro osteoporózu (6).

Neexistuje tedy žádný důvod, proč osteoporóza nemůže doprovázet poruchy kostního metabolismu, které jsou charakteristické pro chronické onemocnění ledvin. Ve skutečnosti by osteoporóza měla být zahrnuta do širší charakteristiky CKD-MBD, jak bylo nedávno doporučeno pracovní skupinou „Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (7). Patofyziologické pochody vedoucí k osteoporóze nebo CKD-MBD,

byť jsou zřetelně odlišné, mají mnoho společných dějů. Oba procesy mohou vést ke snížení pevnosti skeletu a výskytu osteoporotických zlomenin (8).

Osteoporóza je obecně definována jako kostní onemocnění charakterizované poruchou pevnosti kostí predisponující ke zvýšenému riziku fraktury (9). V obecné populaci může být osteoporóza diagnostikována jednak klinicky, při výskytu nízkotraumatické zlomeniny, nebo pomocí měření kostní minerální denzity (1). Osteoporóza je pro postmenopauzální ženy a muže nad 50 let vymezena hodnotou *T*-skóre  $-2,5$  SD a nižší (při měření v oblasti bederní páteře, celkového proximálního femuru nebo krčku femuru) (10).

Výzvou pro klinickou praxi je problém, jak rozlišit osteoporózu od změn při CKD-MBD. Diagnostické nástroje používané k identifikaci osteoporózy u obecné populace nesplňují požadavky na detekci komplexních kostních a metabolických změn, které se objevují u chronického onemocnění ledvin. Interpretace nálezů minerální kostní denzity u CKD pacientů je kontroverzní (9).

Téměř všechny dosud provedené studie u hemodialyzovaných pacientů hodnotící biochemické markery kostního metabolismu a kostní minerální denzitu byly průřezovými studiemi u pacientů již zařazených (po různě dlouhou dobu) do hemodialyzační léčby. Předkládaná disertační práce byla navržena jako prospektivní studie u pacientů nově zařazených do hemodialyzační léčby. Cílem této studie je zhodnotit vývoj nálezů a vzájemný vztah mezi markery kostního metabolismu a kostní minerální denzitou.

## 2. PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK

BACP	bone acid phosphatase, kostní frakce kyselé fosfatázy (tartrát rezistentní kyselá fosfatáza)
BALP	bone alkaline phosphatase, kostní frakce alkalické fosfatázy
BMD	bone mineral density, kostní minerální denzita
BMD 1.	vstupní měření kostní minerální denzity
BMD 2.	měření kostní minerální denzity po 1 roce
BMD 3.	měření kostní minerální denzity po 2 letech
BMI	body mass index, index tělesné hmotnosti
Ca x P	kalciumfosfátový součin
CKD	chronic kidney disease, chronické onemocnění ledvin
CKD-MBD	chronic kidney disease – mineral and bone disorder, minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin
CRP	C reaktivní protein
CT	computed tomography, počítačová tomografie
CTx	C-terminální telopeptid kolagenu typu I
DXA	dual-energy X-ray absorptiometry, dvouenergieová rentgenová absorpciometrie
eGFR	estimated glomerular filtration rate, vypočtená glomerulární filtrace
GFR	glomerular filtration rate, glomerulární filtrace
HRpQCT	high resolution peripheral quantitative computed tomography, periferní kvantitativní počítačová tomografie s vysokým rozlišením
HPT	hyperparatyreóza
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease (zde vzorec k výpočtu glomerulární filtrace)
MRI	magnetic resonance imaging, magnetická rezonance
NTX	N-terminální telopeptid kolagenu I
OP	osteoporóza

PINP	N-terminální propeptid prokolagenu typu I
pQCT	peripheral quantitative computed tomography, periferní kvantitativní počítačová tomografie
PTH	parathormon
QCT	quantitative computed tomography, kvantitativní počítačová tomografie
RR	relativní riziko
iPTH	intaktní parathormon
sHPT	sekundární hyperparatyreóza
stadium 5D	chronické onemocnění ledvin ve stadiu 5 léčené dialýzou
TMV	turnover – mineralization - volume, kostní obrat – mineralizace - kostní objem
TBS	trabecular bone score, analýza šedé úrovně textury DXA snímků
TRAP	tartate resistant acid phosphatase, tartrát rezistentní izoenzym kyselé fosfatázy
TRAP5b	tartate resistant acid phosphatase 5b, izoforma 5b tartrát rezistentního izoenzymu kyselé fosfatázy
URR	urea reduction ratio, procentuální pokles koncentrace urey v séru během hemodialyzační léčby
25(OH)D	25-hydroxyvitamin D (kalcidiol)

### 3. SOUHRN DISERTAČNÍ PRÁCE

Nemocní s chronickým onemocněním ledvin (CKD) mají významné poruchy kostního a minerálového metabolismu, které se označují jako minerálová a kostní porucha při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD). Tato porucha se může projevit přítomností jedné či více z těchto tří složek: a) abnormálním metabolismem kalcia, fosforu, parathormonu a vitamínu D, b) cévními a dalšími mimokostními kalcifikacemi, c) renální osteopatií. Změny ve skeletu začínají již v počátečních fázích chronického selhání ledvin, což se projevuje mimo jiné snížením kostní minerální denzity (BMD). Předložená práce se zabývá problematikou biochemických markerů kostního metabolismu a kostní minerální denzity u pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 5D nově zařazených do hemodialyzační léčby.

Teoretická část obsahuje definici, klasifikaci a stručný přehled současných poznatků o epidemiologii a patogenezi CKD-MBD a renální osteopatie, dále pak základní informace o vyšetřovacích postupech používaných v diagnostice těchto poruch.

Vlastní disertační práce je rozdělena do čtyř částí. *V první části* byla zhodnocena biochemická a denzitometrická data souboru 82 pacientů získaná při zařazení do chronické hemodialyzační léčby. Byla zjištěna vysoká prevalence deficitu 25-hydroxyvitamínu D a významně nižší hladiny tohoto vitamínu u žen a diabetiků. V oblasti proximálního femuru byla prokázána nízká BMD ve všech parametrech, zatímco v oblasti bederní páteře byly hodnoty BMD vyjádřené jako Z-skóre vyšší vzhledem k referenčním hodnotám pro stejný věk a pohlaví. Při srovnání s daty vztahujícími se k obecné populaci, byla u nemocných ve skupině nad 50 let nalezena vysoká (40%) prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze. Mužské pohlaví a hladina kalcia pozitivně korelovaly s hodnotou BMD ve všech měřených oblastech. Věk pozitivně koreloval s BMD v oblasti bederní páteře. Tělesná hmotnost pozitivně korelovala s BMD v oblasti krčku femuru, zatímco body mass index vykazoval tuto korelaci v oblasti celkového proximálního femuru. *Ve druhé části práce* byl soubor nově hemodialyzovaných nemocných prospektivně sledován po dobu dvou roků. Byly monitorovány markery kostního metabolismu a BMD s cílem zhodnotit vývoj nálezů a jejich vzájemné vztahy. Hemodialyzační



léčba neměla větší vliv na stupeň deficitu kalcidiolu, zůstala zachována sezonní variace jeho hladin a také nižší hladiny 25-hydroxyvitaminu D u žen a diabetiků. Během sledování přetrvávaly zvýšené hodnoty intaktního parathormonu, které dosahovaly v průměru 5-ti až 6-ti násobku normy. Opakovaná denzitometrická vyšetření prokázala pokles BMD ve všech sledovaných oblastech skeletu. Největší pokles BMD byl zaznamenán v oblasti celkového proximálního femuru, kde se za rok snížila BMD o 4.0%. Prevalence hodnot *T*-skóre v pásmu osteoporózy se u pacientů sledovaných 1 rok zvýšila téměř na dvojnásobek, u pacientů sledovaných 2 roky pak téměř na trojnásobek. Více než 50% všech hemodialyzovaných pacientů mělo na konci sledování BMD v pásmu osteoporózy. V *třetí části disertační práce* mělo být ověřeno, zda je senzitivita kostí k účinku parathormonu rozdílná mezi soubory pacientů s odlišnými hladinami estradiolu. Při potvrzení této hypotézy by pro postmenopauzální ženy s CKD měly být cílové hodnoty parathormonu (při léčbě sekundární hyperparatyreózy) nižší než pro ženy před menopauzou a pro muže. Korelace mezi zvažovanými parametry však byly statisticky nevýznamné, a proto nebylo možno v této části práce dojít k průkazným závěrům. Část hemodialyzovaných nemocných byla během sledování vyřazena z důvodu transplantace ledviny. *Ve čtvrté části práce* bylo provedeno retrospektivní zhodnocení změn biochemických parametrů, nutrice a kostní minerální denzity po provedení transplantace ledviny. Hmotnost nemocných a BMI se po roce od transplantace signifikantně zvýšili o 3.4%, respektive 3.2% a významně se zvýšila také hladina albuminu. Prevalence diabetu se nezměnila. Deficit kalcidiolu se v časném potransplantačním období prohloubil. Během prvního roku po transplantaci narůstala hladina kalcia a došlo k poklesu fosfátů s přechodnou hypofosfatemíí v časném potransplantačním období. Byl zaznamenán statisticky nevýznamný pokles kostní minerální denzity v krčku femuru a celkovém proximálním femuru, zatímco v oblasti bederní páteře došlo k jejímu nevýznamnému vzestupu.

#### **4. PŘEHLED KLÍČOVÝCH SLOV**

chronické onemocnění ledvin - hemodialýza - transplantace ledviny - osteoporóza - kostní minerální denzita - DXA - ukazatelé kostního obratu - parathormon - estradiol

## **5. ÚVOD DO ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY**

### **5.1. Renální osteopatie a CKD-MBD**

#### **5.1.1. Definice renální osteopatie a CKD-MBD**

Chronické onemocnění ledvin (Chronic Kidney Disease, CKD) je globálním zdravotním problémem, který postihuje 5 - 10% světové populace, má zvyšující se prevalenci a nepříznivé důsledky, včetně progresivní ztráty funkce ledvin, kardiovaskulárního postižení, poruchy kostního a minerálového metabolismu a předčasné mortality (11).

Renální osteopatie je komplexní metabolická kostní porucha, která vzniká v důsledku poruchy funkce ledvin a jejich selhání. Zprvu je charakterizována zejména laboratorními odchylkami, které jsou odrazem regulačních pochodů při poklesu funkce ledvin. Tyto laboratorní odchylky mohou být přechodné (hypokalcemie) či fluktuující. Pokročilejší onemocnění se projevuje symptomy a zhoršuje kvalitu života. Dříve byla porucha fosfokalciového metabolismu při renálním selhání vnímána pouze ve vztahu k onemocnění skeletu (renální osteopatie). Dnes je úhel pohledu širší: porucha metabolismu vápníku a fosforu postihuje nejen kostní systém, ale i řadu jiných orgánů. Výrazný je zejména vztah ke kardiovaskulárním komplikacím (6). Na vzniku vaskulárních kalcifikací se podílí společně laboratorní abnormality (abnormální sérové hladiny fosforu, vápníku, vitamínu D, FGF-23 atd.) a kostní abnormality (renální osteopatie). Všechny tyto tři procesy jsou navzájem úzce provázány a jsou zodpovědné za signifikantní morbiditu a mortalitu u nemocných s chronickým onemocněním ledvin. Poruchy metabolismu vápníku, fosforu a parathormonu vedou ve srovnání s obecnou populací ke zvýšení rizika úmrtí o 17.5 %. To je významně více, než tomu je u anemie (zvýšení rizika úmrtí o 6 %), nebo u nízkého URR (urea reduction ratio, procentuální pokles koncentrace urey v séru během hemodialyzační léčby), kde se udává zvýšení rizika úmrtí o 5.5 %. Tradiční definice renální osteopatie tento závažný vztah mezi poruchou minerálového a kostního metabolismu a kardiovaskulárními komplikacemi dostatečně nereflektovala (12, 13).

V roce 2003 byla založena nezávislá mezinárodní odborná nefrologická iniciativa KDIGO („Kidney Disease: Improving Global Outcomes“), která v rámci odborné konference v roce 2005 (publikováno v roce 2006) navrhla nový termín: CKD-MBD (chronic kidney disease – mineral and bone disorder, minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin) (14). V roce 2009 byly iniciativou KDIGO publikovány doporučené postupy týkající se problematiky CKD-MBD: „KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD)“ (7).

Definice a klasifikace CKD-MBD vychází ze společné patofyziologické podstaty kostních a cévních změn daných poruchou metabolismu vápníku a fosforu a zároveň zohledňuje vyšetřovací postupy. CKD-MBD je definována přítomností jedné či více za tří složek uvedených v tabulce 1 (6).

Tabulka 1. KDIGO: definice CKD-MBD.

---

CKD-MBD je systémová porucha minerálového a kostního metabolismu v důsledku chronického onemocnění ledvin projevující se jednou či více z těchto tří složek:

- ◆ abnormality v metabolismu vápníku, fosforu, parathormonu nebo vitamínu D
  - ◆ abnormality v kostním obratu, mineralizaci, objemu, růstu nebo pevnosti kosti (renální osteopatie)
  - ◆ kalcifikace vaskulární nebo jiných měkkých tkání
- 

Diagnóza těchto jednotlivých složek je laboratorní, histomorfometrická či zobrazovací v případě kalcifikací. CKD-MBD lze tedy stanovit i laboratorně, ovšem z laboratorních nálezů se neusuzuje na renální osteopatii, tento termín zůstává vymezen výhradně nálezem histomorfometrickému.

Podle definice KDIGO je tedy renální osteopatie jednou ze součástí minerálové a kostní nemoci, provázející selhání ledvin (nově označované termínem

CKD-MBD) a pro stanovení diagnózy renální osteopatie podle definice KDIGO je vždy nutná kostní biopsie (6).

#### 5.1.2. Klasifikace renální osteopatie

Termín renální osteopatie označuje kostní abnormality vzniklé v souvislosti s chronickým onemocněním ledvin. Základem dělení renální osteopatie na jednotlivé typy je rozdílná úroveň kostního obratu neboli kostní remodelace dané vzájemně propojenými pochody osteoresorpce a novotvorby kosti v podmínkách nefunkčních ledvin. Na úroveň kostního obratu lze usuzovat z nálezů parathormonu a kostních markerů a některých neinvazivních vyšetřovacích postupů, které je třeba korelovat s bioptickým histopatologickým vyšetřením kostní tkáně považovaným za zlatý standard diagnostiky renální osteopatie. Podle požadavků poslední doby nemá být toto vyšetření zaměřeno jen na statické morfologické znaky a průkaz případné kumulace stopových prvků, ale mají být uplatněny dynamické morfometrické parametry vycházející ze stanovení tetracyklinových růstových linií a z nich odvozených veličin. Klasická klasifikace z roku 1993 (tabulka 2) dělí renální osteopatii dle úrovně kostního obratu (15, 16).

Tabulka 2. Klasická klasifikace renální osteopatie.

Druh renální osteopatie	Kostní obrat
◆ hyperparatyreóza	
- mírná forma	zvýšený
- pokročilá forma (osteitis fibróza)	vysoký
◆ smíšená forma	rozdílná úroveň
◆ osteomalacie (deficit vitamínu D, retence Al, F, Fe, Sr, adynamická kostní choroba)	nízký
◆ dialyzační amyloidóza skeletu	nízký

Nová, tzv. TMV klasifikace renální osteopatie z roku 2005 uvedená v tabulce 3, používá ke klasifikaci 3 parametry: kostní obrat, mineralizaci a objem kostní hmoty (Turnover – Mineralization – Volume).

Tabulka 3. TMV klasifikace renální osteopatie.

Kostní obrat	Mineralizace	Objem kostní hmoty
- nízký		- nízký
	- abnormální	
- normální		- normální
	- normální	
- vysoký		- vysoký

Tato nová TMV klasifikace není v rozporu se starším klasifikačním systémem, ale poskytuje více informací, protože mimo kostního obratu hodnotí další 2 parametry.

Například adynamická kostní choroba (v klasické klasifikaci renální osteopatie s nízkým kostním obratem) je dle klasifikace TMV popisována jako osteopatie s nízkým kostním obratem, normální mineralizací a nízkým (nebo normálním) objemem kostní hmoty (6, 12, 17).

### 5.1.3. Epidemiologie renální osteopatie

Výraznější porucha fosfokalciového metabolismu nastává při poklesu funkce ledvin přibližně o 50%. Chronickým onemocněním ledvin se snížením glomerulární filtrace o více než polovinu je postiženo přibližně 5% populace. Laboratorně zjevná porucha fosfokalciového metabolismu je tedy častá, nehledě na to, že již u poloviny pacientů se v této fázi objeví odchylky při bioptickém vyšetření kostní tkáně. Progrese onemocnění ledvin do stadia selhání postihuje jen několik set osob z milionu populace. U všech těchto pacientů je však kostní nemoc pravidlem. Morfometrické změny v histologickém vyšetření vzoru kosti jsou přítomny u všech vyšetřovaných, ale jejich charakteristika a intenzita jsou velmi variabilní (6).

Přesná data o prevalenci různých typů renální osteopatie nejsou známa. Bylo však zaznamenáno, že zastoupení jednotlivých forem osteopatie se během 2-3 posledních desetiletí změnilo. Výskyt hyperparatyreózy je udáván mezi 30-70%, trend je spíše klesající. Naopak podíl adynamické osteopatie stoupá. Smíšená forma představuje 10%, „čistá“ osteomalacie přibližně 5%. Hliníková osteopatie, dříve poměrně častá je dnes diagnostikována vzácněji (6, 15, 18).

Mění se zastoupení jednotlivých typů renální osteopatie pravděpodobně souvisí se změnami v její léčbě, změnami dialyzační techniky a v neposlední řadě změnami v populaci pacientů. Zvýšený výskyt adynamické osteopatie je dáván do souvislosti především s větším podílem diabetiků a starších nemocných v dialyzační populaci. Může být také projevem vysoké suprese příštítných tělísek či řady jiných příčin, včetně přítomnosti chronického zánětu. Tabulka 4 uvádí epidemiologické souvislosti výskytu adynamické osteopatie ve srovnání se sekundární hyperparatyreózou (6, 19, 20).

Tabulka 4. Charakteristika epidemiologických souvislostí adynamické osteopatie (ve srovnání se sekundární hyperparatyreózou); upraveno podle Dusilová Sulková, 2007.

- 
- delší trvání dialyzační léčby
  - vyšší věk v době vyšetření
  - vyšší věk při zahájení dialyzačního léčení
  - vyšší zastoupení pacientů léčených peritoneální dialýzou
  - pozitivita hliníku v kostní biopsii
  - vyšší zastoupení pacientů s diabetem
  - nižší koncentrace parathormonu
- 

#### 5.1.4. Patogeneze renální osteopatie

U zdravých lidí bez onemocnění ledvin jsou udržovány normální hladiny fosforu a vápníku pomocí kombinovaného efektu tří hormonů: parathormonu, kalcitriolu a fosfatoninů. Tyto hormony působí na tři cílové orgány: ledviny, kost a střevo. V ledvinách probíhá parathormonem regulovaná reabsorpce vápníku a exkrece fosforu, konverze 25-hydroxycholecalciferolu (kalcidiol) na 1,25-dihydroxycholecalciferol (kalcitriol). Ledviny rovněž reagují zvýšením exkrece fosforu na podnět fosfatoninu FGF-23, jehož tvorba se společně s tvorbou parathormonu zvyšuje při hyperfosfatemii. Ledviny tedy hrají zásadní roli v regulaci normálních sérových koncentrací fosforu a vápníku, což při poškození funkce ledvin vede k abnormalitám v homeostáze těchto minerálů.

Poruchy minerálového metabolismu jsou běžnou komplikací chronického onemocnění ledvin a vyskytují se již časně v průběhu tohoto onemocnění. Již ve 3. stadiu CKD poškozené ledviny nejsou schopny dostatečně vylučovat fosfor ani konvertovat kalcidiol na kalcitriol, což vede k rozvoji sekundární hyperparatyreózy (12). Zvýšení hladin parathormonu a pokles hladin kalcitriolu je prokazatelné u 40 % pacientů s glomerulární filtrací (GFR) mezi 40 a 50 ml/min (0.67 a 0.83 ml/sec) a u 80 % pacientů s GFR pod 20 ml/min (0.33 ml/sec) (21). Od časných fází CKD

dochází k elevaci hladin FGF-23, které se dále výrazně zvyšují ve 4. stadiu CKD (15, 22). V průběhu CKD se tedy kostní choroba vyvíjí v aproximativní závislosti na poklesu GFR. Lze ji v podstatě považovat za zákonitě se dostavující komplikaci chronického selhání ledvin. Rozvoj biochemických abnormalit kalcium-fosfátového metabolismu v závislosti na poklesu glomerulární filtrace je znázorněn v tabulce 5 (15). Progrese renálního onemocnění nakonec vede ke stavu, kdy organismus není schopen kompenzovat pokles renální funkce a dochází nejen k rozvoji hyperfosfatemie a kostní choroby, ale také mimokostních kalcifikací (14).

Tabulka 5. Biochemické abnormality Ca - P metabolismu v aproximativní závislosti na vývoji chronické nedostatečnosti ledvin; upraveno podle Sotorník, 2011.

Glomerulární filtrace ( ml/sec)	Laboratorní nálezy
> 1.0	vzestup parathormonu
< 1.0	pokles kalcitriolu
< 0.8	pokles absorpce kalcia hypokalcemie
< 0.5	hyperkalcitoninemie
< 0.3	hyperfosfatemie metabolická acidóza hypervitaminóza A
< 0.1	retence hliníku, železa, stroncia a dalších stopových prvků

Proces kalcifikace arterií zahrnuje diferenciaci buněk hladké svaloviny cév v osteoblast-like buňky, s následnou mineralizací. Tento proces je indukován a regulován rovnováhou mezi faktory podporující a inhibující kalcifikace. Vznikají dva typy arteriálních kalcifikací (v intimě a medii), které mají odlišný vliv na arteriální funkce. Kalcifikace intimy jako součást pokročilé aterosklerózy vedou ke zmenšení až okluzi průsvitu arterií a ischemickým změnám. Mediální kalcifikace mají za následek tzv. ztuhlost (stiffening) arteriální stěny se zvýšením systolického a snížením diastolického tlaku. To vede ke zvýšení tlakové zátěže srdce, hypertrofii



levé srdeční komory a snížením myokardiální perfuze. Oba typy kalcifikací jsou spojeny se zvýšenou mortalitou (23, 24).

## **5.2. Vyšetřovací postupy**

### 5.2.1. Úvod

V oblasti problematiky CKD-MBD existuje velmi široké spektrum vyšetřovacích postupů. Je to pochopitelné vzhledem k tomu, že se jedná o značně komplexní poruchu, projevující se nejen biochemickými abnormalitami a postižením kostí, ale také prognosticky závažným postižením kardiovaskulárního systému a dalšími komplikacemi. Do diagnostických postupů CKD-MBD dnes proto řadíme (mimo jiné) také metody určené k vyšetření srdce a cév. V popředí zájmu v této oblasti jsou neinvazivní metody hodnocení vaskulárních kalcifikací a tuhosti (stiffness) arteriální stěny.

Vstupní vyšetření pacienta s CKD-MBD by mělo zahrnovat: sérové hladiny parathormonu, kalcia, fosforu, alkalické fosfatázy, bikarbonátů a dále zobrazovací vyšetření ke zhodnocení kalcifikací v měkkých tkáních. Pokud je nález biochemických vyšetření nekonzistentní (např. vysoký parathormon, ale nízká alkalická fosfatáza) a pacient má bolesti nebo fraktury kostí nejasného etiologie, měla by být indikována kostní biopsie (12).

*Další text je vzhledem k tématu disertační práce zaměřen na vyšetřovací postupy určené k diagnostice abnormalit minerálového a hormonálního metabolismu a renální osteopatie (stranou jsou ponechány vyšetřovací metody určené k posouzení kardiovaskulárního postižení v rámci CKD-MBD).*

### 5.2.2. Klinická symptomatologie

Renální osteopatie je přinejmenším zpočátku často asymptomatická. K zásadnímu rozvoji renální osteopatie totiž dochází až v průběhu chronického dialyzačního léčení. S postupující progresí CKD se mohou objevit kostní bolesti i bolesti kloubů a svalů, postihující nejvíce axiální skelet v lumbosakrální oblasti a velké klouby

dolních končetin. Bolesti nejsou lokalizovány na přesnou oblast, jsou spíše difuzní a neurčité, ale může být i lokalizované místo více intenzivní bolesti. Z pohybových aktivit vážne například vstávání ze židle, chůze do schodů i ze schodů, výdrž chůze, výdrž stání. Typická je kolébavá „kachní chůze“. Příznaky jsou modifikovány i souběžně přítomnou neuropatií, zhoršenou výživou, ischemií a popřípadě dialyzační amyloidózou (6, 25).

Do spektra projevů patří i inkompletní ruptury šlach (Achillova šlacha), svalů (musculus quadriceps aj.) a fraktury. Fraktury mohou vznikat i po minimálním podnětu (patologické fraktury) a to v oblasti žeber, dlouhých kostí i jinde. Riziko fraktur je u dialyzovaných pacientů 4x vyšší ve srovnání s ostatními. Na frakturách krčku stehenní kosti se může podílet i dialyzační amyloidóza: tato oblast je příznačná pro kostní akumulaci dialyzačního amyloidu. Depozita amyloidu jsou i v jiných lokalizacích a i zde se podílejí na klinické manifestaci (syndrom karpálního tunelu, destruuující artropatie) (6).

Déle trvající metabolicky aktivní sekundární hyperparatyreóza může být provázena poklesem tělesné výšky a hmotnosti (tzv. shrinking syndrom) z komprese obratlů a katabolického působení parathormonu. Deformity skeletu axiálního i apendikulárního jsou spolu s retardací růstu prominentními projevy renální osteopatie v dětské populaci (25).

Při dlouhém trvání sekundární hyperparatyreózy se může také měnit fyziognomie nemocných, včetně obličejové části. Kalva a další partie skeletu se stávají hyperostotickými, v čelistech se mohou objevit „hnědé nádory“. Bizarně znetvořený obličej a defektní trup jsou součástí Saglikerova syndromu, provázeného také nízkým vzrůstem, kloubními deformitami a neurologicko-mentálními poruchami; syndrom je v současné době nalézán hlavně v muslimské populaci (25, 26).

Pruritus je dáván do spojitosti s mikrodepozity vápenatých solí v kůži, není však specifický a může mít řadu jiných příčin. Dříve byl častější, v současnosti, při dialyzačním léčení s využitím biokompatibilních účinných membrán a vysoce purifikované vody pro přípravu dialyzačního roztoku, spíše ubývá (6).

Častým klinickým nálezem jsou mimokostní kalcifikace měkkých tkání převážně ve spojitosti s hyperfosfatemií a hyperkalcemií, jejich utváření lze očekávat, je-li kalciumfosfátový součin v séru nad 5.6 až 6.0 mmol<sup>2</sup>/l<sup>2</sup>. Podle místa výskytu poznamenávají klinický stav. Kalcifikace na spojivce a rohovce vyvolávají syndrom „červených očí“, byly kdysi pokládány za jednu z nejčastějších lokalizací kalcifikací. Ektopické kalcifikace kůže a podkoží působí bolestivost zejména v iniciální fázi, později působí lokální obtíže především při periartikulární lokalizaci. Nepříznivou prognózu mají kalcifikace ve viscerálních orgánech: v myokardu, na srdečních chlopních, v plicních septech (tzv. pemzová plíce). Kalcifikace arterií jsou častou komplikací CKD a jejich rozsah predikuje kardiovaskulární mortalitu u nefrologických nemocných. Na nativních RTG snímcích se zjišťují až u 60% dialyzovaných pacientů. Zcela maligním typem postižení je kalcifikující uremická arteriolopatie neboli kalcifylaxe, končící ve většině případů sepsí z nekrotického rozpadu postižených oblastí (6, 23, 25, 27). Příznaky renální osteopatie jsou v přehledu uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6. Klinická manifestace renální osteopatie;  
upraveno podle Dusilová Sulková, 2007.

- 
- ◆ asymptomatický průběh
  - ◆ bolesti kostí
  - ◆ pruritus
  - ◆ svalová slabost a bolest
  - ◆ poruchy hybnosti
  - ◆ fraktury a infrakce kostí
  - ◆ deformity kostí
  - ◆ ruptury šlach
  - ◆ extraoseální kalcifikace
  - ◆ kalcifylaxe
  - ◆ postižení dalších orgánů v rámci deficitu vitamínu D

- ◆ kombinace projevů
  - ◆ nově: souvislost s cévním systémem (aktivní kalcifikace cév)
- 

I když klinický obraz nízkooobratové a vysokoobratové kostní nemoci je v zásadě shodný, uvádí se, že adynamická osteopatie je častěji asymptomatická. Někdy se udává, že je zde zvýšené riziko fraktur. Obě formy, i jejich vzájemné přechody, jsou dispozicí pro mimokostní kalcifikace, zdůrazňuje se zejména souvislost cévních kalcifikací a úbytku kostního minerálu (6).

Porucha minerálového metabolismu se negativně projevuje na struktuře a funkci srdce a cév (tabulka 7), s možnou manifestací symptomů kardiovaskulárního onemocnění. Změny kardiovaskulárního systému pochopitelně nejsou jen důsledkem této poruchy, ale komplexu obecně rizikových faktorů a faktorů specifických pro selhání ledvin a pro dialyzační léčbu (6).

Tabulka 7. Porucha minerálového metabolismu při selhání ledvin ve vztahu ke kardiovaskulárnímu systému; upraveno podle Dusilová Sulková, 2007.

---

- ◆ kalcifikace intimy arterií (okluze, ischemie)
  - ◆ kalcifikace medie arterií (ztuhlost - stiffening)
  - ◆ kalcifikace srdečních chlopní
  - ◆ mikrokalcifikace myokardu
  - ◆ hypertrofie levé komory v důsledku zvýšené tlakové zátěže (afterload)
  - ◆ zvýšená morbidita a mortalita v důsledku těchto změn
- 

### 5.2.3. Biochemické markery kostního metabolismu

Biochemická vyšetření mají jako součást laboratorní diagnostiky v problematice renální osteopatie nezastupitelné postavení. Umožňují neinvazivním, zpravidla technicky zvládnutelným způsobem orientovat se v souboru rozdílných typů renální

osteopatie. Středem pozornosti při biochemickém vyšetření jsou takové látky neboli analyty, které by měly být jedinečné pro kost, jsou vyplavovány do oběhu a měřitelné ve vzorcích krve, event. moči. Jelikož v kostech probíhají v těsné návaznosti procesy novotvorby kostní tkáně a jejího odbourávání, za renální osteopatie různou měrou modifikované, jsou vybrány pro klinickou praxi takové měřitelné látky odrážející úroveň jak osteoformace, tak osteoresorpce splňující tímto funkci kostní markerů (25).

Neexistence mezinárodních standardů a detekce rozdílných forem analytů má za následek vysokou variabilitu přístrojů dodávaných jednotlivými výrobci; normální hodnoty jsou tedy specifické pro jednotlivé metody a nelze je aplikovat paušálně. Sérové parametry mají nižší interindividuální i analytickou variabilitu než parametry stanovované v moči (28). Kostní markery reagují na změnu kostního obratu velmi rychle, v řádu týdnů a průkazně přesahují oblast nejistoty měření již po 3-6 měsících (29). V tabulce 8 je uveden přehled sérových markerů kostního metabolismu (30).

Tabulka 8. Přehled sérových markerů kostního metabolismu;  
upraveno podle Uřeña, 2010.

- 
- ◆ Markery kostní novotvorby
    - Kostní izoenzym (frakce) alkalické fosfatázy
    - Osteokalcin (kostní Gla protein)
    - N-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP)
    - C-terminální propeptid prokolagenu typu I (PICP)
  
  - ◆ Markery kostní resorpce
    - Tartrát rezistentní izoenzym (kostní frakce) kyselé fosfatázy
    - Deoxypyridinolin
    - Pyridinolin
    - N-terminální telopeptid kolagenu I (NTX)
    - C-terminální telopeptid kolagenu I  
(měřen jako CTX nebo ICTP)
    - Kostní sialoprotein

- ◆ Další markery se vztahem ke kostnímu metabolismu
  - Vápník
  - Fosfáty
  - Magnezium
  - Celková alkalická fosfatáza
  - Hliník
  - Parathormon
  - Kalcidiol
  - Kalcitriol
  - Vitamin D vážící protein
  - Inzulinu podobný růstový faktor I (IGF-I)
  - Fibroblastový růstový faktor (FGF-23)
  - Osteoprotegerin (OPG)
  - RANKL
  - Cathepsin K
  - Fetuin A
  - Matrix Gla protein (MGP)
  - Parathyroid related peptide (PTHrP)
- 

Běžná sledování se většinou omezují na vyšetření vápníku, fosfátů, celkové alkalické fosfatázy a stanovení parathormonu. Ke zvýšení sekrece parathormonu však dochází relativně pozdě, až vlivem snížených koncentrací kalcitriolu a hyperfosfatemie. Je tedy potřebné, aby byly vyšetřovány též koncentrace kalcitriolu popř. i kalcidiolu, a to již při poklesu glomerulární filtrace pod 1 ml/sec. Výše zmíněné analyty je doporučeno u pacientů se selháním ledvin vyšetřovat pravidelně, v intervalech dle konkrétního markeru. Tato vyšetření výrazně usnadní a korigují terapii a umožní včasný záchyt dosud asymptomatických stadií renální osteopatie (6). Spuštění homeostatických dějů zaměřených na udržení normofosfatemie může odhalit také analýza sérových koncentrací FGF-23 (15).

*Další text je zaměřen na vybrané biochemické markery kostního metabolismu, použité při sledování souboru pacientů v této disertační práci.*

## VÁPŇÍK

Pro spolehlivé stanovení kalcemie je nezbytný správný odběr krve nalačno a bez delší venostázy. Za směrodatný údaj bývá považována sérová koncentrace ionizovaného vápníku, pro základní orientaci se však lze s výhradami spolehnout na koncentraci celkového vápníku (28). Novou informací je odklon od korigovaných hodnot celkového S-Ca podle koncentrací plazmatického albuminu a případně stavu acidobazické rovnováhy; je-li tento údaj v normě, není třeba stanovovat S-Ca<sup>2+</sup> (31). Hypokalcemie je přítomna u hypoparatyreózy, pseudohypoparatyreózy, u dětí např. u vitamínu D deficitní či dependentní rachitidy, ale též u chronické renální insuficience. Hyperkalcemie v dospělém věku bývá nejčastěji způsobena primární či sekundární hyperparatyreózou, další v pořadí je tumorem indukovaná hyperkalcemie. Mezi méně časté příčiny patří podávání thiazidových diuretik, intoxikace vitamínem D, především aktivními metabolity vitamínu D, a hypofunkce kůry nadledvin při Addisonově chorobě. Zvýšená hladina vápníku může být rovněž prvním projevem sarkoidózy (28).

## FOSFÁTY

Sérová koncentrace fosfátů patří k základním biochemickým vyšetřením u pacientů s CKD. Fyziologickou hyperfosfatemii nacházíme v období růstu. Při nálezů hyperfosfatemie v dospělosti je třeba vždy pomýšlet na renální insuficienci, kdy vážne glomerulární filtrace fosfátů, a také na hypoparatyreózu a pseudohypoparatyreózu, kdy je zvýšená renální tubulární resorpce fosfátů. Vzácněji pozorujeme hyperfosfatemii u intoxikace vitamínem D a u diabetické ketoacidózy. Hypofosfatemie u dospělých může nastat při hyperparatyreóze, hypovitaminóze D a při tubulárním defektu resorpce fosfátů v ledvinách. Se změnami tohoto typu je potřeba rovněž počítat při dlouhodobé parenterální výživě (28). S hypofosfatemii se setkáváme také u pacientů po transplantaci ledviny. Hypofosfatemie po transplantaci může být zapříčiněna zvýšenými hladinami FGF-23 s následným deficitem kalcitriolu a zvýšenými ztrátami fosfátů (32). Epidemiologická data uvádějí, že

zvýšení hladiny fosfátů nad normální hodnoty jsou spojeny s nárůstem morbidity a mortality (33). Sérová hladina fosfátů nad 1.8 mmol/l je asociovaná s nárůstem relativního rizika smrti. Také abnormálně nízké hladiny fosfátů však zvyšují mortalitu (30).

## PARATHORMON

Hodnocení funkce příštítných tělísek má unikátní význam pro diagnózu a terapii metabolických kostních onemocnění. Stanovení parathormonu (PTH) je proto výchozím a často používaným biomarkerem renální osteopatie umožňujícím laboratorní orientaci o úrovni kostního obratu a jeho změnách. Požadavek přesnosti a hodnověrnosti výsledku stanovení PTH se stává nutností pro klinického lékaře v jeho rozhodování. V případě PTH je v porovnání s jinými analyty situace o něco složitější a stále aktuální. Riziko nepřesnosti stanovení PTH v cirkulaci tkví v jeho imunoheterogenitě (25).

Parathormon je produkován tzv. hlavními buňkami příštítných tělísek, jde o polypeptid složený z 84 aminokyselin s molekulovou hmotností 9500 Da. Parathormon je skladován v sekrečních granulích, odkud je vyplavován v odpovědi na pokles extracelulárního ionizovaného vápníku (6, 30). Většina PTH je sekretována jako intaktní PTH 1-84 (iPTH), nicméně může být také sekretován jako N-terminální a C-terminální fragmenty po intracelulární degradaci za stavu hyperkalcemie (34). Do cirkulace secernovaný iPTH se rychle rozpadá v játrech a ledvinách na výše uvedené fragmenty. Za normálních okolností 10-20 % cirkulujícího PTH tvoří intaktní PTH (1-84), zbylých přibližně 80 % tvoří C-terminální fragmenty. N-terminální fragment má krátký biologický poločas a nalézá se v krvi ve velmi nízkých koncentracích. C-terminální fragmenty mají 5-10x delší biologický poločas než iPTH a při selhání funkce ledvin dochází k jejich akumulaci (6, 30). Uvádí se, že C-terminální fragmenty antagonizují kalcemický účinek iPTH, mají přímý antiresorpční účinek na kost a mohou se podílet na vzniku rezistence skeletu vůči parathormonu (25).



Metody ke stanovení PTH se postupně vyvíjejí. Testy 1. generace byly RIA metody stanovení protilátek proti C-fragmentu PTH, ve vyšetřovaném vzorku krve se tak měřil především degradační produkt intaktního PTH. Testy 2. generace stanovují tzv. intaktní PTH, spolu s intaktní PTH 1-84 molekulou se ale současně měří i C-fragment 7-84; přesto zůstává tento způsob analýzy do současné doby hlavní metodou. Nejnovější testy 3. generace („whole“ PTH, bio intact PTH) měří pouze PTH 1-84, bez zkřížené reakce s ostatními fragmenty PTH (6, 25).

## MARKERY KOSTNÍHO OBRATU

Za charakteristické ukazatele kostního obratu jsou považovány sérové aktivity enzymů, které vypovídají o kostním obratu a sérové a močové koncentrace aminokyselin a bílkovin vznikajících při kostní formaci a resorpci (28). Změny markerů nejsou specifické pro jednotlivé nemoci, ale odrážejí změny kostního metabolismu nezávisle na vyvolávající příčině, zaměřené přednostně na organickou kostní matrix (25). Ačkoliv markery rozdělujeme na markery formace a resorpce a stále panuje zjednodušená představa, že osteoblasty kost tvoří a osteoklasty ji odbourávají, jde obvykle o spřažené funkce se zpětnou vazbou, kdy při patologických stavech, např. zvýšené resorpci, dochází i k zvýšené formaci, i když nestejně úrovně (28).

## MARKERY KOSTNÍ NOVOTVORBY

### Kostní izoenzym alkalické fosfatázy

Kostní izoenzym alkalické fosfatázy (BALP) je vedle parathormonu nejdůležitějším biochemickým ukazatelem renální osteopatie. Je produkován výhradně osteoblasty, má molekulovou hmotnost 80 kDa. Není dialyzovatelný a není ani filtrován ledvinami, a proto se jeho koncentrace v plasmě nemění s variabilitou renální funkce. Jeho koncentrace tedy závisí jen na rychlosti uvolňování z osteoblastů a na hepatální degradaci a proto i při nezvratném selhání ledvin BALP spolehlivě vypovídá o stupni kostní novotvorby. U těchto pacientů katalytická koncentrace BALP významně pozitivně koreluje s koncentrací parathormonu (25, 30). Z hlediska diferenciální

diagnostiky však nesmíme opomenout, že zvýšení BALP může být přítomné u zvýšené kostní remodelace jakéhokoliv původu, včetně nádorového postižení skeletu (28).

### Osteokalcin

Osteokalcin, rovněž nazývaný kostní Gla protein, je malý nekolagenní protein, obsahující v molekule zbytky kyseliny  $\gamma$ -karboxyglutamové, pro jejichž syntézu je kofaktorem vitamin K. Jde o metabolit specifický pro kostní tkáň a dentici a tvoří přibližně 1 % organické matrix. Po kolagenu je to hlavní bílkovina kostní matrix. Je syntetizován převážně osteoblasty, odkud vstupuje do krevního oběhu a následně je pak včleněn do kostní matrix (28). Je považován za jeden z necitlivějších a nejspecifičtějších ukazatelů kostní novotvorby, i když má krátký biologický poločas a technické problémy při analýzách i interpretacích nálezů zvláště u chronického selhání ledvin (25). U uremických pacientů dochází v plasmě k retenci fragmentů osteokalcinu, takže intaktní osteokalcin tvoří jen asi čtvrtinu celkového osteokalcinu. Tato heterogenita molekul osteokalcinu v cirkulaci limituje hodnotu tohoto laboratorního vyšetření u CKD pacientů. Fyziologická role osteokalcinu ani jeho fragmentů není dosud plně objasněna (30, 35).

### N-terminální propeptid prokolagenu typu I

N-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP) se ekvimolárně s C-terminálním propeptidem (PICP) odštěpuje při maturaci kolagenové molekuly. Oba typy prokolagenu jsou vycytávány z cirkulace přes separátní receptory endotelových buněk v játrech (25). PINP je tvořen osteoblasty a je považován za nový marker syntézy kolagenu a také kostního obratu (30). Sérové hladiny PINP nejsou ovlivněny hemodialýzou a korelují lépe než hladiny BALP se všemi markery kostní resorpce, a navíc signifikantně negativně korelují s ročními změnami minerální kostní denzity v oblasti distální třetiny radia (36). Sérová hladina PINP tedy může být užitečným markerem syntézy kostní matrix, nicméně její prospěšnost u pacientů s CKD-MBD vyžaduje další zhodnocení (30).

## MARKERY KOSTNÍ RESORPCE

### Tartrát rezistentní izoenzym kyselé fosfatázy

Kyselé fosfatázy jsou lyzozomální izoenzymy vytvářené osteoklasty, ale také prostatou, dělohou, slezinou, slinivkou a krevními elementy, o hmotnosti 30 000 Da. Je známo, že tartrát rezistentní izoenzym kyselé fosfatázy (TRAP) defosforyluje různé proteiny kostní matrix, jako jsou osteopontin a sialoprotein (25). Stanovení a monitorování koncentrace TRAP je vhodné i při nezvratném selhání ledvin, protože plasma není od enzymu očišťována ledvinami. Katalytická koncentrace TRAP (podobně jako BALP) významně koreluje s koncentrací parathormonu. Ve spojitosti se sekundární hyperparatyreózou je tedy stimulována činnost jak osteoblastů, tak i osteoklastů, projevující se změnami v aktivitách příslušných enzymů (6). Nově byly vyvinuty také metody ke stanovení izoenzymu TRAP5b, jehož stanovení zvyšuje specifitu vyšetření. Studie prokázaly, že sérová TRAP5b koreluje signifikantně s BALP, intaktním osteokalcinem, PTH a zvláště s NTX (N-terminálním telopeptidem kolagenu I), dalším markerem kostní resorpce. Mimoto byla zjištěna také korelace se změnami kostní minerální denzity (30).

### C-terminální telopeptid kolagenu

Telopeptidy jsou malé sekvence aminokyselin vznikající degradací molekuly kolagenu. Vzhledem k jejich malé molekulární hmotnosti jsou za normálních okolností odstraňovány ledvinami a akumulují se v případě renální nedostatečnosti. Podle použité laboratorní metody se stanovují dva typy telopeptidů: CTX (CrossLaps) nebo ICTP. Obě metody rozpoznávají jinou oblast C-terminálního telopeptidu (30). Tento marker kostní resorpce vykazuje korelace s jinými ukazateli těchto pochodů, navíc má příznivá specifika: laboratorní analýza v séru není technicky náročná, má nízký koeficient variability nálezů, jeho sérové koncentrace pozitivně korelují s hodnotami iPTH i BALP a negativně s hodnotami kostní minerální denzity, především v oblasti distálního předloktí u hemodialyzovaných nemocných (25, 30, 37). Stanovení sérového CTX může být užitečným markerem

kostní resorpce u pacientů s chronickým onemocněním ledvin a jeho použití v kombinaci s markery kostní formace může být nápomocné při terapeutickém rozhodování (30). U obecné populace se doporučuje sledování CTX jako markeru resorpce a PINP jako markeru kostní novotvorby k monitoraci léčby osteoporózy a odhadu rizika fraktur (38).

## METABOLITY VITAMINU D

Substráty vitamínu D cholekalciferol (vitamin D<sub>3</sub>) a ergokalciferol (vitamin D<sub>2</sub>) jsou metabolizovány v játrech na 25(OH)D<sub>3</sub> (kalcidiol) a 25(OH)D<sub>2</sub> (erkalcidiol), souhrnně označované jako 25(OH)D (25-hydroxyvitamin D). Další konverze provitaminu D se uskutečňuje hydroxylací v ledvinách na 1,25(OH)D<sub>3</sub> (kalcitriol) a 1,25(OH)D<sub>2</sub> (erkalcitriol, parikalcitol), pod společným označením 1,25(OH)<sub>2</sub>D (1,25-dihydroxyvitamin D). Běžně dostupnými metodami nelze rozlišit tyto deriváty vitamínu D (7, 25). Má se za to, že po konverzi na 25-hydroxyvitamin D není rozdíl v biologické aktivitě mezi D<sub>2</sub> a D<sub>3</sub> deriváty, takže se v praxi běžně používá jen označení kalcidiol a kalcitriol. V organismu vzniká na 40 různých metabolitů vitamínu D, hlavní účinek vitamínu D je však zprostředkován 1,25-dihydroxyvitaminem D (kalcitriolem) (33).

Stanovení 25-hydroxyvitamínu D (kalcidiolu) zůstává standardem k určení deficitu, popř. předávkování vitamínem D. Sekundární hyperparatyreóza se objevuje u dospělých už při poklesu hladiny kalcidiolu pod 30ng/ml (75 nmol/l), za významný deficit vitamínu D se považují hladiny pod 20 ng/ml (50 nmol/l). Ke snížení incidence zlomenin dochází až při průměrné sérové koncentraci nad 72 nmol/l (28). Tradičně se se sekundární hyperparatyreózou při selhání ledvin spojuje deficit kalcitriolu. Pacienti se selháním ledvin však mají relativně častý i deficit nativního vitamínu D, resp. 25-hydroxyvitamínu D (jehož stanovení v krvi se považuje za ukazatel zásob vitamínu D v těle). Za vyhovující se považuje koncentrace v séru 30-50 ng/ml, tj. 75-125 nmol/l (6).

Stanovení 1,25-hydroxyvitamínu D (kalcitriolu) je v praxi méně běžné. Biologický poločas je oproti kalcidiolu výrazně kratší (4-6 hodin), a u žen se

koncentrace kalcitriolu mění v závislosti na menstruačním cyklu. V séru dosahuje velmi nízkých hladin, řádově tisíckrát nižších než kalcidiol (28).

#### 5.2.4. Zobrazovací metody

Nativní rentgenový snímek a scintigrafie skeletu jsou nejčastěji používané vyšetřovací metody k zobrazení muskuloskeletálního systému u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. V některých případech může být také užitečné vyšetření pomocí počítačové tomografie, magnetické rezonance nebo ultrazvukové vyšetření. Zobrazovací metody hrají poměrně malou roli v diagnostice renální osteopatie (tato má být dle doporučení KDIGO (7) diagnostikována na podkladě kostní biopsie), někdy jsou ale změny skeletu tak výrazné, že diagnózu umožňují. Zobrazovací metody se používají především ke zhodnocení následků renální osteopatie v muskuloskeletální oblasti a případně ke sledování účinku léčby. Vzhledem k nárůstu podílu adynamické choroby a menšímu výskytu pokročilých forem sekundární hyperparatyreózy a osteomalacie se dnes výrazné změny skeletu při zobrazovacím vyšetření nachází méně často než dříve (25, 39).

#### SKIAGRAFIE SKELETU

Rentgenové zobrazení zájmových oblastí skeletu náleží pro svou dostupnost k základním vyšetřením nemocného s renální osteopatií a nemělo by být opomíjeno ani v současné době (40). Základem vyšetření je prostý snímek ruky, kalvy, bederní páteře v bočné projekci, pánve a kyčelních kloubů. Rentgenologické projevy renální osteopatie jsou často opožděny za klinickými nebo laboratorními známkami onemocnění. Z rentgenologického hlediska je možno rozlišit následující patologické změny na skeletu: osteoporózu, hyperparatyreózu, osteomalacii a kostní projevy amyloidózy. Úspěšná terapie vede k úpravě většiny patologických změn na skeletu. Nejlépe je možno tyto změny sledovat na skeletu prstů ruky nebo na kalvě; lze také pozorovat resorpci (i úplnou) objemných ektopických kalcifikací měkkých tkání (25, 41).

Osteoporózu lze na nativním rentgenovém snímku skeletu rozlišit až při značné změně kostní denzity (úbytek o 30-40 %). Rentgenologickým projevem je nejčastěji snížení denzity kostí a fraktury kostí bohatých na spongiózu, jako např. obratlových těl, distálního předloktí nebo proximálního femuru. Vymizení příčné trabekularizace obratlových těl se projevuje v podobě vertikálních proužků (25, 28).

Pro hyperparatyreózu jsou charakteristické tři typy rentgenologických změn: kostní resorpce, skleróza a hnědé nádory. Pokročilé projevy tohoto onemocnění se označují jako „osteitis fibrosa cystica“ (39). K typickým rentgenologickým známkám akcentované hyperparatyreózy patří subperiostální eroze, zejména prostředních falang prstů horních končetin, akroosteolýza distálních falang, okrskovitá subperiostální projasnění na lebce, na akromiálním konci klíčku i jinde. Na páteři se setkáváme s obrazem „rubber jersey spine“, kdy tělo obratle má prořídlou strukturu a horní a dolní okraje obratlových těl jsou naopak kondenzované (6). Jako hnědé nádory jsou označovány dutiny v kostech způsobené nadměrnou osteoklastickou resorpcí, tvorbou vazivové tkáně a zkapalněním hemoragických nekrotických hmot. Rentgenologicky vypadají jako kostní cysty (25).

Rentgenologické projevy osteomalacie jsou mnohem méně charakteristické než u hyperparatyreózy. Za jediný patognomický nález u osteomalacie jsou považovány Looserovy zóny přestavby (pseudofrakturny) v podobě radiolucenčních proužků kolmých k dlouhé ose kostí. Lze je nejčastěji nalézt na zatížených částech skeletu, jako jsou kost stydká, kosti stehenní a bércevé. Dále se mohou vyskytovat na laterální straně lopatky a žebrech. Prevalence nálezu Looserových zón je nízká, udává se, že postihují 1 % pacientů s chronickým selháním ledvin (25, 39). Looserovy zóny přestavby je nutno odlišit od únavových osteoporotických fraktur, hlavně v oblasti kosti stydké, křížové a kosti patní (41).

Amyloidóza se vyvíjí u pacientů dlouhodobě léčených hemodialýzou. U hemodialyzační amyloidózy je hlavní komponentou  $\beta_2$ -mikroglobulin. Amyloid se akumuluje v kloubech a přilehlých kostech (39). Rentgenologicky jsou tato depozita patrná jako dobře ohraničené kortikální cysty lokalizované juxtaartikulárně, zejména v okolí velkých kloubů. Ačkoliv jsou tyto léze poměrně charakteristické, nelze je

označit za patognomické pro tuto jednotku. V diferenciální diagnóze přichází v úvahu také hnědé nádory (25).

Nativní rentgenový snímek je mimo samotného zobrazení skeletu také vysoce přínosný pro rozpoznání extraoseálních kalcifikací v nejrůznějších lokalizacích (měkké tkáně, arteriální strom) (6).

## SCINTIGRAFIE SKELETU

Kostní scintigrafie je zobrazovací metoda mapující funkční metabolické změny, které předcházejí změnám anatomickým. Jde o neinvazivní senzitivní metodu, která může přispět k detekci a posouzení závažnosti a typu renální osteopatie. Statická i dynamická scintigrafie nepřímo odráží úroveň kostního obratu (25). Po léčbě sekundární hyperparatyreózy kalcitriolem byl prokázán pokles kostní akumulace radiofarmaka současně s poklesem hladin parathormonu a alkalické fosfatázy (42).

### 5.2.5. Denzitometrické vyšetření skeletu

Vyšetření kostní minerální denzity (BMD) je v obecné populaci standardně používanou metodikou k diagnostice osteoporózy (OP). Osteoporóza a její nejzávažnější následek, osteoporotická fraktura má významné zdravotní i ekonomické důsledky pro jedince i společnost. Osteoporóza je v obecné populaci častým onemocněním. Prevalence OP je vyšší u žen a stoupá s věkem. Recentní studie z USA udává u běžné populace nad 50 let osteoporózu v 9 %, a zcela normální kostní minerální denzitu jen u poloviny této populace (43). Osteoporózu či sníženou kostní denzitu má na 44 miliónu obyvatel USA (10). V České republice je osteoporózou postiženo na 400 000 žen a 200 000 mužů, každý rok prodělá asi 40 000 osob klinicky dokumentovanou frakturu (44). Diagnostika a léčba osteoporózy je v současné době poměrně sofistikovanou medicínskou disciplínou. V této oblasti je vypracována celá řada národních i mezinárodních doporučení pro diagnostiku a léčbu (45, 46, 47).

Kostní minerální denzita se v praxi nejčastěji měří pomocí dvouenergetické kostní absorpciometrie - dual x-ray absorptiometry (DXA). K diagnostice osteoporózy je preferováno vyšetření v oblasti bederní páteře (v rozsahu prvního až

čtvrtého bederního obratle), celkového proximálního femuru (Total Hip) nebo krčku femuru a za určitých okolností také v oblasti distálního předloktí. Nález BMD se obvykle hodnotí jako tzv. *T*-skóre (počet směrodatných odchylek od průměrné hodnoty mladých osob stejného pohlaví). Použití *Z*-skóre (počet směrodatných odchylek od průměrné hodnoty stejně starých osob stejného pohlaví) je vhodné u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, pro které nejsou k dispozici referenční hodnoty. U této specifické populace představuje *Z*-skóre užitečný parametr k hodnocení kostní minerální denzity (45, 48).

Vzhledem k omezené výpovědní hodnotě DXA vyšetření je v poslední době snaha o zavedení nových, přesnějších metod stanovení kostní minerální denzity a také mikroarchitektury kostí. K těmto metodám patří kvantitativní počítačová tomografie (QCT, pQCT a HRpQCT), magnetická rezonance (MRI a micro-MRI) a nověji také stanovení tzv. „Trabecular bone score“ (TBS), s využitím analýzy šedé úrovně textury DXA snímků. Uvádí se, že tyto nové metody poskytují přesnější informace o riziku fraktur než standardní DXA vyšetření (49, 50, 51).

Osteoporóza je pro postmenopauzální ženy a muže nad 50 let definována hodnotou BMD *T*-skóre  $-2,5$  a nižší (10). Osteoporóza je charakterizována sníženou pevností kostí a predisponuje ke zvýšenému riziku zlomenin, každé snížení BMD o 1 směrodatnou odchylku zhruba zdvojnásobuje riziko zlomeniny (45). Pokles BMD u obecné populace tedy predikuje riziko fraktur, tento vztah však není tak jednoznačný u CKD pacientů ve stadiu 3-5. Nebylo spolehlivě prokázáno, že by fraktury byly podmíněny nízkou denzitou. Dialyzovaní pacienti mají riziko fraktur vysoké (3 až 4x vyšší než normální populace), avšak není zcela jisté, zda nízká BMD je skutečně riziková. Patologie kostí u HD pacientů totiž zahrnuje nejen nízkou mineralizaci, ale i špatnou kvalitu kostí – poruchu uspořádání trámců atd. (7, 52, 53). Obdobná nejistota o vztahu mezi nálezem nízké kostní minerální denzity a rizikem fraktur je uváděna také u pacientů po transplantaci ledviny (54).

U populace nemocných s chronickým onemocněním ledvin je hodnocení nálezů BMD složité. Pokles BMD u CKD může být zajisté způsoben specifickým onemocněním těchto nemocných, tedy renální osteopatií, ale na druhé straně na tuto populaci působí také faktory vedoucí ke vzniku osteoporózy v obecné populaci (6,



8). Vztah mezi hodnotami BMD a nálezem při kostní biopsii není jednoznačně definován (7, 55).

Doporučení KDIGO nezahrnují vyšetření BMD mezi doporučená rutinní vyšetření u pacientů s CKD ve stadiu 3-5, protože jednak nepredikují riziko fraktury (na rozdíl od situace u obecné populace), a navíc nepredikují typ renální osteopatie (7). Denzitometrie skeletu je však přesto považována za vhodné doplnění souboru vyšetření pacientů s chronickým onemocněním ledvin a také nemocných po transplantaci ledviny (25). Některé terapeutické postupy prokazují zvýšení kostní denzity ve srovnání s předchozí léčbou a je možné, že přístup k tomuto vyšetření bude revokován (6). Recentní review zabývající se touto problematikou uvádí toto: u pacientů v predialýze ve stadiu 1 až 3 CKD je možno (po vyloučení metabolického kostního onemocnění souvisejícího s onemocněním ledvin) použít DXA ke zhodnocení rizika fraktur; u pacientů ve stadiu 4 a 5 CKD, včetně pacientů v dialyzační léčbě, je nezbytný další výzkum v oblasti neinvazivních metod k hodnocení rizika fraktur, a DXA vyšetření z důvodu zhodnocení rizika fraktur není u těchto pacientů doporučeno (56).

#### 5.2.6. Kostní biopsie

Abnormality v kostní tkáni se u dětí i dospělých s chronickým onemocněním ledvin objevují velmi záhy, v období, kdy klinicky měřitelné parametry minerálového metabolismu jsou ještě normální (4). Histologické vyšetření bioptických vzorků ověřuje klinickou diagnózu a současně specifikuje kvalitativní a kvantitativní změny kostní tkáně u nemocných s chronickým selháním ledvin. Vyšetření má praktický význam pouze v případech, kdy je odběr dostatečně velkého vzorku proveden ve vhodně zvolené fázi vývoje kostní choroby. Histopatologické vyšetření kostní biopsie by mělo být indikováno vždy u pacientů, u kterých selhává medikamentózní terapie pokročilé sekundární hyperparatyreózy a je nutné uvažovat o parathyreoidektomii, ale také při podezření na nízkoobratlovou renální osteopatii, především typu adynamické kostní choroby (25). V tabulce 9 je uveden přehled indikací k histomorfometrickému vyšetření dle doporučení KDIGO (7).

Tabulka 9. Indikace ke kostní biopsii; upraveno podle KDIGO, 2009.

- 
- ◆ nekonzistentní laboratorní nálezy, nedovolující definitivní interpretaci
  - ◆ nevysvětlitelné zlomeniny nebo bolesti skeletu
  - ◆ nevysvětlitelná hyperkalcemie
  - ◆ podezření na hliníkovou intoxikaci nebo akumulaci jiných kovů
  - ◆ před parathyreoidektomií při předchozí akumulaci hliníku
  - ◆ provedení biopsie zvážit pokud plánujeme zahájení terapie bisfosfonáty
- 

Při hodnocení kostní biopsie u pacientů s chronickým onemocněním ledvin jsou měřeny tyto základní parametry: kostní obrat, mineralizace a objem kostní hmoty. Dle těchto parametrů je možno nálezy kostní biopsie rozdělit na: normální nález, typ adynamický, s vysokým kostním obratem, smíšený a osteomalacii. Udávána četnost fraktur u jednotlivých typů bioptických nálezů není konzistentní, ale několik studií prokázalo častější výskyt zlomenin u adynamického typu a osteomalacie (55). Samostatnou skupinu nemocných představují případy spadající do rámce tzv. hliníkové osteopatie, u kterých většinou převažují změny ve smyslu osteomalacie. Předpokládá se, že tento kov působí toxicky na kostní buňky a dochází tak k utlumení procesu mineralizace. Někteří však považují hliníková depozita za epifenomén, neboť u řady pacientů s hliníkovými depozity se osteomalacie nevyvine (6).

## **6. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE**

- 1.** Zhodnotit biochemická a denzitometrická data u souboru pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 5D nově zařazených do hemodialyzační léčby.
- 2.** Monitorovat biochemické markery kostního metabolismu a kostní minerální denzitu u tohoto souboru pacientů po další 2 roky, zhodnotit vývoj nálezů a vzájemný vztah mezi markery kostního metabolismu a kostní minerální denzitou.
- 3.** Zhodnotit senzitivitu kostí k účinkům parathormonu u skupiny postmenopauzálních žen a skupiny mužů.
- 4.** Zhodnotit změny biochemických parametrů, nutrice a kostní minerální denzity po transplantaci ledviny.

## 7. VLASTNÍ PRÁCE

### 7.1. Metody

#### 7.1.1. Soubor nemocných

Do studie bylo v průběhu několik let zařazeno celkem 82 pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 5D, nově vstupujících do chronického hemodialyzačního programu na našem pracovišti. Všichni nemocní byli v době zařazení do studie klinicky stabilní a jejich vypočtená glomerulární filtrace (před první hemodialýzou) byla pod  $0.25 \text{ ml/sec/1.73m}^2$ . První měření kostní minerální denzity bylo provedeno do 3 měsíců od zahájení hemodialyzační léčby. Ze studie byli vyloučeni nemocní s anamnézou předchozí transplantace ledviny a kortikosteroidní nebo hormonální substituční léčby. Nemocní nebyli suplementováni nativním vitamínem D. Všichni byli kavkazské rasy a žádný z nich neměl v anamnéze osteoporotickou frakturu. Studie byla schválena lokální etickou komisí a nemocní podepsali před zahájením studie informovaný souhlas.

#### 7.1.2. Laboratorní metody

Odběry krve pro laboratorní vyšetření byly provedeny vždy nalačno do zkumavek Sarstedt (Sarstedt AG & Co., Nümbrecht, Germany) obsahujících lithium heparinát jako antikoagulant. Materiál byl zpracován standardním způsobem. Plasma byla získána centrifugací v chlazené centrifuze ( $4^{\circ}\text{C}$ , 2500 g, 6 minut). Byly stanoveny koncentrace následujících látek: celkový vápník, kreatinin, fosfáty a albumin fotometricky (AU 2700, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA), celkový 25-hydroxyvitamin D, tzn. sumární výsledek D2 a D3 derivátu (DiaSorin, Inc., Stillwater, MN) a estradiol radioimunoanalýzou (Orion Diagnostica, Espoo, Finland). Koncentrace intaktního parathormonu (iPTH: parathormon 1–84 se 44.8% zkříženou reaktivitou s fragmentem 7–84) byla stanovena metodou enzymoimunoanalýzy na přístroji Immulite 2000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, New York, NY) a pH krve na přístroji Radiometer ABL 835 FLEX (Radiometer Medical ApS, Brønshøj, Denmark). Kostní frakce alkalické fosfatázy (BALP) a kostní frakce kyselé fosfatázy (BACP) byly měřeny metodou

enzymoimunoanalýzy na přístroji DSX (Dynex Technologies, Chantilly, VA). Analýzy celkového vápníku, kreatininu, fosfátů, albuminu a BACP vykazovaly variační koeficienty do 5%. Analýzy 25-hydroxyvitaminu D, estradiolu, parathormonu a BALP vykazovaly variační koeficienty 8.3%, 12.3%, 8.7% a 7.6%, respektive. C reaktivní protein byl stanoven imunoturbidimetry (AU 2700, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA) s variačním koeficientem 1.9%. Metodou elektrochemiluminiscenční imunoanalýzy na přístroji Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) byly měřeny hodnoty C-terminálního telopeptidu kolagenu typu I (CTx = BetaCrossLaps) a N-terminálního propeptidu prokolagenu typu I (P1NP) s variačním koeficientem 1.9%, respektive 2.3%. Osteokalcin byl nejdříve stanovován chemiluminiscenční imunoanalýzou na přístroji Immulite 2000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, New York, NY) s variačním koeficientem 7.7%, později elektrochemiluminiscenční imunoanalýzou na přístroji Cobas e411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) s variačním koeficientem 3.0%. Koncentrace sérového hliníku byla změřena spektrometricky 1x ročně (Thermo Fisher Scientific, Hudson, NH). Glomerulární filtrace byla stanovena výpočtem za použití tzv. zkrácené formy vzorce MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) ze tří parametrů: sérového kreatininu, věku a pohlaví pacienta.

Referenční hodnoty sledovaných laboratorních parametrů jsou uvedeny v tabulce 10.

Tabulka 10. Referenční hodnoty sledovaných biochemických ukazatelů.

	Norma	Jednotka
Hliník	< 6.0	ug/l
Estradiol		
<i>Muži</i>	0.02 - 0.30	nmol/l
<i>ženy 13 - 50 roků</i>	0.29 - 1.62	
<i>ženy 50 - 99 roků</i>	0.02 - 0.23	
25(OH)D (25-hydroxyvitamin D)	> 30	ug/l
Celkový vápník	2.1 - 2.65	mmol/l
Fosfáty	0.84 - 1.45	mmol/l
Albumin	35 -52	g/l
CRP (C reaktivní protein)	0 - 10	mg/l
iPTH (intaktní parathormon)	1.3 - 6.8	pmol/l
P1NP (N-terminální propeptid prokolagenu typu I)	5.0 - 58.6	ug/l
BACP (kostní frakce kyselé fosfatázy)		
<i>ženy do 45 let</i>	43.1 - 71.1	nkat/l
<i>ženy nad 45 let</i>	58.9 -95.5	
<i>Muži</i>	41.9 - 85.1	
BALP (kostní frakce alkalické fosfatázy)		
<i>ženy do 45 let</i>	0.193 - 0.327	ukat/l
<i>ženy nad 45 let</i>	0.237 - 0.712	
<i>Muži</i>	0.250 - 0.688	
CTX (C-terminální telopeptid kolagenu typu I)		
<i>ženy do 45 let</i>	0.166 - 0.476	ug/l
<i>ženy nad 45 let</i>	0.251 - 0.761	
<i>Muži</i>	0.142 - 0.522	
Osteokalcin		
<i>ženy do 45 let</i>	11.0 - 43.0	ug/l
<i>ženy nad 45 let</i>	15.0 - 46.0	
<i>muži do 50 let</i>	14.0 - 42.0	
<i>muži nad 50 let</i>	14.0 - 46.0	
pH	7.320 - 7.430	

### 7.1.3. Kostní denzitometrie

První měření kostní minerální denzity (BMD 1.) bylo provedeno u všech pacientů v období do 3 měsíců od zahájení chronického hemodialyzačního programu. Další měření byla provedena po roce (BMD 2.) a po dvou letech (BMD 3.). K měření byl použit kostní denzitometr QRD – 2000 firmy Hologic pracující na bázi měření absorpce duální energie rentgenových paprsků (DXA). Výsledky byly vyjádřeny v absolutních hodnotách ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) a dále jako *T*-skóre a *Z*-skóre. Naměřené hodnoty BMD u pacienta byly srovnány s referenčními hodnotami denzity kostního minerálu pro mladého zdravého jedince stejného pohlaví (*T*-skóre) a referenčními hodnotami pro stejný věk a pohlaví (*Z*-skóre). Srovnání je vyjádřeno jak velikostí směrodatné odchylky (SD), tak v procentech. Naměřené změny kostní minerální denzity mezi jedním a druhým měřením byly přepočteny tak, aby doba mezi měřeními odpovídala přesně jednomu, respektive dvěma kalendářním rokům (označeno jako  $\Delta$  BMD). Referenční databáze byla vytvořena firmou Hologic na základě 1000 měření lumbální páteře (650 žen, 350 mužů) a přes 1 400 měření kyčlí (750 žen, 730 mužů) u zdravých dobrovolníků. BMD byla hodnocena ve dvou oblastech centrálního skeletu, a to v oblasti bederní páteře (v rozsahu obratlů L1 až L4) a v oblasti levé kyčle (v krčku femuru a celkovém proximálním femuru).

### 7.1.4. Statistické metody

Hodnoty sledovaných parametrů jsou vyjádřeny jako medián a průměr  $\pm$  směrodatná odchylka. U hodnot osteokalcinu byla použita metoda lineární transformace ke korekci výsledků původní metody, vzhledem k odlišnému rozpětí normálních hodnot u nové metody měření. Významnost rozdílu mezi skupinami byla hodnocena pomocí dvouvýběrového Wilcoxonova testu. Shoda zastoupení osteoporózy a osteopenie pomocí chí-kvadrát testu (kapitola 7.2.) nebo McNemarovým testem (kapitola 7.3.). Modely závislosti kostní minerální denzity na sledovaných faktorech byly vyhledávány pomocí krokové regrese a algoritmu hledání nejlepší podmnožiny regresorů mezi modely prvního řádu. Mezi potenciální regresory, mezi kterými byly vyhledávány zdroje lineární závislosti, byly zařazeny i dichotomické (0, 1) veličiny -

pohlaví a diabetes. Významnost rozdílu mezi hodnotami v 1. a 2. roce, respektive v 1. a 3. roce byla hodnocena párovým t-testem nebo párovým Wilcoxonovým testem (výběr testu podle toho, zda byl či nebyl splněn předpoklad o normálním rozdělení rozdílů hodnot). Ke statistické analýze byl užit statistický software NCSS (Hintze J. (2001) NCSS and PASS, Number Cruncher Statistical System, Kaysville, Utah, [WWW.NCSS.COM](http://WWW.NCSS.COM)).

## **7.2. Zhodnocení biochemických a denzitometrických dat u souboru pacientů nově zařazených do hemodialyzační léčby**

### 7.2.1. Demografická a biochemická data souboru

Základní demografické údaje a biochemická data souboru 82 nemocných při zahájení chronické hemodialyzační léčby jsou uvedeny v tabulce 11. Všechny biochemické markery byly měřeny opakovaně, a to 1x měsíčně, v období 3 měsíců před vyšetřením kostní minerální denzity. Pro další zhodnocení byl vypočten průměr z těchto 3 měření. Glomerulární filtrace byla stanovena výpočtem, za použití zkráceného vzorce MDRD. K výpočtu byla použita hodnota sérového kreatininu naměřená před provedením první hemodialyzační léčby. Soubor byl hodnocen jednak jako celek a také po rozdělení na skupinu žen, mužů, nediabetiků a diabetiků.

Osm pacientů (11%) bylo ve věku pod 50 let, 41 pacientů (50%) ve věku mezi 50 a 70 roky a 32 pacientů (39%) bylo ve věku nad 70 let. Pacienti byli většinou mužského pohlaví (66%). Diabetici tvořili 43% pacientů a byli významně starší a měli vyšší body mass index než nediabetici. Muži měli signifikantně vyšší hodnotu glomerulární filtrace, hladinu 25-hydroxyvitaminu D a estradiolu než ženy (89% žen bylo po menopauze). Vyšší hodnoty glomerulární filtrace (ale nižší hodnoty 25-hydroxyvitaminu D a intaktního parathormonu) byly naměřeny u skupiny diabetických pacientů než u skupiny nediabetických pacientů a tyto rozdíly byly statisticky signifikantní.



TABULKA 11

Těžký deficit 25-hydroxyvitaminu D (pod 5 ug/l) byl nalezen u 17% hemodialyzovaných pacientů, střední deficit (od 5 do 16 ug/l) u 60 % a mírný deficit (od 16 do 30 ug/l) u 19% pacientů. Normální hladiny 25-hydroxyvitaminu D nad 30 ug/l byly naměřeny jen u 4% pacientů (3 muži, nediabetici). Nízké hladiny intaktního parathormonu (pod 16.5 pmol/l) byly naměřeny u 22% pacientů, střední (od 16.5 do 33.0 pmol/l) u 41% a vysoké hodnoty (nad 33.0 pmol/l) u 37% pacientů v souboru. Rozdělení hodnot parathormonu a stupně deficitu 25-hydroxyvitaminu D vychází z doporučení K/DOQI (57).

Příčinou selhání ledvin byla: diabetická nefropatie u 22 pacientů (27%), vaskulární nefropatie u 20 (24%), glomerulonefritida u 14 (17%), tubulointersticiální nefritida u 11 (13%), autozomálně dominantní polycystická choroba ledvin u 5 (6%), jiné onemocnění ledvin u 7 (9%) a u 3 pacientů (4%) byla příčina nejasná. Diabetická nefropatie byla příčinou selhání ledvin u 63% diabetiků v souboru, u ostatních diabetiků byla příčina jiná, nejčastěji vaskulární nefropatie (17%). Všichni diabetičtí pacienti měli diabetes mellitus 2. typu.

#### 7.2.2. Nálezy kostní denzitometrie

Data s nálezy kostní denzitometrie jsou uvedena v tabulce 12. Nejnížší hodnoty kostní minerální denzity vyjádřené v  $\text{g/cm}^2$  byly nalezeny u všech skupin pacientů v oblasti krčku femuru, zatímco nejvyšší hodnoty byly naměřeny v oblasti bederní páteře. V této oblasti byly hodnoty kostní minerální denzity vyjádřené jako Z-skóre vyšší vzhledem k referenčním hodnotám pro stejný věk a pohlaví. Ženy měly signifikantně nižší minerální kostní denzitu ve všech měřených oblastech skeletu při srovnání s muži, a navíc v oblasti celkového proximálního femuru, také hodnoty kostní minerální denzity vyjádřené jako T-skóre byly signifikantně nižší. Nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v hodnotách kostní minerální denzity mezi nediabetickými a diabetickými pacienty, vyjma hodnot kostní minerální denzity vyjádřených jako Z-skóre % v oblasti celkového proximálního femuru.

TABULKA 12

Prevalence hodnot *T*-skóre odpovídajících osteoporóze a osteopenii je uvedena v tabulce 13. Osteoporóza byla nalezena nejčastěji v oblasti krčku femuru a to u všech skupin pacientů. Vysokou kostní minerální denzitu s *T*-skóre SD nad 1.0 (není v tabulce samostatně uvedena) mělo 19.5% pacientů v oblasti bederní páteře, 1.2% v oblasti krčku femuru a 3.7% pacientů v oblasti celkového proximálního femuru. Hodnoty kostní minerální denzity odpovídající osteoporóze byly v oblasti celkového proximálního femuru významně častější u žen. Rozdíly v prevalenci osteoporózy mezi nediabetickými a diabetickými pacienty nebyly statisticky významné.

Tabulka 14 ukazuje prevalenci osteoporózy (v kterékoliv z měřených oblastí) ve skupině pacientů nad 50 let věku. Osteoporotické hodnoty *T*-skóre byly nejčastěji nalezeny u žen nad 70 let věku, ale rozdíly mezi věkovými skupinami (od 50 do 70 let a nad 70 let) nebyly u žen ani mužů statisticky významné. Ve věkové skupině do 50 let, která v tabulce 14 není uvedena, bylo jen 9 nemocných (6 mužů a 3 ženy), z nichž jen 1 žena měla osteoporotické hodnoty kostní minerální denzity.

Signifikantní faktory ovlivňující hodnoty kostní minerální denzity identifikované v modelech lineární závislosti jsou uvedeny v tabulce 15. Jako nezávislé proměnné byly testovány faktory uvedené v tabulce 11, včetně pohlaví a diabetu.

TABULKA 13

TABULKA 14

TABULKA 15

### 7.2.3. Diskuze

U sledovaného souboru 82 pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 5D při zahájení hemodialyzační léčby byla nalezena vysoká prevalence deficitu 25-hydroxyvitaminu D. Tento nálezn je u hemodialyzovaných pacientů častý (58, 59). Bylo přitom zjištěno, že vyšší hladiny 25-hydroxyvitaminu D jsou spojeny u pacientů s chronickým selháním ledvin se signifikantně lepším přežitím. Suplementace nativním vitaminem D vede k významnému zvýšení hladin 25-hydroxyvitaminu D a současnému poklesu hladin parathormonu s nízkou incidencí hyperkalcemie a hyperfosfatemie. Jestli suplementace vitaminem D zlepšit přežívání pacientů s chronickým onemocněním ledvin je však zatím nejasné (60, 61).

Signifikantně nižší hladiny 25-hydroxyvitaminu D byly v našem souboru nalezeny u žen a diabetiků, což je ve shodě s nálezy jiných studií (58, 59, 62).

U pacientů s diabetem byly naměřeny také nižší hladiny intaktního parathormonu. Je známo, že diabetici v hemodialyzační léčbě mají často relativní hypoparatyreózu a nízký kostní obrat (63, 64, 65).

V hodnotách reziduální funkce ledvin (vypočtené podle vzorce MDRD před první hemodialýzou) byl nalezen statisticky významný rozdíl mezi skupinou žen a mužů a také skupinou nediabetiků a diabetiků. V kanadské multicentrické studii z roku 2010 nebyla nalezena souvislost mezi stupněm poklesu renální funkce a poklesem kostní minerální denzity (5). Statistická analýza dat našich pacientů rovněž neprokázala souvislost mezi hodnotami vypočtené glomerulární filtrace a kostní minerální denzity. Domníváme se tedy, že nálezy kostní minerální denzity v našem souboru nemohou být vysvětleny relativně malými rozdíly v reziduální funkci ledvin (tabulka 11) mezi sledovanými skupinami nemocných.

Denzitometrické vyšetření souboru prokázalo snížení kostní minerální denzity zvláště v oblasti krčku femuru, a v menším rozsahu také v oblasti celkového proximálního femuru. Naproti tomu v oblasti bederní páteře byly hodnoty *T*-skóre v normálním rozpětí a hodnoty *Z*-skóre byly dokonce nad průměrem pro příslušný věk a pohlaví. Metaanalýza denzitometrických studií publikovaná v doporučeních KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) ukázala, že při DXA



vyšetření v oblastech s větším podílem kortikální kosti (proximální femur, předloktí, celotělové měření) byly zjištěné hodnoty Z-skóre přibližně v rozsahu od -0.5 do -1.0 směrodatné odchylky. V oblasti bederní páteře se ale hodnoty Z-skóre blížily průměrným hodnotám u populace bez chronického onemocnění ledvin (směrodatná odchylka Z-skóre se pohybovala kolem nulové hodnoty) (7). Rozdíly v kostní minerální denzitě mezi vyšetřovanými oblastmi mohou mít několik příčin. Parathormon působí anabolicky na trabekulární kost a katabolicky na kost kortikální. Protože v oblasti proximálního femuru je podíl kortikální kosti větší než v bederní páteři, může být vliv hyperparatyreózy na nálezy kostní denzitometrie v těchto oblastech skeletu odlišný. Navíc mohou být hodnoty kostní minerální denzity v oblasti bederní páteře často nadhodnoceny. Veškeré kalcium, které se nachází v cestě rentgenovému záření (degenerativní onemocnění meziobratlových plotének, osteofyty, osteoartritida s hyperostózou, aortální kalcifikace atd.) zapříčiní falešnou elevaci hodnot kostní minerální denzity (2, 49, 52, 66).

Nálezy nižší kostní minerální denzity a vysoké prevalence osteoporózy u žen jsou konzistentní s daty u obecné populace (67, 68). Ženské pohlaví negativně korelovalo s kostní minerální denzitou ve všech měřených oblastech skeletu. Několik studií u dialyzovaných pacientů referovalo o stejných nálezech (69, 70, 71, 72). Na druhé straně, některé jiné studie tuto korelaci nepotvrdily (73, 74, 75).

Mezi pacienty bez diabetu a s diabetem nebyly u sledovaného souboru nalezeny statisticky významné rozdíly v hodnotách kostní minerální denzity (vyjádřenými v  $\text{g/cm}^2$  a jako *T*-skóre) a v prevalenci osteoporózy. Jen v oblasti celkového proximálního femuru bylo Z-skóre (vyjádřené v %) signifikantně vyšší u diabetiků. Závěry studií v obecné populaci, které se zabývaly problematikou kostní minerální denzity u diabetiků, jsou nekonzistentní. Nicméně, recentní metaanalýza 15 studií zahrnující 3437 diabetiků a 19139 nediabetiků prokázala, že kostní minerální denzita u diabetiků 2. typu byla signifikantně vyšší v oblasti proximálního femuru a také v oblasti bederní páteře (76). Nálezy studií u dialyzovaných diabetiků jsou nejednotné: nižší kostní denzita u diabetiků (69, 77, 78, 79), žádný rozdíl mezi

nediabetiky a diabetiky (80), bez rozdílu v oblasti páteře, ale vyšší kostní minerální denzita předloktí u diabetiků (81).

Ve skupině pacientů nad 50 let věku byla nalezena vysoká prevalence hodnot *T*-skóre odpovídající definici osteoporózy. Studie obecné populace tohoto věku referují o nižší prevalenci osteoporózy: odhadovaná prevalence osteoporózy v Německu v roce 2003 byla 39% u žen a 9,7% u mužů (82), zatímco švédská data hovoří o prevalenci 21.2% u žen a 6.3% u mužů (83). Podle kanadského průzkumu z roku 2009, u 19% žen a 3% mužů ve věku nad 50 let byla diagnostikována osteoporóza (67). Prevalence nízké kostní minerální denzity je u pacientů s konečným selháním funkce ledvin zvýšená. Nemocní v pokročilejších stádiích onemocnění ledvin mají obdobné rizikové faktory pro rozvoj osteoporózy jako obecná populace a navíc jsou postiženi kostní chorobou v rámci chronického onemocnění ledvin (2, 56, 74, 84).

Hladiny vápníku pozitivně korelovaly s hodnotou kostní minerální denzity ve všech měřených oblastech skeletu. Dostupné studie u pacientů s chronickým onemocněním ledvin zmiňující vztah hladin vápníku a kostní minerální denzity tuto asociaci nenalezly (22, 73, 85, 86). Je nutno podotknout, že hladiny vápníku byly u souboru hodnoceného v této části práce měřeny jen po dobu tří měsíců před provedením denzitometrického vyšetření, a proto nemohou přesně odrážet dlouhodobý vliv hladin vápníku na kostní minerální denzitu.

Nalezená pozitivní asociace mezi věkem a kostní minerální denzitou bederní páteře může být vysvětlena změnami v této oblasti souvisejícími s věkem. Artefakty ovlivňující negativně přesnost měření denzity v této oblasti jsou u starší populace častější (2, 56).

Výsledky studie dále prokazují pozitivní korelaci mezi kostní minerální denzitou ve sledovaných oblastech proximálního femuru a hmotností nebo body mass indexem. Je známo, že nízká tělesná hmotnost je v obecné populaci rizikovým faktorem pro nízkou kostní minerální denzitu, a rovněž několik studií u pacientů s chronickým onemocněním ledvin prokázalo tuto souvislost (22, 87, 88, 89).

### **7.3. Sledování hladin biochemických markerů kostního metabolismu a změn kostní minerální denzity v průběhu hemodialyzační léčby**

#### 7.3.1. Demografická a biochemická data souboru sledovaného 1 rok

Z původního souboru 82 pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 5D, nově zařazených do hemodialyzační léčby, jen 42 pacientů ukončilo jednoroční sledování. Celkem 40 pacientů bylo vyřazeno ze souboru z těchto důvodů: 17 pacientů zemřelo, 8 bylo transplantováno a u 15 pacientů neproběhla všechna plánovaná vyšetření z důvodů zhoršení celkového zdravotního stavu, odmítnutí dalších vyšetření pacientem nebo změny hemodialyzačního střediska. Do závěrečného hodnocení bylo nakonec zařazeno jen 41 nemocných, jedna z pacientek byla vyřazena (jako jediná byla před menopauzou), její hladina estradiolu představovala v souboru výrazně odlehlou hodnotu (řádově 10 x vyšší než průměr ostatních). Pro konečné hodnocení byl tedy použit homogenní soubor žen, tvořený pouze ženami po menopauze.

Vstupní demografická data jsou uvedena v tabulce 16. Muži měli statisticky významně vyšší hmotnost a výšku, v BMI se však od žen významně neodlišovali. Demografické parametry nediabetiků a diabetiků byly bez významného rozdílu. Pouze 3 pacienti (7%) byli ve věku pod 50 let, ostatní byli starší. Většinu souboru tvořili muži (59%) a nediabetici (59%). Po roce sledování se průměrná hmotnost a BMI v celém souboru nevýznamně snížily na  $76.7 \pm 14.6$  kg, respektive  $26.9 \pm 4.5$  (výchozí hodnoty jsou uvedeny v tabulce 16). Při hodnocení statistických závislostí byla použita průměrná hodnota hmotnosti a BMI vypočtená z měření na počátku a konci sledování.

Průměrné hodnoty laboratorních parametrů z 5 měření provedených v odstupech 3 měsíců (kromě hliníku, který byl stanoven jednorázově), jsou uvedeny v tabulce 17. Stejně jako v souboru 82 pacientů na začátku hemodialyzační léčby, také u 41 nemocných v průběhu ročního sledování nacházíme signifikantně vyšší hladiny 25-hydroxyvitaminu D u mužů a nediabetiků, a vyšší hladiny estradiolu u mužů (všechny ženy v souboru byly po menopauze). Hladiny parathormonu jsou opět vyšší u nediabetiků, tentokrát ale rozdíl nedosahuje statistické významnosti.

TABULKA 16

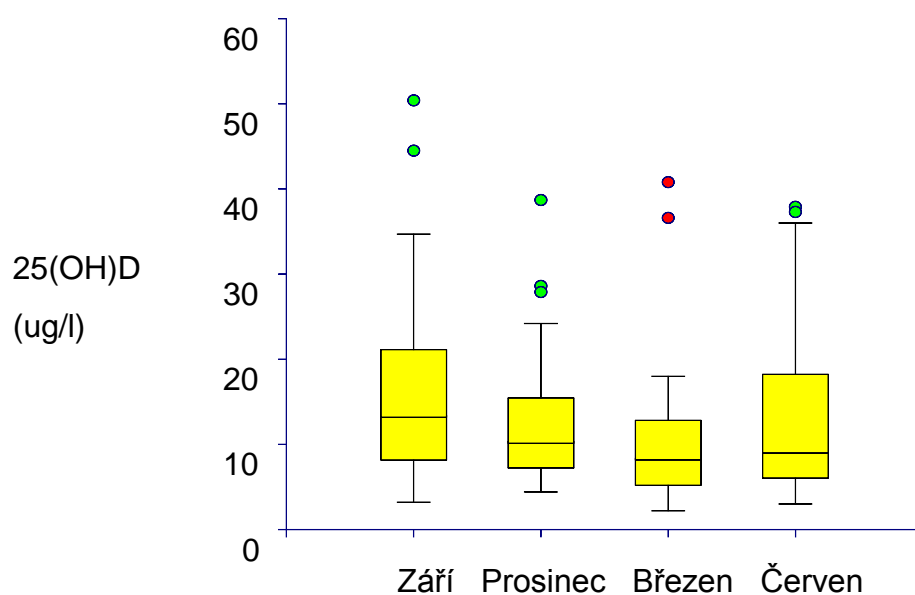
TABULKA 17

Těžký deficit 25-hydroxyvitaminu D (pod 5 ug/l) byl nalezen u 7% pacientů, střední deficit (od 5 do 16 ug/l) u 66 % a mírný deficit (od 16 do 30 ug/l) u 24% pacientů. Roční průměrná hodnota 25-hydroxyvitaminu D nad 30 ug/l byla naměřena jen u 2% pacientů.

Průměrné hladiny 25-hydroxyvitaminu D byly zřetelně odlišné v jednotlivých měsících, ve kterých se prováděly plánované odběry (graf 1):

Září	16.09 ± 10.22 ug/l
Prosinec	12.13 ± 7.47 ug/l
Březen	10.11 ± 7.95 ug/l
Červen	13.63 ± 9.92 ug/l

Graf 1. Hladiny vitaminu D v jednotlivých měsících odběrů.



Hladiny kalcidiolu se tedy měnily s ročním obdobím, nejvyšší hladiny byly naměřeny v září a nejnižší v březnu. Statistické zhodnocení významnosti rozdílu průměrných hladin vitaminu v jednotlivých měsících je uvedeno v tabulce 18.

Tabulka 18. Statistické zhodnocení významnosti rozdílu průměrných hladin vitamínu D v jednotlivých měsících.

	Září	Prosinec	Březen
Září			
Prosinec	0.0005		
Březen	0.0001	0.0021	
Červen	0.0016	NS	0.0003

Legenda: párové t-testy, Bonferoni metoda, rozdíl je významný, když  $p \leq 0.05/6 = 0.0083$ .

Nízké hladiny intaktního parathormonu (pod 16.5 pmol/l) byly naměřeny u 12% pacientů, střední (od 16.5 do 33.0 pmol/l) u 44% a vysoké hodnoty (nad 33.0 pmol/l) u 44% pacientů v souboru.

Statistické zhodnocení korelací hodnot intaktního parathormonu (iPTH), N-terminálního propeptidu prokolagenu typu I (PINP), tartrát rezistentní kyselé fosfatázy (BACP), kostního izoenzymu alkalické fosfatázy (BALP), C-terminálního telopeptid kolagenu I (CTx) a osteokalcinu prokázalo korelaci mezi hodnotami: iPTH - osteokalcin, PINP - CTx, PINP - osteokalcin, BACP - BALP (tabulka 19).

Tabulka 19. Spearmanovy korelační koeficienty pro parathormon a markery kostní novotvorby a resorpce.

	iPTH	PINP	BACP	BALP	CTx	Osteokalcin
PINP	0.2997					
<i>p</i>	0.0570					
BACP	-0.1732	-0.0478				
<i>p</i>	0.2853	0.7694				
BALP	-0.0681	0.1730	<b>0.4029</b>			
<i>p</i>	0.6724	0.2795	0.0100			
CTx	0.2216	<b>0.6077</b>	0.1229	0.2888		
<i>p</i>	0.1638	0.0001	0.4500	0.0671		
Osteokalcin	<b>0.4200</b>	<b>0.4638</b>	0.0355	-0.1746	0.2523	
<i>p</i>	0.0063	0.0023	0.8280	0.2748	0.1116	

### 7.3.2. Nálezky kostní denzitometrie souboru sledovaného 1 rok

Denzitometrické nálezky celého souboru 41 pacientů a také data pro skupinu žen, mužů, nediabetiků a diabetiků při 1. měření a 2. měření (po jednom roce) jsou uvedeny v tabulkách 20 a 21. Ženy měly signifikantně nižší kostní minerální denzitu v  $\text{g/cm}^2$  ve všech třech sledovaných oblastech skeletu při 1. měření, po roce pak jen v oblasti bederní páteře a celkovém proximálním femuru. Při 1. měření měly ženy nižší i hodnoty *T*-skóre, a to v oblasti celkového proximálního femuru, zatímco při 2. měření bylo *T*-skóre nižší v oblasti bederní páteře. Skupina diabetiků a nediabetiků se v hodnotách kostní minerální denzity významně nelišila při žádném z těchto dvou měření.



TABULKA 20

TABULKA 21

Přehledné srovnání nálezů kostní minerální denzity a statistické zhodnocení jejich změn v průběhu ročního sledování u celého souboru pacientů je uvedeno v tabulce 22. Ve všech třech oblastech měření došlo k statisticky významnému poklesu hodnocených parametrů, vyjma poklesu hodnoty BMD v g/cm<sup>2</sup> v oblasti bederní páteře, který nebyl statisticky signifikantní.

Tabulka 22. Nálezy kostní minerální denzity při 1. a 2. měření; **celý soubor.**

(N = 41)	BMD 1.	BMD 2.	<i>p</i>
<b>Bederní páteř</b>			
g/cm <sup>2</sup>	1.098 ± 0.165	1.092 ± 0.189	NS
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	- 0.009 ± 0.086	-
Δ BMD (%)	-	- 0.9 ± 7.3	-
<i>T</i> -skóre (SD)	-0.11 ± 1.42	-0.57 ± 1.51	0.0001
<i>T</i> -skóre (%)	98.8 ± 14.5	94.2 ± 15.3	0.0001
<i>Z</i> -skóre (SD)	0.95 ± 1.61	0.38 ± 1.61	0.0001
<i>Z</i> -skóre (%)	112.1 ± 20.4	105.0 ± 19.0	0.0001
<b>Krčec femuru</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.748 ± 0.125	0.726 ± 0.121	0.0446
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	-0.023 ± 0.069	-
Δ BMD (%)	-	- 2.7 ± 8.4	-
<i>T</i> -skóre (SD)	-2.00 ± 1.00	-2.34 ± 0.88	0.0004
<i>T</i> -skóre (%)	76.9 ± 11.7	71.9 ± 10.2	0.0001
<i>Z</i> -skóre (SD)	-0.36 ± 1.15	-0.85 ± 0.98	0.0001
<i>Z</i> -skóre (%)	95.3 ± 16.4	88.0 ± 14.2	0.0001
<b>Celkový proximální femur</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.875 ± 0.137	0.839 ± 0.137	0.0020
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	-0.036 ± 0.069	-
Δ BMD (%)	-	- 4.0 ± 7.2	-
<i>T</i> -skóre (SD)	-1.29 ± 0.91	-1.63 ± 0.93	0.0002
<i>T</i> -skóre (%)	84.2 ± 11.3	79.7 ± 11.7	0.0001
<i>Z</i> -skóre (SD)	-0.22 ± 1.07	-0.63 ± 1.05	0.0001
<i>Z</i> -skóre (%)	97.3 ± 15.4	91.5 ± 15.1	0.0001

Legenda: BMD, kostní minerální denzita;  $\Delta$  BMD, změna BMD mezi 1. a 2. měřením.

Data jsou uvedena jako průměry  $\pm$  SD; NS, bez statistické významnosti.

Tabulka 23 uvádí srovnání nálezů BMD při 1. a 2. měření u skupiny žen a mužů. U žen i mužů došlo k poklesu veškerých hodnocených parametrů kostní minerální denzity ve všech třech měřených oblastech. Tyto změny byly statisticky významné, s výjimkou absolutních hodnot BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) v oblasti bederní páteře a krčku femuru. Mezi skupinou žen a mužů nebyl nalezen významný rozdíl v poklesu BMD.

Situaci ve změnách BMD v průběhu roku při rozdělení souboru na nediabetyky a diabetiky ukazuje tabulka 24. Jak u nediabetiků, tak u diabetiků byl naměřen pokles hodnot kostní minerální denzity, který byl (vyjma hodnot BMD vyjádřených v  $\text{g}/\text{cm}^2$  v oblasti bederní páteře a krčku femuru) statisticky významný. Tento pokles BMD ale nebyl statisticky významně rozdílný mezi nediabetyky a diabetiky.

V tabulce 25 je uvedeno srovnání prevalence hodnot  $T$ -skóre odpovídající osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké kostní minerální denzitě při 1. a 2. měření BMD u celého sledovaného souboru. Nejvyšší prevalenci osteoporózy nacházíme při obou měřeních v oblasti krčku femuru, nejnižší pak v oblasti bederní páteře, kde byla zároveň nejčastěji naměřena abnormálně vysoká BMD. Ve všech měřených oblastech skeletu došlo ke zvýšení výskytu osteoporózy, v oblasti krčku femuru byla po roce sledování prevalence osteoporózy téměř dvojnásobná. Jak v oblasti krčku femuru, tak v oblasti bederní páteře byl tento nárůst statisticky významný.

TABULKA 23

TABULKA 24

Tabulka 25. Srovnání prevalence hodnot *T*-skóre odpovídajících osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD při **1.** a **2.** měření (po 1 roce); **celý soubor.**

Celý soubor ( <i>N</i> = 41)					
	BMD 1.		BMD 2.		McNemar
	<i>N</i>	%	<i>N</i>	%	<i>p</i>
<b>Bederní páteř</b>					
Osteoporóza	2	4.9	6	14.6	0.0455
Osteopenie	11	26.8	10	24.4	
Normální BMD	17	41.5	19	46.3	
Vysoká BMD	11	26.8	6	14.6	
<b>Krčec femuru</b>					
Osteoporóza	11	27.5	20	50.0	0.0027
Osteopenie	23	57.5	17	42.5	
Normální BMD	6	15.0	3	7.5	
Vysoká BMD	0	0	0	0	
<b>Celkový proximální femur</b>					
Osteoporóza	4	10.0	7	17.5	NS
Osteopenie	20	50.0	24	60.0	
Normální BMD	15	37.5	9	22.5	
Vysoká BMD	1	2.5	0	0	

Také po rozdělení souboru na ženy a muže nacházíme (u obou skupin) nejvyšší výskyt osteoporózy v oblasti krčku femuru a nejnižší v oblasti bederní páteře. Prevalence osteoporózy se po roce dále zvýšila ve všech oblastech měření jak u žen, tak u mužů (tabulka 26).

V tabulce 27, kde je soubor rozdělen na nediabetiky a diabetiky nacházíme obdobné nálezy, vyjma poklesu prevalence osteoporózy v oblasti krčku femuru u nediabetiků (u 1 pacienta se přesunula hodnota *T*-skóre při 2. měření do pásma osteopenie).

Signifikantní faktory ovlivňující změnu kostní minerální denzity v průběhu roku identifikované v modelech lineární závislosti jsou uvedeny v tabulce 28. Jako

nezávislé proměnné byly testovány faktory uvedené v tabulkách 16 a 17, včetně pohlaví a diabetu.

TABULKA 26



TABULKA 27

TABULKA 28

### 7.3.3. Demografická a biochemická data souboru sledovaného 2 roky

U souboru 41 pacientů, který ukončil jednoroční studii, pokračovalo sledování v následujícím roce. Rovněž v tomto období došlo k výrazné redukci počtu pacientů. Všechna plánovaná vyšetření, která měla být uskutečněna během dvouletého sledování, proběhla jen u 19 pacientů. Celkem 22 pacientů bylo vyřazeno ze souboru z těchto důvodů: 10 pacientů zemřelo, 5 bylo transplantováno a u 7 pacientů neproběhla všechna plánovaná vyšetření z důvodů zhoršení celkového zdravotního stavu, odmítnutí dalších vyšetření pacientem nebo změny hemodialyzačního střediska.

Demografická data souboru těchto 19 pacientů při zařazení do studie jsou uvedena v tabulce 29. Muži měli statisticky významně vyšší výšku, ve hmotnosti a BMI se však od žen významně neodlišovali. Demografické parametry nediabetiků a diabetiků byly bez významného rozdílu. Pouze 1 muž byl ve věku pod 50 let, všichni ostatní nemocní byli starší. V souboru převažovali muži (63%) a nediabetici (53%). Po dvou letech sledování se průměrná hmotnost a BMI v celém souboru nevýznamně snížily na  $77.6 \pm 12.0$  kg, respektive  $27.1 \pm 4.7$  (výchozí hodnoty jsou uvedeny v tabulce 29). Při hodnocení statistických závislostí byla použita průměrná hodnota hmotnosti a BMI vypočtená z měření na počátku a konci sledování.

Průměrné hodnoty laboratorních parametrů z 9 měření provedených v odstupech 3 měsíců, jsou uvedeny v tabulce 30. Hliník, jako jediný z parametrů, byl stanoven jen 1x ročně, v tabulce je tedy uveden průměr dvou měření. Stejně jako u souboru 82 pacientů na začátku hemodialyzační léčby a také souboru 41 nemocných sledovaného 1 rok, nacházíme u 19 pacientů sledovaných 2 roky signifikantně vyšší hladiny 25-hydroxyvitaminu D u nediabetiků a vyšší hladiny estradiolu u mužů (jak již bylo uvedeno, všechny pacientky byly po menopauze). Průměrná hodnota kalcidiolu byla u mužů oproti ženám opět vyšší, tento rozdíl však tentokrát nedosahoval statistické významnosti. Oproti předchozím měřením byly v tomto souboru s menším počtem nemocných zaznamenány signifikantně ( $p < 0.05$ ) vyšší hladiny kostní frakce kyselé fosfatázy (BACP) a kostní frakce alkalické fosfatázy (BALP) u žen a vyšší kalciumfosfátový součin u nediabetiků. Hladiny parathormonu byly u nediabetiků opět vyšší, rozdíl ale (stejně jako u souboru sledovaného jeden rok) nedosahoval statistické významnosti.

TABULKA 29

TABULKA 30

Těžký deficit 25-hydroxyvitaminu D (pod 5 ug/l) byl nalezen u 5% pacientů, střední deficit (od 5 do 16 ug/l) u 68 % a mírný deficit (od 16 do 30 ug/l) u 26% pacientů. Průměrnou dvouletou hodnotu 25-hydroxyvitaminu D nad 30 ug/l neměl nikdo z pacientů.

Průměrné hladiny 25-hydroxyvitaminu D byly v průběhu dvouletého měření (obdobně jako při ročním sledování) zřetelně odlišné v jednotlivých měsících, ve kterých se prováděly plánované odběry:

Září	17.14 ± 10.37 ug/l
Prosinec	13.36 ± 8.80 ug/l
Březen	10.35 ± 7.34 ug/l
Červen	14.46 ± 8.59 ug/l

Výše průměrné hodnoty 25-hydroxyvitaminu D opět souvisela s ročním obdobím, nejvyšší hodnota byla naměřena v září a nejnižší v březnu. Statistické zhodnocení významnosti rozdílů v jednotlivých měsících je uvedeno v tabulce 31.

Tabulka 31. Statistické zhodnocení významnosti rozdílů průměrných hladin vitaminu D v jednotlivých měsících.

	Září	Prosinec	Březen
Září			
Prosinec	0.0006		
Březen	0.0001	0.0021	
Červen	0.0017	NS	0.0010

Legenda: párové t-testy, Bonferoni metoda, rozdíl je významný, když  $p \leq 0.05/6 = 0.0083$ .

Nízké průměrné hladiny intaktního parathormonu (pod 16.5 pmol/l) byly naměřeny u 5% pacientů, střední (od 16.5 do 33.0 pmol/l) u 47% a vysoké hodnoty (nad 33.0 pmol/l) u 47% pacientů v souboru.

V tabulce 32 je uvedeno srovnání průměrných hodnot laboratorních nálezů v prvním a druhém roce měření. Hodnoty se statisticky významně mezi oběma roky nelišily, kromě hodnot osteokalcinu, který byl vyšší v druhém roce.

Tabulka 32. Srovnání průměrných hodnot laboratorních parametrů v 1. a 2. roce sledování.

	Celý soubor ( <i>N</i> = 19)		
	Rok 1.	Rok 2.	<i>p</i>
Hliník (ug/l)	7.5 ± 8.1	4.4 ± 1.9	NS
pH	7.34 ± 0.03	7.35 ± 0.04	NS
Estradiol (nmol/l)	0.055 ± 0.027	0.055 ± 0.023	NS
25(OH)D (ug/l)	13.9 ± 8.8	13.8 ± 8.4	NS
Ca (mmol/l)	2.25 ± 0.12	2.30 ± 0.15	NS
P (mmol/l)	1.91 ± 0.39	1.93 ± 0.33	NS
Albumin (g/l)	37.2 ± 3.8	38.0 ± 4.0	NS
CRP (mg/l)	10.1 ± 10.1	9.0 ± 13.0	NS
iPTH (pmol/l)	41.7 ± 44.2	44.5 ± 27.7	NS
P1NP (ug/l)	350.1 ± 331.3	405.6 ± 340.3	NS
BACP (nkat/l)	79.4 ± 38.0	71.6 ± 29.5	NS
BALP (ukat/l)	0.46 ± 0.20	0.44 ± 0.17	NS
CTx (ug/l))	1.72 ± 0.92	1.80 ± 0.96	NS
Osteokalcin (ug/l)	77.2 ± 65.7	149.2 ± 92.1	0.0003
Ca x P (mmol <sup>2</sup> /l <sup>2</sup> )	4.30 ± 0.88	4.43 ± 0.81	NS

Legenda: 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; CRP, C reaktivní protein; iPTH, intaktní parathormon; P1NP, N-terminální propeptid prokolagenu typu I; BACP, tartrát rezistentní kyselá fosfatáza; BALP, kostní alkalická fosfatáza; CTx, C-terminální telopeptid kolagenu typu I; Ca x P, kalciumfosfátový součin. Hliník byl stanoven 1x ročně, ostatní parametry stanoveny 1x za 3 měsíce. Data jsou uvedena jako průměry ± SD; NS, bez statistické významnosti.

#### 7.3.4. Nálezy kostní denzitometrie souboru sledovaného 2 roky

U tohoto souboru byly hodnoceny údaje o kostní minerální denzitě při zahájení hemodialyzační léčby (BMD 1.) a údaje zjištěné po dvou letech hemodialyzační léčby (BMD 3.). Denzitometrické nálezy pro celý soubor a také zvlášť pro skupinu žen, mužů, nediabetiků a diabetiků při 1. a 3. měření BMD jsou uvedeny v tabulkách 33 a 34.

TABULKA 33



TABULKA 34

Ženy měly signifikantně nižší kostní minerální denzitu (v  $\text{g}/\text{cm}^2$ ) v oblasti celkového proximálního femuru při 1. měření i při 3. měření za dva roky. Skupina žen měla také při 1. měření významně vyšší hodnoty Z-skóre v oblasti bederní páteře než muži, zatímco při 3. měření bylo Z-skóre mezi těmito skupinami bez signifikantního rozdílu. Skupina diabetiků a nediabetiků se v hodnotách kostní minerální denzity významně nelišila ani při jednom z měření.

Přehledné srovnání nálezů kostní minerální denzity a statistické zhodnocení jejich změn v průběhu dvouletého sledování u celého souboru pacientů je uvedeno v tabulce 35. Ve všech třech sledovaných oblastech skeletu došlo k statisticky významnému poklesu hodnocených parametrů, vyjma poklesu hodnoty BMD v  $\text{g}/\text{cm}^2$  v oblasti krčku femuru, který nebyl statisticky signifikantní.

Tabulka 36 uvádí srovnání nálezů BMD při 1. a 3. měření u skupiny žen a mužů. U žen i mužů došlo k poklesu veškerých hodnocených parametrů kostní minerální denzity ve všech třech měřených oblastech, tyto změny však nebyly u všech parametrů statisticky významné. Mezi skupinou žen a mužů nebyl nalezen významný rozdíl v poklesu BMD.

Situaci ve změnách BMD v průběhu dvou let při rozdělení souboru na nediabetiky a diabetiky ukazuje tabulka 37. Jak u nediabetiků, tak u diabetiků byl zaznamenán pokles všech hodnot kostní minerální denzity, tento pokles ale nebyl u všech parametrů statisticky významný. Rovněž rozdíl v poklesu BMD mezi skupinou nediabetiků a diabetiků nebyl statisticky významný.

Tabulka 35. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů sledovaného 2 roky při **1.** a **3.** měření (po 2 letech); **celý soubor.**

Celý soubor ( $N = 19$ )			
	BMD 1.	BMD 3.	$p$
<b>Bederní páteř</b>			
g/cm <sup>2</sup>	1.105 ± 0.138	1.049 ± 0.114	0.0139
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	- 0.051 ± 0.090	-
Δ BMD (%)	-	- 4.1 ± 7.9	-
$T$ -skóre (SD)	0.20 ± 1.07	-0.33 ± 1.20	0.0010
$T$ -skóre (%)	101.8 ± 10.9	96.7 ± 11.9	0.0012
$Z$ -skóre (SD)	1.43 ± 1.43	0.49 ± 1.27	0.0001
$Z$ -skóre (%)	118.4 ± 19.3	105.9 ± 13.8	0.0001
<b>Krček femuru</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.765 ± 0.138	0.734 ± 0.101	NS
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	- 0.021 ± 0.091	-
Δ BMD (%)	-	- 1.7 ± 12.2	-
$T$ -skóre (SD)	-1.77 ± 1.05	-2.26 ± 0.76	0.0175
$T$ -skóre (%)	80.2 ± 12.0	72.4 ± 8.6	0.0017
$Z$ -skóre (SD)	0.14 ± 1.09	-0.79 ± 0.73	0.0007
$Z$ -skóre (%)	102.7 ± 15.4	88.6 ± 10.4	0.0002
<b>Celkový proximální femur</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.912 ± 0.144	0.857 ± 0.122	0.0002
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	- 0.044 ± 0.088	-
Δ BMD (%)	-	- 4.3 ± 9.5	-
$T$ -skóre (SD)	-1.02 ± 0.91	-1.53 ± 0.78	0.0043
$T$ -skóre (%)	87.6 ± 11.3	80.8 ± 9.7	0.0028
$Z$ -skóre (SD)	0.22 ± 1.05	-0.53 ± 0.81	0.0003
$Z$ -skóre (%)	103.9 ± 15.1	92.7 ± 11.9	0.0001

Legenda: BMD, kostní minerální denzita; Δ BMD, změna BMD mezi 1. a 3. měřením.

Data jsou uvedena jako průměry ± SD; NS, bez statistické významnosti.

TABULKA 36

TABULKA 37

V tabulce 38 je uvedeno srovnání prevalence hodnot *T*-skóre odpovídající osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké kostní minerální denzity při 1. a 3. měření u celého sledovaného souboru. Nejvyšší prevalenci osteoporózy nacházíme při obou měřeních v oblasti krčku femuru, nejnižší pak v oblasti bederní páteře, kde byla zároveň nejčastěji naměřena abnormálně vysoká BMD. Ve všech měřených oblastech skeletu došlo ke zvýšení výskytu osteoporózy a v oblasti krčku femuru byl tento nárůst statisticky významný. Prevalence osteoporózy v oblasti krčku femuru byla po dvou letech sledování téměř trojnásobná.

Tabulka 38. Prevalence hodnot *T*-skóre odpovídající osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD u souboru při 1. a 3. měření (po 2 letech); **celý soubor.**

	BMD 1.		BMD 3.		McNemar
	<i>N</i>	%	<i>N</i>	%	<i>p</i>
Celý soubor (N = 19)					
Bederní páteř					
Osteoporóza	0	0	1	5.3	NS
Osteopenie	3	15.8	4	21.1	
Normální BMD	10	52.6	11	57.9	
Vysoká BMD	6	31.6	3	15.8	
Krček femuru					
Osteoporóza	4	21.1	11	57.9	0.0082
Osteopenie	12	63.2	7	36.8	
Normální BMD	3	15.8	1	5.3	
Vysoká BMD	0	0	0	0	
Celkový proximální femur					
Osteoporóza	1	5.3	4	21.1	NS
Osteopenie	8	42.1	11	57.9	
Normální BMD	9	47.4	4	21.1	
Vysoká BMD	1	5.3	0	0	

Legenda: Osteoporóza = *T*-score SD -2.5 a nižší; Osteopenie = *T*-score SD mezi -1.0 and -2.5; BMD, kostní minerální denzita; Vysoká BMD, *T*-score SD nad 1; NS, bez statistické významnosti.

Také po rozdělení souboru na skupinu žen, mužů, nediabetiků a diabetiků (tabulky 39 a 40) je patrná nejvyšší prevalence osteoporózy v oblasti krčku femuru a nejnižší v oblasti bederní páteře. Výskyt osteoporózy se po dvou letech zvýšil v obou měřených oblastech femuru a to u všech skupin pacientů. Přestože v oblasti bederní páteře nedošlo u všech skupin pacientů ke zvýšení prevalence osteoporózy, je zřejmý posun nálezů *T*-skóre z normálních či vysokých hodnot do pásma osteoporózy nebo osteopenie.

TABULKA 39



TABULKA 40

### 7.3.5. Diskuze

Deficit 25-hydroxyvitaminu D, zjištěný u souboru pacientů na začátku hemodialyzační léčby, byl nalezen i u souborů pacientů sledovaných po dobu jednoho, respektive dvou roků. Průměrné hodnoty kalcidiolu i prevalence stupňů závažnosti deficitu vitaminu byly u všech hodnocených souborů obdobné. Průměrné hodnoty 25-hydroxyvitaminu D byly nízké ve všech měsících, ve kterých se prováděly plánované odběry (září, prosinec, březen, červen) s maximálním poklesem v březnu. Tento pokles odpovídá nedostatečné tvorbě prekursoru kalcidiolu, tedy cholekalciferolu v kůži při menší expozici slunečnímu záření během zimních měsíců. Naopak nejvyšší hladiny 25-hydroxyvitaminu D byly naměřeny v září, tedy po období s předpokládanou největší expozicí nemocných slunečnímu záření. Deficit kalcidiolu s jeho prohloubením v zimním období je častým nálezem v běžné populaci a také u hemodialyzovaných nemocných (90, 91, 92, 93). Nález nižších hladin 25-hydroxyvitaminu D u žen a diabetiků je, jak již bylo dříve komentováno, ve shodě s nálezy jiných studií (58, 59, 62).

Průměrné hodnoty intaktního parathormonu byly u souboru pacientů při zahájení hemodialyzační léčby a souboru pacientů sledovaného 1 rok téměř stejné. Hodnoty iPTH u souboru pacientů sledovaného 2 roky byly přibližně o čtvrtinu vyšší, v první a druhém roce sledování se ale významně nelišily. Sekundární hyperparatyreóza a zvýšené hladiny parathormonu jsou zjizitelné již u nemocných s mírnou poruchou renální funkce (94). Hyperparatyreóza vede ke zvýšení kostního obratu, fibróze v kostní dřeni a abnormální mineralizaci, tedy k rozvoji obrazu osteitis fibrosa nebo smíšené kostní choroby. Těžká hyperparatyreóza může vést k pruritu, ke zhoršení renálních funkcí zapříčiněné hyperkalcemií, kalcifylaxi, kardiovaskulárním postižení, neuromuskulárním poruchám a smrti (7). Hladiny parathormonu nad 400 až 600 pg/ml (43-64 pmol/l) jsou dle observačních studií asociovány se zvýšenou mortalitou (17). Terapie sekundární HPT dnes zahrnuje: suplementaci kalcia perorálně a zvýšení koncentrace kalcia v dialyzačním roztoku ke zvýšení sérové hladiny kalcia, podávání vitaminu D (kalcitriol nebo jeho analoga), paratyreoidektomii a v poslední době použití kalcimimetik (7). Vitamin D a jeho analoga působí v příštítných tělískách na receptory pro vitamin D a snižují tvorbu parathormonu, kalcimimetika pak působí na receptory pro kalcium a snižují jeho

sekreci (20). Pokud je ale hladina parathormonu neadekvátně nízká, může to vést ke snížení kostního obratu a rozvoji adynamické kostní choroby (7). Starší doporučení KDOQI z roku 2003 doporučovala u dialyzovaných pacientů udržovat hladinu PTH v rozpětí 150-300 pg/ml (16-32 pmol/l). Doporučení KDIGO z roku 2009, která vzala do úvahy nekonzistenci bioptických nálezů u pacientů s hladinami PTH v rozmezí 150-300 pg/ml a výše zmíněný vztah mezi mortalitou a hladinami PTH, navrhuje udržovat hladiny PTH v rozpětí od dvojnásobku do devítinásobku normálních hodnot (17), tedy od 125 do 575 pg/ml (14-61 pmol/l). Je nutné podotknout, že léčebná strategie se nemůže opírat o jednotlivou laboratorní hodnotu, ale o vývoj laboratorních ukazatelů v čase, tedy o dynamiku změn. Každá výchylka sérové koncentrace PTH o více než 100 pg/ml je důvodem k přehodnocení léčebné strategie (96).

Závislost kostní minerální denzity na laboratorních parametrech byla u pacientů s chronickým onemocněním ledvin zkoumána v několika studiích s nejednotnými nálezy: hodnoty BMD v oblasti distálního předloktí a kyčle jsou vyšší u pacientů s PTH v rozpětí 120 až 250 pg/ml než u pacientů s vyššími či nižšími hodnotami PTH (77); hodnoty parametrů kostního obratu (osteokalcinu, kostní frakce kyselé fosfatázy, karboxy terminálního telopeptidu kolagenu typu 1, karboxy terminálního propeptidu kolagenu typu 1) se zvyšují s pokročilostí CKD a korelují pozitivně s iPTH a negativně s hodnotami BMD (3); nebyla nalezena statisticky významná závislost mezi hodnotami kostní denzity a iPTH, Ca, P (97); u pacientů na peritoneální dialýze není korelace mezi markery kostního obratu a BMD, vyjma pacientů s BMD v oblasti osteoporotických hodnot (T-score pod -2.5), kteří měli vyšší hladiny parathormonu (98); intaktní parathormon, CAP (whole) parathormon a kostní frakce alkalické fosfatázy negativně korelují s BMD vyjádřené jako Z-skóre ve všech vyšetřovaných oblastech hemodialyzovaných pacientů (37).

V našem souboru nalezená pozitivní asociace mezi hodnotou albuminu a *poklesem* kostní minerální denzity v oblasti bederní páteře je obtížně interpretovatelná. Podle závěrů studií z dostupné literatury buď asociace mezi albuminem a hodnotou BMD nebyla nalezena (99, 100), nebo byla nalezena závislost pozitivní (101, 103, 105, 106, 107, 108).

Neméně diskutabilní je zjištěná negativní závislost mezi hladinou intaktního parathormonu a *poklesem* kostní minerální denzity jak v oblasti bederní páteře, tak krčku femuru. V předchozí studii provedené na našem pracovišti nebyla závislost kostní minerální denzity na hladině iPTH prokázána (109). Ott v přehledovém článku uvádí, že žádná ze studií zkoumajících vztah kostní minerální denzity a hladiny parathormonu nenalezla pozitivní vztah mezi těmito parametry, závislost BMD na hladině parathormonu byla buď nesignifikantní, nebo inverzní (52). Sérové hladiny iPTH nicméně nepredikují přesně kostní obrat, zvláště v oblasti středních a nízkých hodnot parathormonu. Zvýšené hladiny iPTH mohou být nalezeny u všech forem renální osteodystrofie, včetně nízkoobratové formy (95). Navíc jak u vysokého, tak u nízkého kostního obratu lze v principu nalézt dvě skupiny nemocných – nemocné s nízkou kostní denzitou a s normální nebo vysokou kostní denzitou (94). Je třeba si také uvědomit, že jak populace nemocných, tak metody měření kostní minerální denzity a hladin parathormonu jsou rozdílné v různých studiích a tak lze vysvětlit, alespoň částečně, některá konfliktní data (95).

Další z nalezených závislostí byla pozitivní asociace mezi hodnotou osteokalcinu a *poklesem* kostní minerální denzity v oblasti bederní páteře i v oblasti krčku femuru. Závěry jiných studií hodnotících tuto závislost jsou nejednotné (3, 106). Osteokalcin má u pacientů s poškozenou funkcí ledvin a u pacientů v hemodialyzační léčbě omezený význam ke zhodnocení stupně kostní remodelace (30). Význam hodnocení osteokalcinu v kontextu CKD-MBD je limitováno z několika důvodů. Za prvé: osteokalcin je v plasmě uremických pacientů retinován. Za druhé: v plasmě nacházíme minimálně tři formy intaktního osteokalcinu, takže naměřená koncentrace závisí na typu použité protilátky. Za třetí: intaktní molekula je velmi rychle degradována při pokojové teplotě. Dalším problémem je obtížná srovnatelnost diagnostických souprav různých výrobců (25, 30). V průběhu studie došlo na našem oddělení klinické biochemie ke změně metodiky stanovení osteokalcinu. Výpovědní hodnota nalezené závislosti mezi hodnotou osteokalcinu a změnou BMD (stejně jako význam rozdílu hodnot osteokalcinu v prvním a druhém roce sledování) je tak mimo jiné limitována z tohoto důvodu.

Nalezené korelace mezi sérovými markery kostní osteoformace a osteoresorpce, hodnocené u souboru pacientů sledovaných jeden rok, jsou uváděny i jinými autory (3, 30, 36, 110, 111).

Druhé i třetí denzitometrické vyšetření prokázalo pokles kostní minerální denzity ve všech sledovaných oblastech skeletu. Největší pokles BMD byl zaznamenán v oblasti celkového proximálního femuru, kde se u souboru nemocných sledovaných jeden rok snížila BMD o 4.0%. U souboru nemocných sledovaných dva roky byl průměrný roční pokles nižší (2.15%). Studie provedené v obecné populaci uvádějí roční pokles kostní minerální denzity mezi 1-2% u postmenopauzálních žen a 0.3-0.4 % u starších mužů (112, 113, 114, 115). O populaci hemodialyzovaných nemocných není v tomto směru příliš informací. Ve studii u japonských pacientů byl naměřen roční pokles BMD v oblasti celkového proximálního femuru přes 1% (116). Ve studii u 39 pacientů s průměrnou dobou dialyzační léčby přes 2 roky, provedené na našem pracovišti, bylo zjištěno snížení BMD v této oblasti skeletu o 4% za rok (109). Recentní studie u 80 hemodialyzovaných pacientů prokázala pokles BMD za 18 měsíců v oblasti krčku femuru o 12% a v oblasti bederní páteře o 2%, přičemž tento pokles BMD byl ve srovnání s kontrolní skupinou 60 pacientů s glomerulární filtrací nad 1 ml/sec/1.73 m<sup>2</sup> signifikantně vyšší (101).

Prevalence hodnot T-skóre v pásmu osteoporózy se při dalším sledování v souladu s poklesem kostní minerální denzity zvýšila. U souboru pacientů sledovaných 1 rok došlo ke zvýšení prevalence osteoporózy téměř na dvojnásobek, u pacientů sledovaných 2 roky pak téměř na trojnásobek. Avramovski uvádí nárůst prevalence osteoporózy během 18-měsíčního sledování hemodialyzovaných pacientů z 15% na 30% (101). Většina studií zabývajících se problematikou kostní minerální denzity byla průřezovými studii, takže k dispozici jsou jen data z jednorázových měření. Prevalence osteoporózy u hemodialyzovaných nemocných je v různých lokalizacích uváděna v rozpětí od 10 do 50% (99, 102, 103, 104), studie jsou však obtížně srovnatelné, již z důvodu rozdílného průměrného věku pacientů.

Denzitometrický nález u dialyzovaných pacientů nelze interpretovat v klasickém pojetí a postupy užívané v léčbě osteoporózy u osob bez onemocnění ledvin jsou rozdílné (20).

Praktickým využitím stanovení kostní minerální denzity v obecné populaci je odhad rizika fraktur vedoucí v indikovaných případech k terapeutické aktivitě, s následným monitorováním pomocí kontrolních měření BMD. Riziko fraktur lze v obecné populaci poměrně dobře odhadnout na podkladě měření BMD, případně bez jejího stanovení například pomocí modelu FRAX<sup>®</sup> - WHO Fracture Risk Assessment Tool (117). Při hodnocení FRAX<sup>®</sup> se on-line zadávají: hodnota kostní minerální denzity (pokud je známa), věk, pohlaví, hmotnost, výška, údaj o prodělané fraktuře, výskytu fraktury kyčle v rodinné anamnéze, údaj o aktuálním kouření, užívání glukokortikoidů, diagnóze revmatoidní artritidy či jiné příčině sekundární osteoporózy a větší konzumaci alkoholu. Na podkladě stanovení rizika fraktur se individuálně stanoví, zda je odůvodněný terapeutický zásah. V léčbě dle aktuálních doporučení lze použít (s přihlédnutím k lokalitě nejzávažnějšího poklesu BMD či předchozí osteoporotické fraktury) především bisfosfonáty, dále pak denosumab, stroncium ranelát, raloxifen, teriparatide či rekombinantní parathormon vždy v kombinaci s kalcielem a vitamínem D. K dalším terapeutickým možnostem patří podávání kalcitriolu a hormonální substituční terapie (47).

U pacientů s chronickým onemocněním ledvin je situace v hodnocení změn kostní minerální denzity, stanovení rizika fraktur i léčebných možnostech podstatně méně přehledná. Fraktury kostí jsou u dialyzovaných pacientů časté. Dle dat z USA je u dialyzovaných při srovnání s běžnou populací 4,4 krát vyšší výskyt fraktury krčku femuru (118). Fraktury vznikají tehdy, pokud mechanická síla převyší pevnost kosti. Pevnost kosti je dána více faktory, ke kterým patří velikost kosti a směřování její osy, porozita, mikroarchitektura a materiálové vlastnosti, tj. mineralizace. Stanovením kostní denzity pomocí DXA měříme jen jeden aspekt pevnosti kosti (mineralizaci) a měření nezohledňuje jiné aspekty. Rozsah kostního postižení u hemodialyzovaných pacientů tedy není stanovením BMD přesně ohodnocen. Dalším problémem vyšetření pomocí DXA je skutečnost, že stanovuje denzitu všeho, co leží ve směru paprsku, takže měření může být ovlivněno např. kalcifikacemi měkkých tkání. Navíc DXA měření není schopno rozlišit kortikální a trabekulární kost. U pacientů se sekundární hyperparatyreózou je postižena především kost kortikální, což denzitometricky nelze rozlišit. Oblasti skeletu používané ke stanovení BMD mají odlišný poměr kortikální a trabekulární kosti. Udává se, že v obratlovém těle je 50-

58% kortikální kosti, v oblasti proximálního femuru 60-75% a v oblasti distálního radia 90-95% kortikální kosti (2, 6, 9, 52). Teoreticky bychom tedy očekávali u hemodialyzovaných pacientů větší postižení femuru než páteře a toto bylo také pozorováno u našeho souboru. Oblast předloktí nebyla v naší studii hodnocena, ale pokud se u hemodialyzovaných pacientů měří, lze očekávat nejnižší hodnoty (37, 119).

Nálezy korelací hodnot kostní minerální denzity k riziku fraktur u CKD populace jsou nekonzistentní. Několik studií sice prokázalo prediktivní hodnotu pro vznik fraktury při měření BMD v oblasti distálního předloktí, bylo by však naivní domnívat se, že samotné vyšetření DXA může postihnout všechny faktory spojené s kostní fragilitou u dialyzační populace (14). Většina studií u dialyzovaných pacientů neprokázala rozdíly v BMD naměřené v oblasti femuru a bederní páteře mezi pacienty s frakturami a bez fraktur. Nicméně kostní denzita distálního předloktí nebo celotělová byla často nižší u pacientů se zlomeninami (52). Doporučení KDIGO uvádějí, že u pacientů ve stadiích CKD 3-5 nálezy kostní denzitometrie nepredikují riziko fraktur, tak jak je tomu u obecné populace (7).

Závažným problémem klinické praxe je rozhodnutí, zda CKD pacienty se sníženou kostní minerální denzitou do pásma osteoporózy (zvláště při výskytu fraktur) léčit stejně jako osteoporotické pacienty s normální funkcí ledvin. U pacientů ve stadiu CKD 1-3 lze při absenci biochemických abnormalit upozorňujících na CKD-MBD osteoporózu diagnostikovat podle běžných doporučení a použít standardní farmakologickou léčbu. Rozlišení mezi osteoporózou a CKD-MBD se stává obtížnější u CKD ve stadiích 4-5. U pacientů s frakturami lze farmakologickou léčbu zvážit na podkladě biochemických známek kostního obratu a případně provést kostní biopsii (8). Je třeba mít na zřeteli, že většina farmak používaných k léčbě osteoporózy může vést k poklesu kostního obratu a rozvoji adynamické kostní choroby. Taková terapie může ve svém konečném důsledku vést ke zvýšení četnosti fraktur a způsobit progresi cévních kalcifikací (9).

#### **7.4. Zhodnocení senzitivity kostí k účinkům PTH u skupiny postmenopauzálních žen a skupiny mužů**

Při léčbě sekundární hyperparatyreózy u pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu V. (GFR pod 0,25 ml/sec/1,73m<sup>2</sup> nebo dialyzační léčba) jsou navrhovány, dle nejnovějších doporučení KDIGO, jako optimální cílové hladiny parathormonu v rozpětí od dvojnásobku do devítinásobku normálních hodnot, tedy od 125 do 575 pg/ml, tj. asi 14-61 pmol/l (7). Uvádí se, že nízká hladina estrogenů zvyšuje citlivost kostí k účinku parathormonu (120, 121, 122). Dá se tedy předpokládat, že pro postmenopauzální ženy s chronickým onemocněním ledvin by měly být cílové hladiny parathormonu nižší než pro ženy před menopauzou a muže.

V této části disertační práce mělo být na našem souboru nemocných ověřeno, zda je senzitivita kostí k účinku parathormonu rozdílná mezi soubory pacientů s odlišnými hladinami estradiolu. Při stejných hodnotách PTH by se měla zvýšená senzitivita kostí u pacientů s nízkou hladinou estradiolu projevit vyššími sérovými hodnotami markerů kostního obratu a nižšími hodnotami kostní minerální denzity. Původním záměrem bylo po dobu jednoho roku shromažďovat a poté zhodnotit data u souboru žen před menopauzou a souboru žen po menopauze. Přesto, že zařazování pacientů do studie probíhalo několik let, nepodařilo se shromáždit dostatek dat od mladších pacientek před menopauzou. Do chronické hemodialyzační léčby bylo na našem pracovišti zařazováno 20-25 pacientů ročně, z toho však jen velmi malou část tvořily mladší ženy před menopauzou. Navíc byly pacientky této skupiny poměrně často záhy transplantovány a u několika z nich bylo sledování ukončeno pro změnu bydliště. Vzhledem k malému souboru žen před menopauzou bylo rozhodnuto použít jako kontrolní skupinu soubor mužů. Průměrná hladina estradiolu při ročním sledování byla u mužů  $0.068 \pm 0.031$  nmol/l, u postmenopauzálních žen pak  $0.032 \pm 0.018$  nmol/l. Rozdíl v hladinách estradiolu byl statisticky jednoznačně významný ( $p < 0.0001$ ). Při dalším zpracování dat a statistickém zhodnocení však nebyla nalezena ani u jednoho se souborů pacientů významná korelace mezi hodnotami intaktního parathormonu a sérovými markery kostního obratu (PINP, BACP, BALP, CTx) a také hodnotami kostní minerální denzity. Výjimkou byla korelace mezi iPTH a osteokalcinem, k tomuto nálezu je však (jak již bylo zmíněno dříve) zapotřebí



přistupovat obezřetně, především z důvodu změny laboratorní metodiky v průběhu studie.

Je tedy nutno konstatovat, že se vzhledem k výše uvedeným skutečnostem nepodařilo v této části práce dospět k interpretovatelným závěrům.

## **7.5. Zhodnocení změn biochemických parametrů, nutrice a kostní minerální denzity po transplantaci ledviny**

### 7.5.1. Úvod

Jen asi polovina z původního souboru 82 nově hemodialyzovaných pacientů dokončila první rok sledování a přibližně čtvrtina zůstala ve studii po celé dva roky. Jednou z příčin vyřazení nemocných ze studie byla transplantace ledviny. Dalším cílem disertační práce bylo zhodnocení vývoje biochemických nálezů, nutrice a kostní minerální denzity u souboru pacientů za období jednoho roku po transplantaci.

### 7.5.2. Demografická, biochemická a denzitometrická data souboru

Retrospektivně byla zpracována data o vývoji nálezů u 12 transplantovaných pacientů. Soubor tvořilo 5 žen a 7 mužů, přičemž 1 žena a 2 muži byli diabetici druhého typu. Další demografické údaje a laboratorní nálezy jsou uvedeny v tabulce 41. Jako *Měření 1* jsou označeny hodnoty před transplantací, *Měření 2* jsou hodnoty z období od jednoho do tří měsíců po transplantaci a *Měření 3* jsou hodnoty z doby jednoho roku od transplantace ledviny. Hmotnost nemocných i BMI se po roce od transplantace signifikantně zvýšili o 3.4% respektive 3.2%. Počet pacientů s diabetem se však v potransplantačním období nezměnil. Průměrná hodnota albuminu se po transplantaci zvyšovala a toto zvýšení bylo po roce od transplantace statisticky signifikantní. Po operaci došlo pochopitelně k významnému zlepšení hodnot kreatininu a vypočtené glomerulární filtrace, ale v období mezi 2. a 3. měřeními se již tyto hodnoty zlepšily jen statisticky nevýznamně. Hladiny 25-hydroxyvitaminu D krátce po transplantaci signifikantně poklesly a v dalším období opět vystoupily na přibližně stejné hodnoty jako před výkonem. Průměrná hladina sérového vápníku se významně zvýšila při měření po roce, zatímco hladina fosfátů

významně poklesla a to nejvýrazněji v období 1-3 měsíců po transplantaci, kdy se průměrná hodnota fosfátů snížila do pásma lehké hypofosfatemie. Zřetelný pokles fosfátů pak způsobil obdobné změny u hodnot kalciumfosfátového součinu. Průměrná hladina C-reaktivního proteinu se nijak významně neměnila. Zvýšená hladina intaktního parathormonu se postupně snižovala, pokles byl po roce statisticky významný, průměrná hladina iPTH ale přesto zůstala lehce nad normální hodnotou.

Měření kostní minerální denzity proběhlo po transplantaci a následně po jednom roce (tabulka 42). V oblasti bederní páteře došlo k nárůstu hodnot BMD a v oblastech krčku femuru a celkového proximálního femuru naopak k poklesu. Všechny uvedené změny však byly statisticky nevýznamné.

TABULKA 41

Tabulka 42. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů po transplantaci ledviny při 1. a 2. měření (po 1 roce).

Celý soubor ( $N = 12$ )			
	BMD 1.	BMD 2.	$p$
<b>Bederní páteř</b>			
g/cm <sup>2</sup>	1.080 ± 0.224	1.101 ± 0.208	NS
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	0.020 ± 0.055	-
Δ BMD (%)	-	2.2 ± 5.4	-
$T$ -skóre (SD)	-1.02 ± 1.66	-0.82 ± 1.52	NS
$T$ -skóre (%)	89.8 ± 16.7	91.6 ± 15.3	NS
$Z$ -skóre (SD)	-0.78 ± 1.36	-0.52 ± 1.26	NS
$Z$ -skóre (%)	91.6 ± 13.7	94.3 ± 12.8	NS
<b>Krček femuru</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.864 ± 0.193	0.838 ± 0.170	NS
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	-0.026 ± 0.066	-
Δ BMD (%)	-	- 2.4 ± 7.8	-
$T$ -skóre (SD)	-1.42 ± 1.35	-1.60 ± 1.18	NS
$T$ -skóre (%)	81.6 ± 17.5	79.4 ± 15.3	NS
$Z$ -skóre (SD)	-0.74 ± 1.14	-0.89 ± 0.97	NS
$Z$ -skóre (%)	89.0 ± 15.7	87.2 ± 13.6	NS
<b>Celkový proximální femur</b>			
g/cm <sup>2</sup>	0.934 ± 0.207	0.901 ± 0.199	NS
Δ BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-	-0.032 ± 0.066	-
Δ BMD (%)	-	- 3.2 ± 7.4	-
$T$ -skóre (SD)	-0.99 ± 1.30	-1.19 ± 1.25	NS
$T$ -skóre (%)	87.5 ± 16.9	84.8 ± 16.0	NS
$Z$ -skóre (SD)	-0.62 ± 1.04	-0.78 ± 0.96	NS
$Z$ -skóre (%)	91.3 ± 13.9	89.2 ± 13.6	NS

Legenda: BMD, kostní minerální denzita; Δ BMD, změna BMD mezi 1. a 2. měřením. Data jsou uvedena jako průměry ± SD; NS, bez statistické významnosti.

### 7.5.3. Diskuze

Průměrný věk v souboru transplantovaných pacientů byl přibližně o 15 let nižší než u pacientů nově vstupujících do hemodialyzační léčby. Je to pochopitelné, protože se stoupajícím věkem se zvyšuje počet nemocných, u kterých je transplantační výkon kontraindikován z důvodů přidružených onemocnění. Na našem pracovišti se dlouhodobě pohybuje počet pacientů schopných transplantace mezi 10-20 procenty z celkového počtu hemodialyzovaných.

Po transplantaci, v závislosti na předtransplantačním stavu pacienta, funkci transplantované ledviny a použité imunosupresivní léčbě může dojít k celé řadě komplikací, jde především o obezitu, hyperglykémii a diabetes, hyperlipidemii, hyperkalemii, hypertenzi, malnutrici a kostní chorobu. Tyto odchylky často souvisejí s výživou a jsou ovlivnitelné její úpravou (123). Potransplantační kostní nemoc vzniká vždy kombinací dvou složek, jednak přetrvávají problémy kalcium-fosfátového metabolismu z období orgánového selhání a na druhé straně vznikají po transplantaci poruchy nové (124).

Zvýšení tělesné hmotnosti a BMI je u pacientů po transplantaci ledviny obvyklým nálezem (125, 126, 127). V našem souboru došlo ke zvýšení hmotnosti o 3.4% za rok, jiná studie uvádí zvýšení o 10% v prvním roce po transplantaci (128). Nárůst tělesné hmotnosti a úpravu nutričních markerů, včetně hodnot albuminu, můžeme pozorovat již v prvním roce po transplantaci (129). Tyto změny jsou známkami zlepšené chuti k jídlu a odeznění uremického stavu. Nicméně, alespoň v časném období po transplantaci, je zvýšení tělesné hmotnosti způsobené především zmnožením tukové tkáně. Tento fenomén může být částečně zapříčiněn relativně vysokými dávkami kortikosteroidů v tomto potransplantačním období, ale zdá se, že souvisí také se sníženou fyzickou aktivitou (127). Prevalence obezity transplantovaných je vysoká a je často sdružena s dalšími metabolickými komplikacemi (130).

Nalezený pokles 25-hydroxyvitaminu D v období 1-3 měsíců po transplantaci je vysvětlitelný sníženou expozicí slunečnímu záření v časném potransplantačním období (žádný z pacientů nebyl suplementován nativním vitaminem D). Stoupající hodnota kalcemie a hyperkalcemie je po transplantaci častá. Hyperkalcemie nad 2.6 mmol/l se nachází u 8.5-65% pacientů (131). Na její patogenezi se může podílet

mimo perzistující hyperparatyreózu uvolňování kalcia z mimokostních kalcifikací, hypofosfatemie, redukce vysokých dávek glukokortikoidů a prolongované podávání vitamínu D. Hyperkalcemie po transplantaci může být také projevem nízkoobratové osteopatie v důsledku poruchy zabudovávání kalcia do skeletu (132). Po úspěšné transplantaci ledviny dochází zpravidla k normalizaci faktorů přispívajících ke vzniku hyperparatyreózy, ne vždy se však upraví hyperparatyreóza sama. Je-li proces pokročilý, a ve tkáni příštítných tělísek došlo ke vzniku uzlů nereagujících na zpětnovazebné mechanismy i přes úplnou normalizaci funkce štěpu, mluvíme o terciární hyperparatyreóze. Parathormon sice u nemocných v prvních 3-6 měsících klesá, ale k úplné úpravě nedochází u téměř 50% příjemců (124). Potransplantační hypofosfatemie je častým nálezem, v prvních čtyřech měsících je pozorována u přibližně 90%, v období jednoho roku po transplantaci pak u 20-40% pacientů (133). Hypofosfatemie se může podílet na poruše mineralizace skeletu, poškozuje kostní obrat depresí aktivity osteoblastů (132). U transplantovaných pacientů je doporučován denní příjem fosforu od 1200 do 1500 mg a u některých pacientů může být také nezbytná suplementace fosfáty (123).

Po transplantaci ledvin dochází k demineralizaci skeletu, který dosahuje nejvyšší rychlosti v prvních 6 měsících po operačním výkonu. V dalších měsících a letech se pokles kostní minerální denzity zpomaluje a dosahuje hodnot srovnatelných s osteoporotickými ženami, tj. 1.7% za rok (124). Ve studii, ve které byla měřena BMD 1x měsíčně po dobu 5 měsíců od transplantace, bylo prokázáno průměrné snížení BMD v oblasti bederní páteře o 1.6% za měsíc (134). Další studie hodnotící BMD po dobu 24 měsíců našla na konci sledování pokles BMD o 7% v oblasti bederní páteře a o 4.3% v oblasti celkového proximálního femuru, pokles kostní minerální denzity v obou těchto oblastech skeletu koreloval s kumulativní dávkou kortikoidů (135). U našeho souboru nemocných byl po jednom roce zaznamenán pokles BMD o 2.4% v oblasti krčku femuru a o 3.2% v oblasti celkového proximálního femuru, v oblasti bederní páteře ale došlo ke vzestupu BMD o 2.2% (ani jedna z těchto změn však nebyla statisticky významná). Je zřejmé, že vývoj kostní minerální denzity po transplantaci je ovlivněn mnoha faktory, především pohlavím, celkovou dávkou kortikoidů a použitím kalcineurinových inhibitorů a také výchozím stavem skeletu před transplantací (124, 129, 132).

## **8. ZÁVĚRY DISERTAČNÍ PRÁCE**

### **8.1. Zhodnocení biochemických a denzitometrických dat u souboru pacientů nově zařazených do hemodialyzační léčby**

U populace pacientů nově vstupujících do chronického hemodialyzačního programu byla prokázána vysoká prevalence deficitu 25-hydroxyvitaminu D, zvláště pak u žen a diabetiků. Bylo nalezeno výrazné snížení kostní minerální denzity v oblasti proximálního femuru, ne však v oblasti bederní páteře, kde byly hodnoty kostní minerální denzity vyjádřené jako Z-skóre vyšší vzhledem k referenčním hodnotám pro stejný věk a pohlaví. Tento rozdíl může být způsoben odlišným působením parathormonu na kortikální a trabekulární kost a také falešně vysokou hodnotou kostní minerální denzity v oblasti bederní páteře, která je častá u starších pacientů. Při srovnání s daty vztahujícími se k obecné populaci, byla u našich nemocných ve skupině nad 50 let nalezena vysoká (40%) prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze. Mužské pohlaví a hladina kalcia pozitivně korelovaly s hodnotou kostní minerální denzity ve všech měřených oblastech. Věk pozitivně koreloval s kostní minerální denzitou v oblasti bederní páteře. Tato závislost může být vysvětlena artefakty ovlivňujícími negativně přesnost měření denzity v této oblasti, které jsou u starší populace častější. Tělesná hmotnost pozitivně korelovala s kostní minerální denzitou v oblasti krčku femuru, zatímco body mass index vykazoval tuto korelaci v oblasti celkového proximálního femuru.

### **8.2. Sledování hladin biochemických markerů kostního metabolismu a změn kostní minerální denzity v průběhu hemodialyzační léčby**

Deficit 25-hydroxyvitaminu D, zjištěný u pacientů na začátku hemodialyzační léčby, byl nalezen i během dalšího dvouletého sledování, přičemž hodnoty kalcidiolu i prevalence deficitu vitaminu zůstaly bez výraznějších změn. Hemodialyzační léčba tedy neměla větší vliv na deficit kalcidiolu, zůstala zachována sezonní variace jeho hladin a také nižší hladiny 25-hydroxyvitaminu D u žen a diabetiků. Během

sledování přetrvávaly zvýšené hodnoty intaktního parathormonu, které dosahovaly v průměru 5-ti až 6-ti násobku normy a tyto hodnoty se výrazněji neměnily. Nalezené korelace mezi změnami kostní minerální denzity a některými sledovanými biochemickými markery jsou obtížně interpretovatelné. Pozitivní korelace, které byly zjištěny mezi jednotlivými markery kostního obratu (parathormon-osteokalcin, PINP-CTx, PINP-osteokalcin a BACP-BALP) byly nalezeny také jinými autory.

Druhé i třetí denzitometrické vyšetření prokázalo pokles kostní minerální denzity ve všech sledovaných oblastech skeletu. Největší pokles BMD byl zaznamenán v oblasti celkového proximálního femuru, kde se u souboru nemocných sledovaných jeden rok snížila BMD o 4.0%. U souboru nemocných sledovaných dva roky byl průměrný roční pokles v této oblasti nižší (2.15%). Pokles mineralizace skeletu byl tedy větší, než jaký je udáván pro obecnou populaci.

Prevalence hodnot *T*-skóre v pásmu osteoporózy se při dalším sledování v souladu s poklesem kostní minerální denzity zvýšila. U pacientů sledovaných 1 rok došlo ke zvýšení prevalence osteoporotických hodnot *T*-skóre téměř na dvojnásobek, u pacientů sledovaných 2 roky pak téměř na trojnásobek. U více než 50% všech hemodialyzovaných pacientů byla na konci sledování kostní minerální denzita v některé z měřených oblastí skeletu v pásmu osteoporózy, což je výrazně více než v běžné populaci.

Hodnocení poklesu kostní minerální denzity je u hemodialyzovaných nemocných komplikované. Snížení BMD může být zapříčiněno osteoporózou a/nebo renální osteopatií. Ze závažnosti poklesu BMD nelze jednoznačně odvodit stupeň rizika fraktur a navíc léčebné možnosti osteoporózy jsou pro tuto populaci velmi omezené. Vyšetření pomocí DXA u hemodialyzovaných pacientů je však přesto užitečné z několika důvodů. Kostní denzitometrie může odhalit nízkou BMD a vyvolat tak pátrání po příčině tohoto stavu, navíc upozorní na zvýšené nebezpečí mimokostních kalcifikací při tomto nález. Výhledově, po zavedení nových léčebných postupů, může být DXA vyšetření užitečné ke sledování účinku terapie.



### **8.3. Zhodnocení změn biochemických parametrů, nutriční a kostní minerální denzity po transplantaci ledviny**

Hmotnost nemocných a BMI se po roce od transplantace signifikantně zvýšili o 3.4%, respektive 3.2% a významně se zvýšila také hladina albuminu. Prevalence diabetu se nezměnila. Nárůst hmotnosti a BMI jsou po transplantaci ledviny obvyklé, zvýšení tělesné hmotnosti je ale způsobené především množstvím tukové tkáně. Vysoká prevalence obezity u transplantovaných je často sdružena s dalšími metabolickými komplikacemi.

Deficit kalcidiolu se v časném potransplantačním období prohloubil pravděpodobně z důvodu snížené expozice slunečnímu záření. Během prvního roku po transplantaci narůstala hladina kalcia a došlo k poklesu fosfátů s přechodnou hypofosfatemii v časném potransplantačním období. Tyto biochemické změny jsou po transplantaci ledviny obvyklé. Nárůst kalcemie až hyperkalcemie je často spojen s perzistující hyperparatyreózou. Zvýšená hladina parathormonu se v našem souboru v průběhu roku významně snížila, průměrná hladina iPTH ale přesto zůstala lehce nad normální hodnotou. Potransplantační hypofosfatemie se může podílet na poruše mineralizace skeletu a vedle nutričních opatření si někdy vyžádá i suplementaci fosforu.

Po transplantaci ledvin dochází pravidelně k demineralizaci skeletu, která je nejzřetelnější v prvních měsících. U našeho souboru nemocných byl zaznamenán statisticky nevýznamný pokles kostní minerální denzity v krčku femuru a celkovém proximálním femuru, zatímco v oblasti bederní páteře došlo k jejímu nevýznamnému vzestupu.

## 9. SEZNAM TABULEK A GRAFŮ

- Tabulka 1. KDIGO: definice CKD-MBD.
- Tabulka 2. Klasická klasifikace renální osteopatie.
- Tabulka 3. TMV klasifikace renální osteopatie.
- Tabulka 4. Charakteristika epidemiologických souvislostí adynamické osteopatie (ve srovnání se sekundární hyperparatyreózou).
- Tabulka 5. Biochemické abnormality Ca - P metabolismu v aproximativní závislosti na vývoji chronické nedostatečnosti ledvin.
- Tabulka 6. Klinická manifestace renální osteopatie.
- Tabulka 7. Porucha minerálového metabolismu při selhání ledvin ve vztahu ke kardiovaskulárnímu systému.
- Tabulka 8. Přehled sérových markerů kostního metabolismu.
- Tabulka 9. Indikace ke kostní biopsii; upraveno podle KDIGO.
- Tabulka 10. Referenční hodnoty sledovaných biochemických ukazatelů.
- Tabulka 11. Demografická a biochemická data souboru 82 pacientů při zahájení hemodialyzační léčby.
- Tabulka 12. Denzitometrické nálezy souboru 82 pacientů při zahájení hemodialyzační léčby.
- Tabulka 13. Prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze a osteopenii u souboru 82 pacientů při zahájení hemodialyzační léčby; celý soubor, dle jednotlivých měřených oblastí.
- Tabulka 14. Prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze v kterékoliv z měřených oblastí skeletu u souboru 82 pacientů při zahájení hemodialyzační léčby; skupina pacientů nad 50 let věku.
- Tabulka 15. Nezávislé proměnné dosahující statistické významnosti v modelech lineární závislosti při použití hodnot kostní minerální denzity bederní páteře, krčku femuru a celkového proximálního femuru jako závislých proměnných.
- Tabulka 16. Vstupní demografická data souboru pacientů sledovaného 1 rok.
- Tabulka 17. Průměrné hodnoty laboratorních parametrů během ročního sledování.

- Tabulka 18. Statistické zhodnocení významnosti rozdílu průměrných hladin vitamínu D v jednotlivých měsících.
- Tabulka 19. Spearmanovy korelační koeficienty pro parathormon a markery kostní novotvorby a resorpce.
- Tabulka 20. Denzitometrické nálezy souboru pacientů sledovaného jeden rok při 1. měření kostní minerální denzity.
- Tabulka 21. Denzitometrické nálezy souboru pacientů sledovaného jeden rok při 2. měření kostní minerální denzity.
- Tabulka 22. Srovnání nálezů kostní minerální denzity při 1. a 2. měření (po 1 roce); celý soubor.
- Tabulka 23. Srovnání nálezů kostní minerální denzity při 1. a 2. měření (po 1 roce); ženy a muži.
- Tabulka 24. Srovnání nálezů kostní minerální denzity při 1. a 2. měření (po 1 roce); nediabetici a diabetici.
- Tabulka 25. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD při 1. a 2. měření (po 1 roce); celý soubor.
- Tabulka 26. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD při 1. a 2. měření (po 1 roce); ženy a muži.
- Tabulka 27. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídajících osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD při 1. a 2. měření (po 1 roce); nediabetici a diabetici.
- Tabulka 28. Nezávislé proměnné dosahující statistické významnosti v modelech lineární závislosti při použití změn hodnot kostní minerální denzity bederní páteře, krčku femuru a celkového proximálního femuru jako závislých proměnných.
- Tabulka 29. Vstupní demografická data souboru pacientů sledovaného 2 roky.
- Tabulka 30. Průměrné hodnoty laboratorních parametrů souboru pacientů během dvouletého sledování.

- Tabulka 31. Statistické zhodnocení významnosti rozdílu průměrných hladin laboratorních parametrů v 1. a 2. roce sledování.
- Tabulka 32. Srovnání průměrných hodnot laboratorních parametrů v 1. a 2. roce sledování.
- Tabulka 33. Denzitometrické nálezy souboru pacientů sledovaného 2 roky při 1. měření kostní minerální denzity.
- Tabulka 34. Denzitometrické nálezy souboru pacientů sledovaného 2 roky při 3. měření kostní minerální denzity (po 2 letech).
- Tabulka 35. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů sledovaného 2 roky při 1. a 3. měření (po 2 letech); celý soubor.
- Tabulka 36. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů sledovaného 2 roky při 1. a 3. měření (po 2 letech); ženy a muži.
- Tabulka 37. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů sledovaného 2 roky při 1. a 3. měření (po 2 letech); nediabetici a diabetici.
- Tabulka 38. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídající osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD u souboru při 1. a 3. měření (po 2 letech); celý soubor.
- Tabulka 39. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídající osteoporóze, osteopenie, normální a vysoké BMD při 1. a 3. měření (po 2 letech); ženy a muži.
- Tabulka 40. Srovnání prevalence hodnot T-skóre odpovídající osteoporóze, osteopenii, normální a vysoké BMD při 1. a 3. měření (po 2 letech); nediabetici a diabetici.
- Tabulka 41. Demografická a laboratorní data u pacientů po transplantaci ledviny.
- Tabulka 42. Srovnání nálezů kostní minerální denzity souboru pacientů po transplantaci ledviny při 1. a 2. měření (po 1 roce).
- Graf 1. Hladiny vitamínu D v jednotlivých měsících odběrů.

## 10. LITERATURA

1. Sprague SM. Is bone mineral density measurement of any value in a dialysis patient? *Semin Dial* 2011; 24: 433-434.
2. Bellorin-Font E, Adams J, Cunningham J. Osteopenia in uremia. In: Olgaard K, Salutsky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 235-251.
3. Rix M, Andreassen H, Eskildsen P et al. Bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in patients with predialysis chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 56: 1084-1093.
4. Christov M, Pereira R, Wesseling-Perry K. Bone biopsy in renal osteodystrophy: continued insights into a complex disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013; 22: 210-215.
5. Jamal SA, Swan VJ, Brown JP et al. Kidney function and rate of bone loss at the hip and spine: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Am J Kidney Dis* 2010; 55: 291-299.
6. Dusilová Sulková S et al. *Renální osteopatie*. Praha: Maxdorf 2007.
7. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009; 76(Suppl.13): 32-49.
8. Miller PD. Diagnosis and treatment of osteoporosis in chronic renal disease. *Semin Nephrol* 2009; 29: 144-155.
9. Gal-Moscovici A, Sprague SM. Osteoporosis and chronic kidney disease. *Semin Dial* 2007; 5: 423-430.
10. ISCD Official Position, 2007, <http://www.iscd.org/Visitors/pdfs/ISCD2007OfficialPositions-Adult.pdf> dne 15.11.2012.
11. Eknoyan G, Lameire N, Barsoum R et al. The burden of kidney disease: improving global outcomes. *Kidney Int* 2004; 66: 1310-1314.

12. Moe SM. Definition and classification of renal osteodystrophy and chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD). In: Olgaard K, Salutsky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 1-14.
13. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW et al. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-617.
14. Moe S, Drüeke T, Cunningham J et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69: 1945-1953.
15. Sotorník I. Renální osteopatie. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén 2011: 65-102.
16. Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y et al. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure-an evolving disorder. *Kidney Int* 1993; 43: 436-442.
17. Moorthi RN, Moe SM. CKD-Mineral and Bone Disorder: Core Curriculum 2011. *Am J Kidney Dis* 2011; 58: 1022-1036.
18. Barreto FC, Barreto DV, Moysés RMA et al. K/DOQI-recommended intact PTH levels do not prevent low-turnover bone disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008; 73: 771-777.
19. Martin KJ, Olgaard K et al.: Diagnosis, Assessment and Treatment of Bone Turnover Abnormalities in Renal Osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 2004; 3: 558-565.
20. Dusilová Sulková S. Kostní choroba u chronického selhání ledvin a její moderní terapie. *Vnitř Lék* 2011; 57: 620-625.
21. Levin A, Bakris GL, Molitch M et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: Results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 2007; 71: 31-38.
22. Tomida K, Hamano T, Mikami S et al. Serum 25-hydroxyvitamin D as an independent determinant of 1-84 PTH and bone mineral density in non-diabetic predialysis CKD patients. *Bone* 2009; 44: 678-683.

23. London GM, Pannier B, Guerin AP et al. Clinical consequences of arterial calcifications and soft-tissue calcifications in chronic kidney disease. In: Olgaard K, Salutsky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 1-14.
24. London GM. Osa ledvina - kost - céva. *Aktuality v nefrologii* 2009; 15: 30-34.
25. Sotorník I, Karasová L, Kautznerová D, Buncová M, Povýšil C, Kutílek Š. Vyšetřovací postupy. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén 2011: 107-163.
26. Sagliker Y, Acharya V, Ling Z. International study on Sagliker syndrome and uglifying human face appearance in severe and late secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease patients. *J Ren Nutr* 2008; 18: 114-7.
27. Sulková S, Povýšil C. Renální osteopatie. In: Sulková S et al. *Hemodialýza*. Praha: Maxdorf 2000: 404-420.
28. Vyskočil V. *Osteoporóza a ostatní nejčastější metabolická onemocnění skeletu*. Praha: Galén 2009.
29. Bálková O. Kostní markery v monitorování léčby osteoporózy. *Labor Aktuell* 2007; 4: 12-15.
30. Ureña P, Olgaard K, Marrin KJ. Biochemical markers of bone metabolism in CDD. In: Olgaard K, Salutsky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 173-198.
31. Sotorník I. Nové aspekty v koncepci renální osteopatie, CHOL/CKD-MBD. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén 2011: 103-106.
32. Sánchez Fructuoso AI, Maestro ML, Calvo N et al. Role of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in the metabolism of phosphorus and calcium immediately after kidney transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44: 2551-2554.

33. Moe SM, Sprague SM. Chronic Kidney Disease-Mineral Bone Disorder. In: Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Skorecki K, Yu ASL, Brenner BM, eds. *The Kidney*. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders 2012: 2021-2058.
34. D'Amour P, Rakel A, Brossard JH et al. Acute regulation of circulating parathyroid hormone (PTH) molecular forms by calcium: utility of PTH fragments/PTH (1–84) ratios derived from three generations of PTH assays. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 283–289.
35. Diaz Diego EM, Guerrero R, de la Piedra C. Six osteocalcin assays compared. *Clin Chem* 1994; 40: 2071-2077.
36. Ueda M, Inaba M, Okuno S et al. Clinical usefulness of the serum N-terminal propeptide of type I collagen as a marker of bone formation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 802-809.
37. Ureña P, Bernard-Poenaru O, Ostertag A et al.: Bone mineral density, biochemical markers and skeletal fractures in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2325-2331.
38. Bauer D, Krege J, Lane N et al. National Bone Health Alliance Bone Turnover Marker Project: current practices and the need for US harmonization, standardization, and common reference ranges. *Osteoporos Int* 2012; 23: 2425-33.
39. Appelbaum YH. Imaging of the skeleton and the joints in CKD. In: Olgaard K, Salusky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 199-216.
40. Sotorník I, Povýšil C. Diagnostika renální osteopatie. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén 2011: 319-360.
41. Adams JE. Renal bone disease: radiological investigation. *Kidney Int Suppl* 1999; 73: 38-41.
42. Sarikaya A, Sen S, Hacimahmutoglu S, Pekindil G. <sup>99m</sup>Tc(V)-DMSA scintigraphy in monitoring the response of bone disease to vitamin D<sub>3</sub> therapy in renal osteodystrophy. *Ann Nucl Med* 2002; 16: 19-23.



43. Looker AC, Borrud LG, Dawson-Hughes B et al. Osteoporosis or low bone mass at the femur neck or lumbar spine in older adults: United States, 2005-2008. NCHS Data Brief 2012; 93: 1-8.
44. Štěpán J. Algoritmus diagnostiky a léčby osteoporózy. Farmakoterapie 2005; 5: 485-494.
45. SMOS (Společnost pro metabolická onemocnění skeletu): Doporučené postupy pro diagnostiku a terapii postmenopauzální osteoporózy II, část druhá, 2007; <http://www.smos.cz/> dne 10.2.2013.
46. ESCEO (European Society for Clinican and Economic Evaluation of Osteoporosis and Osteoarthritis): European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women, 2007, <http://www.esceo.org/down.php> dne 10.2.2013.
47. NOGG (National Osteoporosis Giudeline Group): Guideline for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and men from the age of 50 years in the UK, 2008, <http://www.shef.ac.uk/NOGG/> dne 10.2.2013.
48. Cannata-Andía JB, Rodriguez García M, Gómez Alonso C. Osteoporosis and adynamic bone in chronic kidney disease. J Nephrol 2013; 26: 73-80.
49. Leonard MB. A structural approach to skeletal fragility in chronic kidney disease. Semin Nephrol 2009; 29: 133-143.
50. Bousson V, Bergot C, Sutter B et al. Trabecular bone score (TBS): available knowledge, clinical relevance, and future prospects. Osteoporos Int 2012; 23: 1489-1501.
51. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA et al. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. J Bone Miner Res 2011; 26: 2762-2769.
52. Ott SM. Rewiev article: Bone density in patients with chronic kidney disease stages 4-5. Nephrology 2009; 14: 395-403.
53. Weisinger JR, Bellorin-Font E.: Postmenopausal osteoporosis in the dialysis patient. Curr Opin Nephrol Hypertens 2003; 12: 381-386.

54. Tan JC, Busque S, Scandling JD. Kidney transplantation: clinical management. In: Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Skorecki K, Yu ASL, Brenner BM, eds. *The Kidney*. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders 2012: 2515-2555.
55. Ott SM. Bone histomorphometry in renal osteodystrophy. *Semin Nephrol* 2009; 29: 122-132.
56. Jamal SA, West SL, Miller PD. Fracture risk assesment in patients with chronic kidney disease. *Osteoporos Int* 2012; 23: 1191-1198.
57. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(Suppl 3): 12-16.
58. Jean G, Charra B, Chazot C. Vitamin D deficiency and associated factors in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2008; 5: 395-399.
59. Del Valle E, Negri AL, Aguirre C et al. Prevalence of 25(OH) vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease stage 5 patients on hemodialysis. *Hemodial Int* 2007; 3: 315-321.
60. Pilz S, Iodice S, Zittermann A et al. Vitamin D status and mortality risk in CKD: a meta-analysis of prospective studies. *Am J Kidney Dis* 2011; 3: 374-382.
61. Kandula P, Dobre M, Schold JD et al. Vitamin D supplementation in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies and randomized controlled trials. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 50-62.
62. Hutchinson MS, Figenschau Y, Almás B et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in subjects with reduced glukose tolerance and type 2 diabetes - The Tromsø OGTT-Study. *Int J Vitam Nutr Res* 2011; 81: 317-327.
63. Pei Y, Hercz G, Greenwood C et al. Renal osteodystrophy in diabetic patiens. *Kidney Int* 1993; 44: 159-164.
64. Felsenfeld AJ, Torres A. Bone histomorphometry in renal osteodystrophy. In: Olgaard K, Salutsky IB, Silver J, eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010: 160-161.

65. Sotorník R, Žofková I. Vybrané endokrinopatie a kostní metabolismus. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin. Praha: Galén 2011: 319-360.
66. Cunningham J, Sprague SM, et al. Osteoporosis in chronic kidney disease. *Am J Kidney* 2004; 3: 566-571.
67. Garriguet D. Bone health: osteoporosis, calcium and vitamin D. *Health Rep* 2011; 3: 1-8.
68. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Osteoporosis is markedly underdiagnosed: a nationwide study from Denmark. *Osteoporos Int* 2005; 16: 134-141.
69. Taal MW, Masud T, Green D, Cassidy MJD. Risk factors for reduced bone density in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1922-1928.
70. Orlic L, Crncevic Z, Pavlovic D, Zaputovic L. Bone mineral densitometry in patients on hemodialysis: difference between genders and what to measure. *Renal Failure* 2010; 32: 300-308.
71. Foldes AJ, Arnon E, Popovtzer MM. Reduced speed of sound in tibial bone of haemodialysed patients: association with serum PTH level. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1318-1321.
72. Nakai T, Masuhara K, Kato K, Kanbara N. Longitudinal measurement of bone mineral density at the radius in hemodialysis patients using dual-energy X-ray absorptiometry. *J Musculoskel Neuron Interact* 2001; 2: 163-165.
73. Binici DN, Gunes N. Risk factors leading to reduce bone mineral density in hemodialysis patients with metabolic syndrome. *Ren Fail* 2010; 32: 469-474.
74. Pecovnik Balon B, Hojs R, Zavrtnik A et al. Bone mineral density in patients beginning hemodialysis treatment. *Am J Nephrol* 2002; 22: 14-17.
75. Rickers H, Christensen M, Rødbro P. Bone mineral content in patients on prolonged maintenance hemodialysis: a three year follow-up study. *Clin Nephrol* 1983; 20: 302-307.
76. Ma L, Oei L, Juany L et al. Association between bone mineral density and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. *Eur J Epidemiol* 2012; 27: 319-332.

77. Zayour D, Daouk M, Medawar W et al. Predictors of Bone Mineral Density in Patients on Hemodialysis. *Transplant Proc* 2004; 36: 1297-1301.
78. Elder GJ, Mackun K. 25-hydroxyvitamin D deficiency and diabetes predict reduced BMD in patients with chronic kidney disease. *J Bone Miner Res* 2006; 21: 1778-1784.
79. Nishitani H, Miki T, Morii H et al. Decreased bone mineral density in diabetic patients on hemodialysis. *Contrib Nephrol* 1991; 90: 223-227.
80. Kaji H, Hattori S, Sekita K et al. Factors affecting bone mineral density in hemodialysis patients with diabetic nephropathy. *Endocrin J* 2003; 50: 127-133.
81. Inaba M, Okuno S, Kumeda Y et al. Increased incidence of vertebral fracture in older female hemodialyzed patients with type 2 diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int* 2005; 76: 256-260.
82. Häussler B, Gothe H, Göl D et al. Epidemiology, treatment and cost of osteoporosis in Germany - the BoneEVA study. *Osteoporos Int* 2007; 18: 77-84.
83. Kanis JA, Johnell O, Oden A et al. Risk of hip fracture according to the World Health Organization criteria for osteopenia and osteoporosis. *Bone* 2000; 27: 585-90.
84. Stehman-Breen C: Bone Mineral Density Measurements in Dialysis Patients. *Semin Dial* 2001; 14: 228-229.
85. Toussaint ND, Lau KK, Strauss BJ et al. Associations between vascular calcification, arterial stiffness and bone mineral density in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 586-593.
86. Toussaint ND, Lau KK, Strauss BJ et al. Associations between vascular calcification, arterial stiffness and bone mineral density in a cross-sectional study of prevalent Australian haemodialysis patients. *Nephrology* 2009; 14: 105-112.
87. Waugh EJ, Lam MA, Hawker GA et al. Risk factors for low bone mass in healthy 40-60 year old women: a systematic review of the literature. *Osteoporos Int* 2009; 1: 1-21.

88. Papaioannou A, Kennedy CC, Cranney A et al. Risk factors for low BMD in healthy men age 50 years or older: a systematic review. *Osteoporos Int* 2009; 4: 507-518.
89. Ersoy FF. Osteoporosis in the elderly with chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2007; 39: 321-331.
90. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.
91. Andersen R, Brot C, Jakobsen J et al. Seasonal changes in vitamin D status among Danish adolescent girls and elderly women: the influence of sun exposure and vitamin D intake. *Eur J Clin Nutr.* 2013 Feb 6. [Epub ahead of print]
92. Hlúbik P, Fajfrová J. Vitamin D – aktuální situace. *Interní Med* 2008; 10: 295-297.
93. Elder GJ: Vitamin D levels, bone turnover and bone mineral density show seasonal variation in patients with chronic kidney disease stage 5. *Nephrology* 2007; 12: 90-94.
94. Chronické selhání ledvin a uremický syndrom. In: Tesař V, Schück O et al. *Klinická nefrologie*. Praha: Grada 2006: 477-511.
95. Ambrus C, Marton A, Nemeth ZK et al. Bone mineral density in patients on maintenance dialysis. *Int Urol Nephrol* 2010; 42: 723-739.
96. Dusilova Sulková S, Opatrná S, Ryšavá R et al. KDIGO doporučení pro diagnostiku a léčbu CKD-MBD: komentovaný návod pro klinickou praxi. *Aktuality v nefrologii* 2010; 16: 113-126.
97. Ohlidalová K, Mareš J, Ferda J et al. Hodnocení kostní denzity u hemodialyzovaných pacientů. *Česká radiologie* 2007; 1: 68-73.
98. Negri AL, Barone L, Quiroga MA et al.: Bone mineral density: serum markers of bone turnover and their relationships in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2004; 24: 163-168.
99. Sit D, Kadiroglu AK, Kayabasi H et al. Relationship between bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in hemodialysis patients. *Adv Ther* 2007; 24: 987-95.

100. Powe CE, Ricciardi C , Berg AH et al. Vitamin D-Binding Protein Modifies the Vitamin D-Bone Mineral Density Relationship. *JBMR* 2011; 26: 1609-1616.
101. Avramovski P, Sikole A. The Progression of Bone Mineral Density Loss in Dialysis Patients Compared with the General Population. *Korean J Intern Med* 2012; 27: 436-442.
102. Yücel AE, Kart-Köseoglu H, Isiklar I et al.: Bone mineral density in patients on maintenance hemodialysis and effect of chronic hepatitis C virus infection. *Ren Fail* 2004; 26: 159-164.
103. Huang GS, Chu TS, Lou MF et al. Factors associated with low bone mass in the hemodialysis patients – a cross-sectional correlation study. *BMC Musculoskelet Disord* 2009; 10: 60.
104. Muxí Á, Torregrosa JV, Fuster D et al. Arteriovenous Fistula Affects Bone Mineral Density Measurements in End-Stage Renal Failure Patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1494-1499.
105. Grzegorzewska AE, Młot-Michalska M. Bone mineral density, its predictors, and outcomes in peritoneal dialysis patients. *Adv Perit Dial* 2011; 27: 140-5.
106. Jeong JU, Lee HK, Kim YJ et al. Nutritional markers, not markers of bone turnover, are related predictors of bone mineral density in chronic peritoneal dialysis patients. *Clin Nephrol* 2010; 74: 336-42.
107. Nakamura K, Oyama M, Saito T et al. Nutritional and biochemical parameters associated with 6-year change in bone mineral density in community-dwelling Japanese women aged 69 years and older: The Muramatsu Study. *Nutrition*. 2012; 28: 357-361.
108. Lacativa PG, de Mendonça LM, de Mattos Patrício Filho PJ et al. Risk factors for decreased total body and regional bone mineral density in hemodialysis patients with severe secondary hyperparathyroidism. *J Clin Densitom* 2005; 8: 352-361.
109. Valkovský I, Martínek A, Olšanská R et al. Kostní denzita u hemodialyzovaných pacientů během ročního sledování a její souvislost s hladinami vitamínu D a dalšími parametry. *Aktuality v nefrologii* 2011; 17: 101-107.

110. Takano M, Okano K, Tsuruta Y et al. Correlation of new bone metabolic markers with conventional biomarkers in hemodialysis patients. *Clin Invest Med* 2011; 34: E267.
111. Avila M, Prado C, Ventura MdJ et al. Vitamin D receptor gene, biochemical bone markers and bone mineral density in Mexican women on dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 2259–2265.
112. Ahlborg HG, Johnell O, Turner CH et al. Bone loss and bone size after menopause. *N Engl J Med* 2003; 349: 327-334.
113. Svejme O, Ahlborg HG, Karlsson MK. Changes in forearm bone mass and bone size after menopause—a mean 24-year prospective study. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2012; 12: 192-198.
114. Sheu Y, Cauley JA, Wheeler VW et al. Osteoporotic Fracture in Men (MrOS) Research Group. Age-related decline in bone density among ethnically diverse older men. *Osteoporos Int* 2011; 22: 599-605.
115. Nguyen TV, Meier C, Center JR et al. Bone turnover in elderly men: relationships to change in bone mineral density. *BMC Musculoskelet Disord* 2007; 8: 13.
116. Iimori S, Mori Y, Akita W et al. Diagnostic usefulness of bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in predicting fracture in CKD stage 5D patients—a single-center cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 0: 1-7.
117. FRAX<sup>®</sup> (WHO Fracture Risk Assessment Tool), World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK, <http://www.shef.ac.uk/FRAX/> dne 19.2.2013.
118. Alem AM, Sherrard DJ, Gillen DL et al.: Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2000; 58: 396-399.
119. Jamal SA, Hayden JA, Beyene J. Low bone mineral density and fractures in long-term hemodialysis patients: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 674-681.

120. Kotowicz MA, Klee GG, Kao PC et al. Relationship between serum intact parathyroid hormone concentrations and bone remodeling in type I osteoporosis: evidence that skeletal sensitivity is increased. *Osteoporos Int* 1990; 1: 14-22.
121. Hamano T, Oseto S, Ito T et al.: The skeletal sensitivity of PTH viewed from serum NTx and its dependency on estradiol in hemodialized patients. Abstract; ERA-EDTA XLI Congress, [http://www.abstracts2view.com/era\\_archive/](http://www.abstracts2view.com/era_archive/) dne 10.12.2012.
122. Lee H, Finkelstein JS, Miller M et al. Effects of selective testosterone and estradiol withdrawal on skeletal sensitivity to parathyroid hormone in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 Mar; 91(3): 1069-75.
123. Teplan V, Valkovsky I, Teplan V Jr et al. Nutritional consequences of renal transplantation. *J Ren Nutr* 2009; 19: 95-100.
124. Bubeníček P. Potransplantační kostní nemoc. In: Viklický O, Janoušek L, Baláž P et al. *Transplantace ledvin v klinické praxi*. Praha: Grada 2008: 321-325.
125. Nazemian F, Naghibi M. Weight-gain-related factors in renal transplantation. *Exp Clin Transplant* 2005; 3: 329-332.
126. Marcén R, Fernández A, Pascual J et al. High body mass index and posttransplant weight gain are not risk factors for kidney graft and patient outcome. *Transplant Proc* 2007; 39: 2205-2207.
127. van den Ham EC, Kooman JP, van Hooff JP. Nutritional considerations in renal transplant patients. *Blood Purif* 2002; 20: 139-144.
128. Johnson CP, Gallagher-Lepak S, Zhu YR et al. Factors influencing weight gain after renal transplantation. *Transplantation* 1993; 56: 822-827.
129. Moreau K, Chauveau P, Martin S et al. Long-term evolution of body composition after renal transplantation: 5-year survey. *J Ren Nutr* 2006; 16: 291-299.
130. Teplan V. Obezita po transplantaci ledviny. In: Viklický O, Janoušek L, Baláž P et al. *Transplantace ledvin v klinické praxi*. Praha: Grada 2008: 296-299.



131. Lewin E, Olgaard K. Parathyroidectomy vs calcimimetics for treatment of persistent hyperparathyroidism after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1766-1769.
132. Sotorník I, Bubeníček P, Adamec M. Osteopatie po transplantaci ledviny. In: Sotorník I, Kutílek Š et al. *Kostní minerály a skelet při chronickém onemocnění ledvin*. Praha: Galén 2011: 251-269.
133. Sperschneider H, Stein G. Bone disease after renal transplantation. *Nephro Dial Transplant* 2003; 18: 874-877.
134. Horber FF, Casez JP, Steiger U et al. Changes in bone mass early after kidney transplantation. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1-9.
135. Casez JP, Lippuner K, Horber FF et al. Changes in bone mineral density over 18 months following kidney transplantation: the respective roles of prednisone and parathyroid hormone. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1318-26.