

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

III. INTERNÍ KLINIKA-NEFROLOGICKÁ, REVMATOLOGICKÁ

A ENDOKRINOLOGICKÁ

MINERÁLOVÁ A KOSTNÍ NEMOC PŘI CHRONICKÉM

ONEMOCNĚNÍ LEDVIN

HISTOMORFOMETRICKÁ KOSTNÍ ANALÝZA

MUDr. KAMIL ŽAMBOCH

DISERTAČNÍ PRÁCE

OLMOUC 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně a všechny zdroje informací, které jsem použil, jsem uvedl v seznamu literatury.

V Olomouci - 20. října 2015

Kamil Žamboch

.....

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych rád poděkoval všem spolupracovníkům, kteří se na mé práci a na vzniku publikací nejrůznějším způsobem podíleli. Zvláště bych chtěl vyjádřit poděkování mým školitelům, prim. MUDr. Janě Zahálkové, Ph.D. a doc. MUDr. Karlu Krejčímu, Ph.D. a členům naší nefrologické skupiny. Můj díky patří i dalším spolupracovníkům v rámci grantové podpory ČNS, Mgr. Kateřině Langové za statistické zpracování výsledků mé práce a panu Michalu Slánskému za technickou podporu při tvorbě prezentací. Zároveň děkuji současnému i předchozímu vedení III. interní kliniky, jmenovitě prof. MUDr. J. Zadražilovi, CSc. a prof. MUDr. V. Ščudlovi, CSc., za vytvoření pracovních podmínek na přípravu a realizaci této práce. V neposlední řadě bych moc rád poděkoval manželce Ivetě a dceři Diance za trpělivost a podporu, kterou mi poskytovali při psaní této práce.

GRANT

Práce byla podpořena grantem České nefrologické společnosti - 2010/01-
Histomorfometrická diagnostika a grantem Univerzity Palackého- IGA LF 2015_ 015.

Doktorand:	MUDr. Kamil Žamboch
Pracoviště:	III. interní klinika-nefrologická, revmatologická a endokrinologická LF UP a FN Olomouc
Typ PGS studia:	kombinovaná forma
Obor:	Vnitřní nemoci
Specializace:	Nefrologie
Téma PGS práce:	Minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin
Školitel:	doc. MUDr. Karel Krejčí, Ph.D. Prim. MUDr. Jana Zahálková, Ph.D. (2008-2012)
Rok obhajoby:	2015

Obsah

PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK.....	6
SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ	8
SOUHRN DIZERTAČNÍ PRÁCE - ANGLICKY.....	10
KLÍČOVÁ SLOVA.....	11
I. TEORETICKÁ ČÁST.....	12
1. Úvod.....	12
2. Komplikace chronického selhání ledvin.....	15
3. Struktura kostní tkáně	17
4. Molekulární a buněčná podstata kostních změn při CHRS	18
5. Mechanismy regulace kostního metabolismu.....	21
6. Renální osteopatie a její typy	22
7. Cévní složka MBD-CKD.....	29
8. KDIGO doporučení v rámci MBD-CKD.....	32
9. Vyšetřovací metody MBD-CKD	33
10. Histomorfometrie kostní tkáně.....	36
11. Klinický obraz MBD-CKD.....	37
12. Léčebné možnosti MBD-CKD.....	38

II. PRAKTICKÁ ČÁST	42
13. Cíle dizertační práce.....	42
14. Statistické metody	42
15. Soubor nemocných.....	43
16. Biochemická charakteristika souboru	44
17. Další charakteristiky souboru a příprava ke kostní biopsii	46
18. Metodika odběru kostní tkáně a její vyšetření	46
19. Histomorfometrické parametry	47
20. Výsledky biochemického vyšetření souboru	52
21. Výsledky histomorfometrických dat	53
22. Výsledky hodnot Z-skóre DEXA, délky dialyzační léčby a objemu PT	54
23. Výsledky korelací.....	55
23.1 Korelace histomorfometrických a biochemických charakteristik	55
23.2 Korelace histomorfometrických parametrů s délkou dialyzační léčby	59
23.3 Korelace laboratorních parametrů s denzitometrickými hodnotami	61
23.4 Hodnoty vybraných parametrů ve vztahu k pohlaví a přítomnosti diabetu mellitu ..	62
24. Diskuze.....	66
25. Závěr	70
III. LITERATURA.....	72
IV. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA	85
V. PŘÍLOHY - PUBLIKACE AUTORA SOUVISEJÍCÍ S DIZERTAČNÍ PRACÍ	91

PŘEHLED POUŽITÝCH ZKRATEK

ABD- adynamická kostní choroba

ALP- alkalická fosfatáza

BMP- kostní morfogenní proteiny

CaSR- calcium sensing receptor

CHRI- chronická renální insuficience

CHRS- chronické renální selhání

CKD- chronic kidney disease

CSF- kolonie stimulující faktory

ČNS- Česká nefrologická společnost

DEXA- dvouenergiová rentgenová absorpciometrie

DM 2 typu- diabetes mellitus 2. typu

ERA-EDTA- European renal association- European dialysis and transplant association

FGF-23- fibroblastový růstový faktor

FGFR- receptor pro FGF-23

HPT- hyperparathyreóza

sHPT- sekundární hyperparathyreóza

IGF- inzulínu podobný růstový faktor

IL- 1- interleukin 1

INF γ - interferon γ

KDIGO- Kidney disease improving global outcomes

KVO- kardiovaskulární onemocnění

LK- levá komora

MBD-CKD- minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin

MIA- malnutrice, chronický zánět, ateroskleróza

OPG- osteoprotegerin

PDL- pravidelná dialyzační léčba

PTE- parathyreoidektomie

PT- příštitná tělíska

iPTH- intaktní parathormon

RA- rodinná anamnéza

RANK- receptor aktivátoru pro nukleární faktor NF- κ B

RANKL- liganda receptoru aktivátoru pro nukleární faktor NF- κ B

RF- rizikové faktory

RO- renální osteopatie, MBD- osteodystrofie

^{99m}Tc -MIBI-scintigrafie pomocí metoxyizobutylyzonitridu značeného ^{99m}Tc Techneciem

TMV- turnover, mineralization, volume

TNF-1- tumor necrosis faktor-1

TTC- tetracyklin

TTC linie- linie tetracyklinu

VDR- vitamin D receptor

SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A OBRÁZKŮ

Tabulka č. 1. Rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění u pacientů s chronickým onemocněním ledvin

Tabulka č. 2. Typy kostních změn při CKD a rozsah kostního obratu

Tabulka č. 3. TMV klasifikace

Tabulka č. 4. Indikace k histomorfometrickému vyšetření

Tabulka č. 5. Faktory spojené se vznikem vaskulárních kalcifikací při CHRS

Tabulka č. 6. Srovnání KDOQ_i a KDIGO cílových hodnot laboratorních ukazatelů

Tabulka č. 7. Základní léčebné možnosti v rámci MBD-CKD

Tabulka č. 8. Charakteristika souboru pacientů

Tabulka č. 9. Vybrané biochemické parametry souboru

Tabulka č. 10. Histomorfometrické parametry souboru

Tabulka č. 11. Příklad histomorfometrického vyšetření u jednoho pacienta

Tabulka č. 12. Biochemické výsledky souboru

Tabulka č. 13. Histomorfometrické hodnoty sledovaných parametrů

Tabulka č. 14. Délka dialyzační léčby, hodnota Z-skóre DEXA, objem PT

Tabulka č. 15. Posouzení vztahů mezi biochemickými a histomorfometrickými charakteristikami souboru

Tabulka č. 16. Posouzení vztahů mezi histomorfometrickými parametry a TTC liniemi

Tabulka č. 17. Vztah mezi histomorfometrickými parametry a délkou HD léčby

Tabulka č. 18. Vztah mezi biochemickými parametry a Z-skóre dle DEXA

Tabulka č. 19. Vztah mezi histomorfometrickými parametry a pohlavím

Graf č. 1. Negativní korelace mezi velikostí TTC linií a střední tloušťkou kostního trámce

Graf č. 2. Objem trabekulární kosti ve vztahu k délce HD léčby

Graf č. 3. Vztah mezi Z-skóre (DEXA) a TTC liniemi

Graf č. 4. Vztah mezi objemem kostního trámce a pohlavím

Graf č. 5. S-osteokalcin u pacientů s DM 2. typu

Obrázek č. 1. Tři základní komponenty minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin

Obrázek č. 2. Moderní pojetí „trade off“ hypotézy

Obrázek č. 3. Histomorfometrický obraz fibrózní osteodystrofie

Obrázek č. 4. Adynamická forma MBD-CKD

Obrázek č. 5. Uremická arteriolopatie

Obrázek č. 6A. Histomorfometrické vyšetření

Obrázek č. 6B. Histomorfometrické vyšetření

SOUHRN DIZERTAČNÍ PRÁCE - ANGLICKY

Chronic kidney disease – mineral and bone disorder (CKD-MBD) ranks among clinically and pathogenetically significant complications in patients with chronic kidney disease. Numerous factors are involved in its development and histomorphometric analysis of the bone tissue is still necessary for accurate diagnosis.

Methods: The open, pilot, prospective study aimed at performing a comprehensive histomorphometric bone analysis in 26 dialysis patients, and assessing the relationships of different types of CKD-MBD to selected parameters of calcium and phosphate metabolism, densitometry, activity of parathyroid glands, presence of diabetes mellitus and duration of dialysis treatment.

Results: Comparison of the histomorphometric characteristics demonstrated statistically significant correlations between the volume of bone trabeculae and s-procollagen 1 (.754) as well as s-calcitonin (.856). Similarly, there was a positive correlation between the size of tetracycline lines and volume of bone trabeculae (.705), and a strong negative correlation with the thickness of trabeculae (-.742). When assessing the serum levels of s-osteoprotegerin and serum RANKL, there was a correlation with osteoid thickness and bone trabeculae thickness. In case of s-osteoprotegerin, a statistical power was demonstrated in relation to osteoid thickness (.880); and, in case of s-RANKL, in relation to the thickness of trabeculae (.830). When assessing the influence of dialysis duration, relationships to the volume of trabecular bone (.765) and volume of bone trabeculae (.949) were demonstrated. Also were demonstrated significantly lower volume of bone trabeculae in men ($p=0.067$), and lower values of s-osteocalcin and s-procollagen 1 in diabetic patients ($p=0.014$).

Conclusion: The results provide new non-invasive possibilities of CKD-MBD detection that are based on selected serum parameters of bone metabolism. Presented are possibilities of non-invasive assessment of different types of CKD-MBD using serum osteomarkers in relation to comprehensive CKD-MBD histomorphometry.

KLÍČOVÁ SLOVA

Minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin, histomorfometrie kostní tkáně, metabolismus kalcia a fosforu, kardiovaskulární riziko

KEY WORDS

mineral and bone disorder, histomorphometric bone analysis, calcium and phosphate metabolism, cardiovascular risk

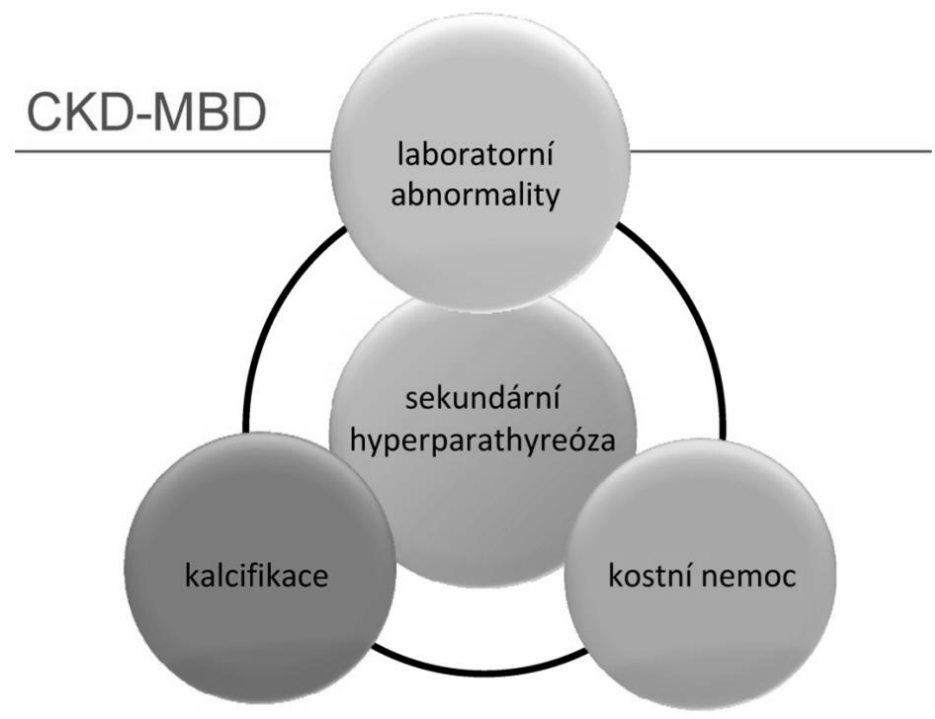
I. TEORETICKÁ ČÁST

1. Úvod

Chronické selhání ledvin je významné onemocnění s řadou medicínských, sociálních a ekonomických důsledků. Mezi klinicky a patogeneticky významné komplikace provázející prakticky všechna stádia CHRI patří změny fosfokalciového metabolismu. Jedná se o komplexní poruchu, která je označována souhrně jako MBD-CKD a je definována přítomností alespoň jednoho ze tří kritérií: abnormálním metabolismem kalcia, fosforu, iPTH a vitamínu D, renální osteopatií a/nebo výskytem cévních kalcifikací (obr. č. 1). Abnormalitám kostního metabolismu je v poslední době věnována velká pozornost, neboť byl prokázán jejich úzký vztah k cévním změnám a ke kardiovaskulárním onemocněním (1,2,3). Onemocnění kostí při snížené funkci ledvin bývá značně heterogenní a rozsah postižení je ovlivněn celou řadou patogenetických faktorů. Rozsah změn se navíc často mění, nejen s délkou trvání onemocnění či vlivem léčby, ale i zásahem řady dílčích více či méně známých činitelů. Dynamicky se měnící struktura kostní tkáně a složité patogenetické mechanismy, které stojí v pozadí těchto změn, se následně stávají terapeutickým problémem. Zejména, pokud si uvědomíme jejich provázanost s dalšími systémy v rámci prokázaného vztahu “ledvina-kost-céva” (2,4,5).

V prevenci rozvoje MBD-CKD hraje důležitou roli správná úprava koncentrací kalcia v extracelulární tekutině, korekce hyperfosfatémie, v indikovaných případech suplementace aktivního vitamínu D za prevence rozvoje syndromu overtreatment. Nemalou roli hraje i kontrola případné metabolické acidózy. Komplexní léčba by tak měla zajistit takové výstupní hodnoty ukazatelů fosfokalciového metabolismu, které by minimalizovaly výskyt mimokostních komplikací, zejména kardiovaskulárních a vedly k poklesu morbidity a mortality (1,6,7). Konečným cílem pro všechna léčebná opatření v rámci ovlivnění MBD-CKD je dosažení takových parametrů vnitřního prostředí, které by umožnily pokud možno “normální” kostní metabolismus, tedy stav, kdy se kost svojí strukturou a schopností remodelace co nejvíce blíží poměrům při absenci onemocnění ledvin. Samotná prevence MBD-CKD není zaměřená jen na správnou léčbu kostní patologie, ale zohledňuje i procesy související s poškozováním kardiovaskulárního systému a změny probíhající v endokrinním systému. Nejdůležitějším preventivním opatřením je udržení vyrovnané bilance fosfátů s omezením jejich příjmu, případně se snížením střevní resorpce pomocí fosfátových vazačů. Fosfor totiž hraje klíčovou roli v řadě patogenetických mechanismů kostní cévní nemoci (4,6,8). Aby tato opatření byla účinná, musí být zahájena včas. Všechny ostatní známé léčebné prostředky již jen mírní následky plně rozvinutého onemocnění.

Obrázek č.1. Tři základní komponenty minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin (4)



2. Komplikace chronického selhání ledvin

U pacientů s CHRS v PDL se vyskytuje celá řada komplikací souvisejících s výpadkem vylučovací a metabolicko-endokrinní role nativních ledvin a s vlastním dialyzačním léčením (2,9,10). V popředí stojí zejména kardiovaskulární komplikace, které jsou nejčastější příčinou morbidit a mortality těchto pacientů. CHRS má významný vliv na rozvoj aterosklerózy, což souvisí s přítomností celé řady RF. Mimo tradiční RF běžně se vyskytující v populaci (arteriální hypertenze, dyslipidémie, diabetes mellitus, hyperurikémie) k nim patří i „uremické toxiny“, vlastní dialyzační léčba, oxidační stres, porucha fosfokalciového metabolismu, renální anémie a další, tab. č.1 (5,11,12,13,14). Z kardiovaskulárních komplikací bývá nejčastější hypertrofie LK srdeční, arteriální hypertenze, získané chlopenní vady, arytmie a povšechná ateroskleróza zejména v koronárním řečišti a na tepnách dolních končetin.

Z dalších komplikací, mimo MBD-CKD, je nutno zmínit renální anémii, která bývá u CHRS téměř vždy přítomna. Etiologicky se jedná o sekundární chudokrevnost multifaktoriální příčiny s rysy anémie chronických chorob (15,16). Základní poruchou vedoucí k jejímu rozvoji je nedostatečná produkce erythropoetinu v peritubulárních fibroblastech kůry ledvin, a často snížená vnímavost prekurzorů červených krvinek k jeho účinkům. Druhou nejčastější příčinou bývá nedostatek železa. Krom dalších faktorů má důležitou úlohu zkrácené přežívání erytrocytů, přítomnost uremických toxinů a zásah do regulačních pochodů metabolismu železa např. vlivem hepcidinu. Dalšími častými komplikacemi u pacientů v PDL bývají poruchy gastrointestinálního traktu, hormonální změny, poruchy hemostázy či funkce leukocytů, defekty imunity, malnutrice (1,3,17).

Tabulka č. 1. Rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění u pacientů s chronickým onemocněním ledvin (1,7,17)

„Tradiční“ RF	Vyšší věk, mužské pohlaví, bílá rasa, menopauza, psychosociální stres, úmrtí na KV onemocnění v RA
Léčbou ovlivnitelné RF	Diabetes mellitus, dyslipidémie, kouření, arteriální hypertenze, abdominální obezita, nedostatek pravidelné fyzické aktivity, nadměrný příjem alkoholu
Renálně specifické RF	Malnutrice, uremické toxiny, oxidativní stres, zánětlivé stavy, hyperkoagulační stav, hypofibrinolýza, hyperhomocysteinémie
Léčbou ovlivnitelné, renálně specifické RF	Albuminurie/proteinurie, anémie, cévní kalcifikace, hypervolémie, poruchy metabolismu vápníku a fosforu

RF- rizikové faktory, KV- kardiovaskulární onemocnění, RA- rodinná anamnéza

3. Struktura kostní tkáně

Kostní tkáň se skládá z organické a anorganické matrix a kostních buněk. Organická složka matrix (osteoid) obsahuje kolagen, nekolagenní proteiny a kostní buňky. Anorganickou část matrix tvoří zejména minerální soli. Mikroskopicky se kostní tkáň dělí na tkáň kompaktní (kortikální) a trabekulární (trámčitou, spongiózní). Vnější část kostí je tvořena silnou kostí kortikální. Trabekulární kost je složena z houbovitě uspořádaných trabekul. Stran složení buněk a matrix jsou oba typy kostní tkáně přibližně stejné, ale funkce je odlišná. Trabekulární kost je ve srovnání s kostí kortikální metabolicky aktivní, zatímco kompaktní tkáň zastává mechanickou a ochrannou funkci skeletu. 80-90% objemu kompaktní kostní tkáně je kalcifikováno, zatímco v případě trabekulární tkáně je kalcifikace přítomna v rozsahu 20% (15,16,18,19). Kostní buňky představují asi 2% organické kostní matrix a jsou hlavním faktorem formace a resorpce. Kostní buňky dělíme na osteoblasty, osteocyty a osteoklasty.

Osteoblasty jsou jednojaderné buňky, jejichž hlavní funkcí je tvorba kostní tkáně → kostní formace. Vznikají z kmenových mezenchymových buněk. Pro diferenciaci osteoblastů je nejvýznamnější kateninová signální dráha Wnt/ β . Signální cesta je aktivována vazbou Wnt ligandu na receptory buněčné membrány. Po navázání dochází intracelulárně k inhibici enzymu GSK-3 β a vzestupu koncentrace beta-kateninu, který je poté translokován do buněčného jádra, kde se spojuje s transkripčními faktory regulujícími genovou expresi OPG (1,18,20,21,22,23).

Osteocyty vznikají z osteoblastů a produkují bílkoviny kostní matrix, především osteokalcin. Osteoklasty jsou velké mnohjaderné buňky, které obsahují od 4 do 20 jader. Hlavní funkcí osteoklastů je resorpce kolagenu kostní tkáně. Vznikají fúzí monocytů přes vývojové stádium preosteoklastů. Činnost osteoklastů je stimulována humorálním působkem RANKL uvolňovaným z osteoblastů. Organická složka-osteoid obsahuje různé typy kolagenů a nekolagenní proteiny. V organické matrix je nejvíce zastoupen kolagen. Nekolagenní proteiny (osteokalcin, osteonektin, fibronektin a další) představují asi 10 až 15% bílkovin kostní tkáně. Zhruba 1/5 nekolagenních bílkovin představuje osteokalcin, který je tvořen osteoklasty a je využíván mimo jiné pro hodnocení kostní formace (23,24,25).

4. Molekulární a buněčná podstata kostních změn při CHRS

Na úrovni buněčné a molekulární podstaty kostních změn má, jak bylo uvedeno, významnou úlohu systém RANK-RANKL, umožňující funkční interakci mezi oběma typy kostních buněk, tedy součinnost osteoklastů resorbujících a osteoblastů syntetizujících kostní matrix. RANKL je blízké příbuzný s cytokinem TNF, váže se na receptor RANK, čímž stimuluje vyžrávání a diferenciaci osteoklastů. RANKL může být kompetitivně vázán též na OPG. Zrání a funkce osteoklastů jsou tedy určovány poměrem mezi OPG/RANKL. Mezi další faktory ovlivňující tvorbu a funkci osteoklastů patří cytokiny TNF-1, IL-1, INF γ a prostaglandiny. Samy osteoklasty po ukončení funkčního období podléhají apoptóze (1,20,24,25,26).

Spřažený vztah mezi základními kostními buňkami, tedy vazba na receptor a na ligandu, může být pozměněn vlivem velkého množství známých i dosud neznámých faktorů. K dlouhodobě studovaným látkám zasahujících do tohoto systému patří OPG. Ten plní v buňkách hladké cévní svaloviny a v endoteliálních buňkách autokrinní funkci zajišťující přežívání buněk a jako přirozený decoy receptorů pro RANKL brání aktivaci osteoklastů. Jeho zvýšené koncentrace při chronické renální insuficienci bývají dávány do souvislosti s adynamickou kostní chorobou.

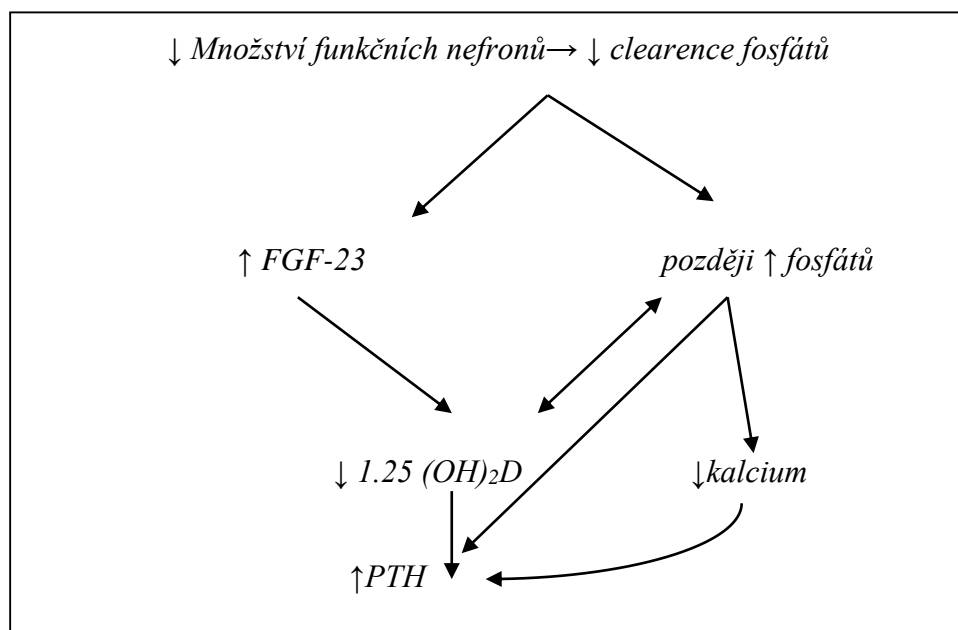
Kostní změny resp. obrat kostního metabolismu je dán reakcí na hormonální profil, cytokinovou „sít“ a mechanickou zátěž. Samotný proces remodelace probíhá v několika fázích: osteoklastická resorpce, zastavení resorpce (reversal), migrace pre-osteoblastů, jejich diferenciacie v osteoblasty a nakonec tvorba kostní matrix (osteoid, nemineralizovaná kost) a mineralizace. Následuje fáze klidového období kostní tkáně. Podstatné je, že v kterémkoliv okamžiku probíhá remodelace maximálně na 15 - 20% kostního povrchu (3,18,22).

K dalším neméně významným složkám vstupujícím do změn kostní remodelace patří FGF 23 (fibroblast growth factor), Klotho, kostní morfogenní proteiny, faktory podobné inzulinu a celé spektrum cytokinů (IL-1, IL-6, TNF). FGF-23 je cirkulující peptid produkovaný převážně osteocyty a osteoblasty (28,29,30). Jeho funkcí je kontrola fosfatémie s udržením hladin ve fyziologickém rozmezí. Ta se uskutečňuje prostřednictvím zvýšení fosfaturie – v buňkách proximálního tubulu se váže na receptor FGFR a co-receptor Klotho (inhibuje expresi kontrtransportéru pro fosfor), dále inhibicí exprese 1- α -hydroxylázy (snižuje syntézu kalcitriolu a střevní resorpci) a supresí PTH sekrece v příštítných těliscích. Koncentrace FGF-23 jsou u pacientů s CHRS výrazně zvýšeny. Faktory stimulace sekrece FGF-23 jsou dále kalcitriol, zvýšený příjem fosfátů v potravě a hladiny PTH a s-kalcémie.

Klotho je transmembránový protein produkovaný osteocyty, který funguje jako ko-receptor pro FGF-23 receptor. Exprese Klotho klesá s progresí CKD a pokles Klotho koreluje s nárůstem FGF-23 (8,16,31,32,33).

Nový pohled na patogenezi sekundární hyperparathyreózy tedy zahrnuje časné změny hladin FGF-23 s následnou retencí fosfátů- označované jako revidovaná „trade-off“ hypotéza, obrázek č. 2, (34,35,36).

Obrázek č. 2 Moderní pojetí „trade-off“ hypotézy



Klíčovými faktory patogeneze MBD-CKD jsou deficit D hormonu, hyperfosfatémie a deficit kalcitriolu. V každém stupni CHRI je tedy nutné myslet na probíhající kostní změny, monitorovat je a dle stupně postižení nemocné buď ponechat v trvalé dispenzarizaci či zahájit adekvátní terapii. Při opomenutí těchto změn dochází k poškození skeletu, cév a měkkých tkání (34,35).

5. Mechanismy regulace kostního metabolismu

V regulaci kostního metabolismu se uplatňují základní hormonální působky, lokální regulátory a mechanické faktory ovlivňující kostní remodelaci a apoptózu. Základním klíčovým faktorem kostní regulace je PTH (37,38,39,40,41). PTH je polypeptid tvořený v buňkách příštítných tělísek. Běžně se vyskytují v populaci dva páry PT na zadní straně laloků štítné žlázy. V lokalizaci a počtu PT existuje značná variabilita, uvádí se, že až 20% populace má atypické uložení PT- viz kapitola vyšetřovací metody MBD-CKD. Hlavním regulačním faktorem syntézy a sekrece PTH je plazmatická koncentrace ionizovaného kalcia. Při normální funkci ledvin a při poklesu sCa dochází ke zvýšení sekrece PTH a v důsledku toho ke zvýšení kostní resorpce, vzestupu kalcémie, fosfaturie a k poklesu fosfatémie. Při chronické dlouhotrvající hypokalcémii (sekundárně při CKD) nastává v buňkách PT řada regulačních pochodů: snižuje se nitrobuněná degradace PTH, zvyšuje se exprese genu pro PTH a dochází ke zvýšení proliferační aktivity PT. Hyperkalcémie a vzestup hladiny kalcitriolu inhibují expresi genu pro PTH a snižují proliferaci buněk PT, což vede k poklesu syntézy a sekrece PTH. Tvorba a sekrece PTH je rovněž regulována plazmatickými koncentracemi kalcitriolu a fosforu. Kalcitriol zvyšuje tvorbu a sekreci PTH, což jsou dva zcela odlišené, na sobě nezávislé děje. Vzestup sP stimuluje expresi genu pro PTH, sekreci PTH a proliferaci buněk PT.

Hlavním cílem působení PTH je kost a ledvina. V kostní tkáni působí na osteoklasty nepřímým, vlivem RANK-L. V ledvinách je jeho účinek přímý a to stimulací tubulární reabsorpce kalcia, inhibicí reabsorpce fosfátů a stimulací syntézy kalcitriolu. Další významné hormonální působky s vlivem na kostní tkáň jsou kalcitriol, kalcitonin, dále pohlavní hormony, thyreoidální hormony, růstové faktory a IGF, prolaktin, neuropeptidy a leptin. Z lokálních faktorů jsou to $TNF\alpha$, BMP, PDGF, CSF, ikosanoidy (30,31,40,41,42).

6. Renální osteopatie a její typy

Termín renální osteopatie, byl dříve užíván jako obecné označení celého komplexu odchylek souvisejících s poruchou fosfokalciového metabolismu, zahrnujících nemoc kostí i příštítých tělísek. Dnes je rezervován pouze pro popis kostních změn při této chorobě. Kostní komponenta MBD-CKD (tab. č. 2) představuje heterogenní skupinu pěti základních forem postižení (osteitis fibrosa, mírná forma renální osteodystrofie, smíšená forma, osteomalacie, adynamická forma renální osteodystrofie), jejichž procentuální zastoupení se v průběhu let s vývojem diagnostiky a léčby MBD-CKD mění (4). Přesná data o prevalenci různých typů renální osteopatie nejsou přesně známa. Narůstá incidence ABD, snižuje se výskyt sekundární osteomalacie. Frekvence sekundární hyperparathyreózy se pohybuje mezi 30 až 70%, smíšená forma MBD-CKD představuje asi 10% kostních změn, výskyt čisté osteomalacie je popisován kolem 5%. Hliníková osteopatie, dříve poměrně častá klinická jednotka, se dnes vyskytuje zcela vyjímečně (15,43,44).

Jednotlivé typy RO se liší svým vztahem k závažným klinickým projevům, které ovlivňují nejen kvalitu života pacientů, ale především jejich prognózu. Současně ale prediktivní hodnota hlavních laboratorních ukazatelů kostního metabolismu a i dalších metod (např. hodnocení kostní denzity) není pro jednotlivé formy RO příliš vysoká. Kostní denzitometrie umožní sice posoudit případný stupeň ztráty kostního minerálu, ale vzhledem k patogenezi RO nemusí být kostní minerál snížen. Hlavní nevýhodou hodnocení kostní denzity pomocí DEXA vyšetření je nemožnost rozlišení mezi trabekulární a kortikální kostí, přičemž při RO je relativně zachována trabekulární kost, zatímco kortikální kost je výrazně redukována. Proto při selhání ledvin riziko fraktur nekoreluje s výsledky měření kostní denzity pomocí DEXA vyšetření. U pacientů s CHRI se k posouzení míry úbytku kostní tkáně v rámci DEXA vyšetření doporučuje používat Z-skóre (kostní denzita vztažená k věku, pohlaví, rase) a rozdělit kostní denzitu do dvou kategorií, a to normální resp. vysoká kostní denzita a nízká kostní denzita (4,46,46). Zlatým standardem diagnostiky MBD-CKD však zůstává kostní biopsie s kostní histomorfometrií.

Tabulka č. 2. Typy kostních změn při CKD a rozsah kostního obratu

Typ MBD-CKD- osteodystrofie	Kostní obrat
Sekundární hyperparathyreóza- mírná forma	zvýšený
Sekundární hyperparathyreóza- pokročilá forma	vysoký
Smíšená forma	rozdílná úroveň
Osteomalacie sekundární při CKD	nízký
Adynamická forma MBD-CKD	velmi nízký

RO je pouze jednou ze tří nedělitelných složek MBD-CKD a její diagnózu lze určit pouze bioptickým vyšetřením, proto také KDIGO skupina podmínila její stanovení výhradně histomorfometrickým průkazem (48,49). Rovněž zavedla **TMV klasifikaci** (tab. č. 3), při které jsou vyšetřovány tři parametry: kostní obrat, mineralizace a objem kostní hmoty (1,15).

Tabulka č.3. TMV klasifikace

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

Kostní obrat je určen aktivitou osteoklastů a osteoblastů, mineralizace znamená ukládání vápníku a fosforu do vytvořené kostní matrix a kostní hmota je posuzována nejen podle objemu kosti, ale také podle síly kortikalis a současně podle porozity kosti. Každá z výše uvedených složek může být normální, zvýšená či snižená, resp. normální či abnormální. Histologické vyšetření odvápněných i neodvápněných vzorků je zaměřeno zejména na stupeň demineralizace kostních trámců, relativní objem kostního trámce, objem trabekulární kosti, zhodnocení šířky kostních trabekul, stanovení počtu osteoklastů na jednotku spongiózní kosti, určení procenta osteoidních lemů, tloušťky kostního trámce a tloušťky osteoidu. Dále je možné stanovení dynamických kostních parametrů (průměr kostní formace, frekvence aktivace, čas mineralizace) po předchozím dvojitým značení histologických vzorků tetracyklinem (49,50,51).

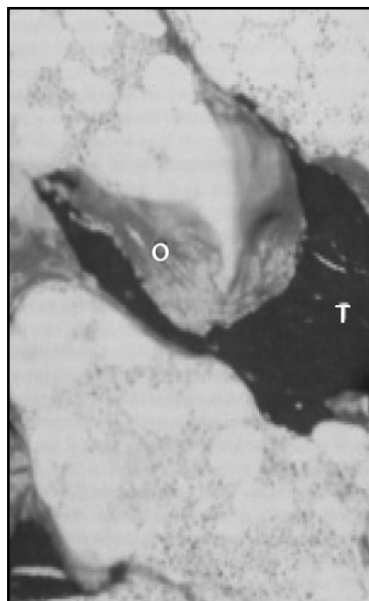
RO zahrnuje různé podtypy choroby s podstatnými rozdíly v etiologii, někdy i v klinickém obraze, ale zejména s rozdílným přístupem k léčbě. V dlouhodobém horizontu se jednotlivé typy RO vyskytují prakticky u všech dialyzovaných nemocných. Spektrum kostních změn je ovlivněno celou řadou faktorů, zejména délkou dialyzačního léčení, věkem, přítomností diabetu mellitu, typem dialyzační techniky, farmakoterapií a dalšími doposud méně známými faktory (11,52). Bioptické vyšetření vzorků kostí a histomorfometrická diagnostika (49,50), (tab. č.4), umožňují kvantifikovat jednotlivé složky i projevy kostní choroby a přesně stanovit typ postižení. To je významné zejména s ohledem na nastavení terapie, která se určuje pouze nepřímo, a někdy i nepřesně, dle některých laboratorních parametrů.

Tabulka č. 4. Indikace k histomorfometrickému vyšetření

Nejednoznačné laboratorní nálezy
Nevysvětlitelné bolesti skeletu, fraktury kostí
Progredující závažné kalcifikace
Nevysvětlitelná s-hyperkalcémie
Podezření na akumulaci prvků (dříve aluminium)
Před terapií bisfosfonáty
Před PTE- při nesouhlasu laboratorního a klinického obrazu

Kostní choroba s převahou změn typu **fibrózní osteodystrofie** (obrázek č. 3) vzniká v přímé souvislosti s HPT sekundárního typu. Charakterizuje ji různý stupeň osteoklastické resorpce s usurací a následnou destrukcí kostních trámců za současné fibrotizace mezidřeňových prostor a kompenzatorní novotvorby kostní tkáně. Patogeneze sHPT souvisí se změněnou úlohou PTH v organismu při pokročilé poruše funkce ledvin. PTH může ke korekci přítomné hypokalcemie využít jen kostní resorpci a současná hyperfosfatémie a nízká biologická dostupnost kalcitriolu vedou k rozvoji bludného kruhu opakovaně stimulující PT k jeho zvýšené tvorbě a sekreci (5,29,36).

Obrázek č. 3. Histomorfometrický obraz fibrózní osteodystrofie s převahou osteomalacie, O-osteoidní lemy, T-kostní tkáň mineralizovaná, zvětšení 120x



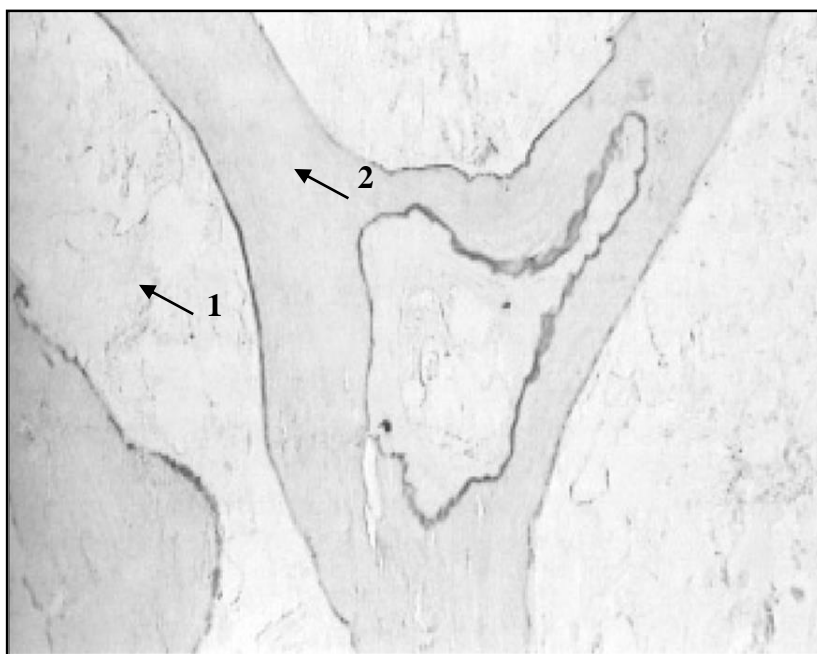
Rezistence skeletu na PTH představuje výchozí faktor poruchy osteoresorpce na úrovni lokálních působků a jejich receptorů, kdy vzniká nerovnováha v systému RANK-L a receptorů pro OPG. Zvýšená koncentrace OPG u pacientů v dialyzační léčbě může

kompetitivně blokovat RANK-L původně směřující do spojení s vlastním receptorem RANK. Z tohoto důvodu může docházet k inhibici osteoklastogeneze. Dalším faktorem je snížená funkční potence cirkulujícího PTH a pokles receptorů pro PTH při jeho trvale vyšší hladině a nízké koncentraci vitamínu D3 (48,53).

Druhou nejčastější formou kostní choroby je **osteomalacie**, pro kterou je typický nálezn osteoidních lemů na kostním povrchu jako obrazu nemineralizované periferní části kostních trámčů.

U třetího typu RO, **adynamické kostní choroby** (obrázek č. 4), nejenže chybějí osteoblasty a osteoklasty, ale není přítomen ani osteoid. Tetracyklinem se neoznačí prakticky žádné kostní povrchy („mrtvá kost“). V současné době stoupající incidence adynamické formy nemoci je dávana do souvislosti s délkou dialyzačního léčení, nárůstem prevalence diabetu, nižšími koncentracemi PTH, věkem pacientů, vyšší zastoupení bývá též u pacientů léčených peritoneální dialýzou (22,41,45,55,56).

Obrázek č. 4. Adynamická forma MBD-CKD, chudá kostní tkáň, fibrotizace dřevných prostor (1), řídké kostní trámce (2), zvětšení 120x



Nejčastější formou kostní nemoci je **typ smíšený**, vyskytující se až u 80% dialyzovaných nemocných, který je dán kombinací fibrózní osteodystrofie a osteomalacie.

U pacientů v PDL není jednou určený typ MBD-CKD neměnný, může dojít k přechodu jedné formy do jiného histologického obrazu vlivem řady okolností. Delší dialyzační léčba redukuje v kostní tkáni počty osteoblastů a snižuje úroveň kostní remodelace. U některých pacientů zvýšená hodnota iPTH stimuluje progenitory osteoblastů k diferenciaci do fenotypu buněk s vlastnostmi fibroblastů, které se hromadí v peritrabekulárním prostoru a podmiňují rozvoj dřevné fibrózy. iPTH rovněž podporuje syntézu membránového proteinu RANKL na osteoblastech a inhibuje expresi OPG s následnou aktivací osteoklastů a posílením osteoresorpce (22,48,57).

7. Cévní složka MBD-CKD

Cévní složce kostní nemoci je v dnešní době věnována velká pozornost vzhledem k dominující problematice kardiovaskulárních komplikací u pacientů s CHRI (20,21). Je prokázáno, že samotné chronické onemocnění ledvin je spojeno s vysokou kardiovaskulární úmrtností mnohonásobně převyšující mortalitu populace bez renálního postižení, kterou nelze vysvětlit pouhou přítomností klasických komorbidit a rizikových faktorů, tab. č. 5.

Tabulka č. 5. Faktory spojené se vznikem vaskulárních kalcifikací při CHRS

Oxidační stres	Fosfokalciová porucha
Adynamická kostní nemoc	Diabetes mellitus
Genetické polymorfismy (fetuin)	Medikace- kalciové vazače, Warfarin
Chronický zánět (TNF α , OPG)	Délka dialyzační léčby
Dyslipidémie	Věk
Hyperleptinémie	Pohlaví

Při klesající funkci ledvin se mění účinek hormonů a látek účastnících se řízení systémové a lokální regulace kostní remodelace. V důsledku působení těchto složitých a často protichůdných dějů vzniká struktura kosti odrážející rychlost kostního obratu a ukazující na aktuální poměr mezi novotvorbou resp. odbouráváním. Kostní tkáň patogeneticky změněná vykazuje nedostatečnou schopnost vyrovnávat změny tělesné bilance minerálů. V případě vysokoobratových forem renální osteopatie se nestačí rychle uvolněné fosfáty a kalcium zabudovávat zpět do kosti, na druhé straně při nízkoobratové osteopatii

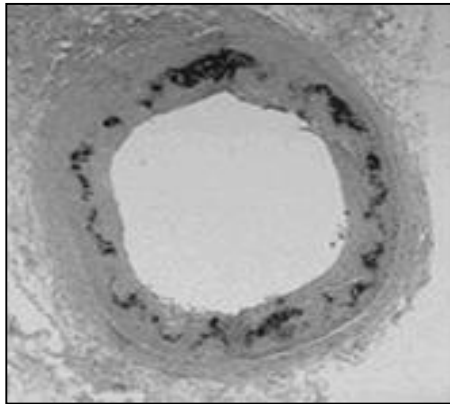
chybí schopnost kosti ukládat minerální látky do kostní matrix. Homeostázu obou minerálů ovlivňuje dále množství fosfátů a kalcia obsaženého v dietním příjmu, užití vazačů fosfátů, léčba sHPT a kvalita dialyzační léčby. V případě pozitivní bilance kalcia a fosfátů při poruše kostního metabolismu může docházet k depozici těchto minerálů do jiných míst (8,58,59).

Naopak jsou známy i faktory, které mohou zpomalit kalcifikační proces. Role v inhibici kalcifikace jsou přisuzovány osteoprotegerinu, osteopontinu, fetuinu A, HDL cholesterolu či kostním morfogenním proteinům. Důležitá je také vzájemná vazba mezi chronickým zánětem (v rámci MIA syndromu – malnutrice, chronický zánět a ateroskleróza) a kalcifikacemi.

Postižení cév pacientů se selháním ledvin je však multifaktoriální a zahrnuje nejen změny v důsledku depozice kalcia a fosforu, ale i souběžnou komplexní dysfunkci endotelu. Při klesající funkci ledvin má nerovnováha bilance minerálů, zejména kalcia a fosforu, za následek jejich ukládání na jiných místech, predilekčně v měkkých tkáních s rozvojem cévní komponenty minerálové a kostní nemoci. Ta vlivem funkčních a morfologických změn kardiovaskulárního aparátu významně zhoršuje prognózu pacientů s chronickým onemocněním ledvin (9,33,59,60). Postižení cévní složky se při snížené renální funkci rozvíjí poměrně rychle a přítomnost kalcifikací tento proces ještě akceleruje. Samotné tepenné kalcifikace se liší nejen svojí cévní a anatomickou lokalizací, ale jejich vznik je ovlivněn i věkem pacientů a stádiem CHRI. Pro aterosklerózu je typická fokální anatomická lokalizace s predilekčním postižením intimy a s distálními, ischemickými důsledky tohoto procesu. Pro arteriosklerózu jsou příznačné difúzní anatomické změny s postižením medie cév, jejichž následkem pak bývá vyšší tuhost cév, nižší poddajnost cévní stěny a zvýšený afterload srdce. Podíl obou typů kalcifikací na celkovém obraze uremické

vaskulopatie se u jednotlivých pacientů liší (obrázek č.5). Zatímco u mladších nemocných se setkáváme častěji s projevy arteriosklerózy, ve vyšším věku se přidávají změny aterosklerotické. Obecně lze říci, že čím je pacient déle veden s diagnózou CHRI a má vyšší věk, tím více se u něj setkáme s kalcifikačními změnami cév (7,35,60,61).

Obrázek č.5. Uremická arteriolopatie- arterioskleróza s difúzním postižením medie cévy, zvětšení 20x



Cévní kalcifikace významně přispívají k tomu, že mortalita dialyzovaných pacientů je ve srovnání s běžnou populací 10-30 krát větší. Představují marker již existujícího cévního a srdečního poškození a přispívají i k dalším orgánovým komplikacím. Regrese již vytvořených kalcifikací není možná.

V běžné klinické praxi se pro detekci cévních kalcifikací používá rtg vyšetření, nejčastěji snímek rukou, předloktí, boční snímek páteře (L1-L4 oblast). Samozřejmostí je došetření klinických obtíží pacienta, které by mohly souviset s cévní složkou MBD-CKD, zejména ischemických projevů na orgánech. K posouzení rozsahu kalcifikací se využívá celá řada skórovacích systémů, např. podle Adragao či Kauppila, počítačová tomografie umožní i kvantifikaci obsahu kalcia. Toto tzv. koronární kalcifikační skóre u pacientů s CHRS, na rozdíl od běžné populace, nekoreluje s angiografickými nálezy.

Důvodem je depozice kalcia současně v intimě a medii, bez možnosti rozlišení přesné lokalizace (2,53,62).

8. KDIGO doporučení v rámci MBD-CKD

V roce 2009 byla skupinou expertů publikována doporučení pro diagnózu, evaulaci, prevenci a léčbu MBD-CKD (49,63). Doporučení vycházejí z různé síly důkazů provedených studií (A- vysoká kvalita až D velmi nízká kvalita důkazů). Pro diagnostiku kostních změn (bez uvedení síly důkazů) se v KDIGO doporučení uvádí provedení kostní biopsie u pacientů s nevysvětlitelnými frakturami, trvajících kostními bolestmi, nevysvětlitelnou hyperkalcémií či hypofosfatémií, při podezření na aluminiovou toxicitu či před terapií bisfosfonáty. U pacientů s CHRS jsou doporučeny kontroly sérového iPTH nebo kostního izoenzymu ALP jako markerů hodnotících úroveň kostní přestavby (2B). U pacientů s chronickým selháním ledvin (tedy KDIGO G5) a s prokázanou MBD-CKD navrhuji (síla důkazů 2B), aby nebylo testování MBD prováděno rutinně, protože neumožňuje stanovit riziko zlomeniny, jak je tomu v běžné populaci, ani určit typ renální osteodystrofie. U pacientů s CHRS se doporučuje opakované měření PTH v séru a kostní frakce ALP jako základních markerů hodnocení obratu kostní tkáně (2B).

KDIGO dále doporučují (ale již s nižší silou důkazů 2C), aby se pravidelně měřily markery obratu syntézy kolagenu, např. C-terminální propeptid prokolagenu typu I, C terminální telopeptid kolagenu typu I, pyridinolin nebo deoxypyridinolin. Doporučení současně zmiňují i patologické parametry kostního obratu, mineralizace či objemu kostní tkáně. Nárůst středního objemu osteoidu, tloušťky osteoidu či opoždění mineralizace naznačuje špatný směr kostních změn, stejně jako rozvoj osteomalacie či smíšené kostní

choroby. Jako příznivý vývoj lze naopak hodnotit přechod ze smíšené formy RO k normální, či vysokoobratové (4,49,64).

Stran frekvence monitorace základních parametrů MBD-CKD (49) jsou pro pacienty s CHRS v případě sérových koncentrací kalcia a fosforu doporučovány kontroly co 1-3 měsíce, v případě iPTH co 3-6 měsíců (tab. č. 6). U pacientů se změnou medikace či prokázanými biochemickými abnormalitami jsou ale nutné častější kontroly k posouzení efektu případných léčebných opatření.

Tabulka č.6. Srovnání KDOQi a KDIGO cílových hodnot laboratorních ukazatelů

	KDOQi 2003	KDIGO 2009
sCa (mmol/l)	2.10-2.37	referenční mez laboratoře
sP (mmol/l)	1.13-1.78	smížení do referenční meze laboratoře
PTH (pg/ml)	150-300	2-9 násobek ref. rozmezí, dynamická hodnota

9. Vyšetřovací metody MBD-CKD

Diagnóza MBD-CKD je výsledkem komplexního rozboru klinických obtíží pacienta, laboratorního a rentgenového obrazu, scintigrafického event. histologického vyšetření skeletu a zobrazovacích metod PT. Laboratorní vyšetření jsou v rámci PDL prováděna rutinně 1x měsíčně, umožňují tak dostatečně posouzení dynamiky a změn v čase. Rutinní analýza zahrnuje vyšetření sérového kalcia, fosforu, magnésia, intaktního PTH a celkové

hodnoty alkalické fosfatázy. K přesnějšímu posouzení změn by měly být vyšetřeny i kostní frakce ALP, hydroxyderiváty vitamínu D, ionizované Ca, tartarát rezistentní alkalická fosfatáza, deoxypyridinolin, prokolagen I-karboxy telopeptid, osteokalcin nebo prokolagen I-karboxy peptid. Vzhledem k druhotné kumulaci u pacientů s CHRS není vhodné vyšetřovat široké spektrum kostních biochemických markerů, rovněž stanovení kvantitativní kalciurie a exkreční frakce fosfátů při zbytkové diuréze nemá opodstatnění (15,29,65,66). Radiologická vyšetření skeletu by měla být provedena u všech pacientů k detekci cévních komplikací v rámci MBD-CKD. Základem bývá boční snímek aorty, skiagram překloktí a hrudníku. Orientačně umožní skiagramy i hrubší posouzení přítomnosti demineralizace skeletu nebo vzácných osteonekróz, kostní denzitometrie pak vyhodnotí stupeň ztráty kostního minerálu. Pokles BMD u obecné populace predikuje riziko fraktur, tento vztah ale není u pacientů CKD ve stádiu 3-5 jednoznačně prokázán. Přesto mají pacienti s CHRS riziko fraktur 3-4 krát vyšší než běžná populace. Špatná kvalita kosti je totiž dána nejen nízkou mineralizací, ale i patologickým uspořádáním kostních trámců (20,24,67).

Rentgenologické projevy RO jsou často opožděny za klinickými a laboratorními známkami onemocnění. Z rentgenologického hlediska je možno rozlišovat patologické změny na skeletu typu sekundární osteoporózy, RO nebo osteomalacie. Pro sHPT jsou charakteristické kostní resorpce, skleróza a hnědé nádory. Pokročilé formy bývají označovány jako osteitis fibrosa cystica. Hnědé nádory jsou dutiny v kostech způsobené nadměrnou osteoklastickou resorpcí, tvorbou vazivové tkáně a zkapalněním hemoragických nekrotických hmot. Na skiagramu imponují obrazem kostních cyst. Rtg projevy osteomalacie jsou mnohem méně charakteristické než u sHPT. Za jediný patognomický nález u osteomalacie jsou považovány Looserovy zóny přestavby (pseudofrakturny) v podobě

radiolucenčních proužků kolmých k dlouhé ose kosti. Diferenciálně diagnosticky je nutné je odlišit od únavových osteoporotických fraktur (14,22,68).

Jak vyplývá z etiopatogeneze MBD-CKD, kostní minerál může být snížen či vykazovat normální hodnoty. U CHRS bývá relativně zachována trabekulární kost, naopak bývá snížen objem kortikální kosti. Pokud je indikováno DEXA vyšetření, doporučuje se korelace se Z-skóre- tedy posouzení denzity k věku, pohlaví a rase. Výsledné hodnocení denzity může být normální resp. mohou být hodnoty kostní hustoty vysoké či nízké. Metody vyšetření příštítných tělísek doznaly v poslední době výrazného rozvoje. Základním screeningovým vyšetřením k verifikaci adenomu či hyperplazie PT je ultrasonografie, která umožňuje posouzení velikosti, struktury či lokalizaci PT. Další zobrazovací metodu představuje scintigrafie pomocí ^{99m}Tc -MIBI, často s výhodou využitelná v případě atypické lokalizace adenomu či výskytu akcesorního PT. U pacientů se sHPT bývají sonografie spolu se scintigrafií PT doporučovány jako vstupní zobrazovací metody (33,40,70).

Scintigrafie skeletu je metoda mapující funkční metabolické změny, které předcházejí změnám anatomickým. Statická i dynamická scintigrafie nepřímo odráží úroveň kostního metabolismu a obratu. Z dalších zobrazovacích metod lze zmínit počítačovou tomografii s aplikací KL, nukleární magnetickou rezonanci či elektronovou počítačovou tomografii (33,40,69,70,71,72).

10. Histomorfometrie kostní tkáně

Histomorfometrie je histologická metoda, umožňující kvantifikovat, resp. metamatickou veličinou popsat jednotlivé složky mikroskopického obrazu. Ty lze popsat absolutními hodnotami (např. šířka trabekul) nebo je možné stanovit jejich procentuální zastoupení v mikroskopickém vzorku. Základním principem histomorfometrických metod je promítnutí kalibrovaného rastru- síťky (např. v okulárním mikroskopu) na zobrazený histologický obraz. Podle něj je tak možné vypočítat plochu pozorované obrazové části nebo její obvod. Vzorky kostní tkáně se získávají biopsií nejčastěji ze spina iliaca posterior superior. Výkony se provádějí v LA pomocí trepanu, nejčastěji v ambulantním režimu. Komplikace nebývají časté a zahrnují tlak či bolestivost v místě odběru event. rozvoj hematomu. Velmi vzácné jsou poškození regionálního nervu, zánět či perforace střeva (48,52,54,73,74).

K účelům morfometrie se odebraný cylindrický vzorek kostní tkáně musí dále zpracovávat tak, aby se architektonika vzorku neměnila. Vzorek nelze odvápnit, protože by došlo k distorzi stavby kosti. Většinou se vzorek kostní tkáně konzervuje v 70% alkoholu, poté se odvodňuje a pak se zalévá do metyl-metakrylátu, který pomalu prostupuje tkání a tuhne do tvrdosti kosti, což je důležité pro proces krájení vzorku. Speciální nůž poté krájí vzorky kostní tkáně, které zůstávají nedekalcifikované a nedeformované a následně se histomorfometricky hodnotí celá řada statických a dynamických parametrů. Dynamické parametry vypovídají o rychlosti mineralizace kostní tkáně, kdy se v mikroskopickém preparátu hodnotí vzdálenosti dvou mineralizovaných čar značených nejčastěji tetracyklinem, který fluoreskuje v ultrafialovém světle mikroskopu. Histologický obraz

a histomorfometrická měření jsou jediné metody, které umožňují nahlédnout na kvalitu kostní tkáně a kvantifikovat ji. Kostní biopsie rovněž umožňuje získat představu o metabolické aktivitě kostní tkáně na buněčné úrovni. Posoudí rovněž hodnoty obratu kostní formace, aktivační frekvenci a úroveň resorpce i mineralizace. Je využívána nejen u pacientů s MBD-CKD- viz KDIGO doporučení, ale i při atypicky probíhajících osteoporózách, při osteomalácii, v rámci hodnocení efektu léčby, či při zavádění nových léčebných metod (4,15,73).

11. Klinický obraz MBD-CKD

Renální osteopatie bývá často zcela bezpříznaková nebo může být její klinická manifestace ovlivněna řadou sekundárních změn, jakými jsou sekundární osteoporóza, amyloidóza. Potíže pacienta mohou být také modifikovány souběžně přítomnou neuropatií, poruchami výživy či dalšími komorbiditami. Většina symptomů RO se objevuje v pozdější fázi choroby a je spojena s muskuloskeletálním systémem. Bolesti kostí se objevují zpravidla jako první příznak onemocnění, obvykle mají neurčitý a difúzní charakter s častějším výskytem v bederní a pánevní oblasti a dolních končetinách. Někdy je pro pacienta obtížné bolest lokalizovat. Plně vyjádřený klinický obraz zahrnuje různé stupně intenzity bolesti kostí, hlavně difúzního charakteru, pruritus, svalovou slabost, opakované fraktury kostí, dále ruptury šlach, extraoseální kalcifikace či fenomén kalcifylaxe, zahrnující vaskulopatii arteriol s nekrózami kůže a podkoží (1,15,16,17,19).

Pruritus bývá spojen s mikrodepozity vápenatých solí v kůži. Kalcifikace na spojivce a v rohovce vyvolávající syndrom „červených očí“ mohou být přítomny při akutní těžké hyperkalcémii. Ektopické kalcifikace kůže a podkoží působí bolestivost

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.

Déletrvající metabolicky aktivní sHPT může být provázena poklesem tělesné výšky z komprese obratlů a katabolického působení PTH. Deformity skeletu a retardace růstu jsou typickými projevy RO v dětském věku. Dlouhodobě neléčená sHPT může měnit fyziognomii nemocných, vč. obličejové části s rozvojem hyperostotických změn kalvy a přítomnosti tzv. „hnědých nádorů“. Deformity obličeje a defektní trup bývají součástí Saglikerova syndromu, provázeného nízkým vzrůstem, kloubními deformitami a neurologicko-mentálními poruchami (75,76,77).

12. Léčebné možnosti MBD-CKD

Léčebné možnosti MBD-CKD doznaly v posledních letech nebyvalého rozvoje při poznání detailů patogeneze kostní choroby a umožnily posunout terapii až na úroveň ovlivňování funkce receptorů. Hlavní součásti léčby MBD-CKD zasahují nejen do jednotlivých složek této poruchy, ale i do jednotlivých patogenetických mechanismů a aktuálně se mění podle stupně poruchy renální funkce (tab. č. 7). Nejdůležitějšími terapeutickými cíli je zabránit úbytku kostní hmoty, omezit hyperplázii příštitných tělísek a zabránit vzniku kalcifikací, progresi aterosklerózy a dysfunkci kardiovaskulárního aparátu. Základní léčebné prostředky ovlivňují jednotlivé složky fosfokalciového metabolismu - zvýšenou hodnotu fosfátů a parathormonu, deficit kalcitriolu a hypokalcémii. Základem je posloupnost farmakoterapeutických postupů s důrazem na prevenci rozvoje MBD-CKD (65,78,79,80).

Tabulka č. 7. Základní léčebné možnosti v rámci MBD-CKD

1. dostatečná dialyzační léčba
2. dieta s omezením fosforu
3. vazače P v zažívacím traktu
4. vitamín D, aktivní metabolity vitamínu D
5. Parathyreoidektomie

Fosfor je základní uremický toxin a cílená kontrola sérové fosfatémie musí být prvním terapeutickým postupem u dialyzovaných pacientů. Především u anurických nemocných chybí renální vylučování fosfátů do moči (které u zdravých osob tvoří až 2/3 eliminace) a při nedodržování nízkofosfátové diety je následná hyperfosfatémie hlavním rizikovým faktorem kardiovaskulárních komplikací. Větší eliminaci fosfátů lze dosáhnout prodloužením délky dialýz či častějšími výkony, event prováděním hemodiafiltrací a užitím GIT vazačů fosfátů. Vazače je nutno užívat s jídlem, neboť svými fyzikálně chemickými vlastnostmi brání absorpci fosforu z duodena. Dříve užívané kalciové vazače jsou na podkladě nových poznatků nahrazovány nekalciovými, neboť se podílely na rozvoji extraoseálních kalcifikací a jsou kontraindikovány u pacientů s adynamickou kostní chorobou. Příkladem nových vazačů je sevelamer hydrochlorid, který snižuje fosfatémii s minimálním vlivem na kalcémii, současně má příznivý metabolický dopad na lipoproteiny. Dalším je lanthan karbonát, který je stejně účinný jako kalcium karbonát v řízení fosfatémie, ale při možnosti nižšího dávkování a bez rizika hyperkalcémie a rozvoje vaskulárních kalcifikací. Nekalciové vazače fosfátů mají celkově velmi malý vliv na změny

kalcémie. Bývá u nich i menší riziko nízkých hladin PTH, které mají vliv na rozvoj adynamické formy kostní choroby (27,34,35,81,82,87).

U pacientů s CHRS se zvýšenou nebo stoupající hladinou PTH nad doporučené hodnoty se zahajuje léčba kalcitriolem nebo analogy vitamínu D, kalcimimetiky nebo jejich kombinací (dle KDIGO doporučení 2B). Selektivní aktivátor VDR – parikalciol má nižší riziko hyperkalcémie a hyperfosfatémie v porovnání s kalcitriolem, na čemž se podílí nižší resorpce Ca a P z GIT. Rovněž stran mortalitních dat jsou výsledky příznivější pro parikalciol (80). Studie IMPACT-SHPT sledovala markery kostního a minerálového metabolismu u dialyzovaných pacientů se sHPT a porovnávala dva režimy léčby sHPT- parikalciol vs. cinacalcet s fixní malou dávkou vitamínu D. Primárním cílem bylo dosažení průměrné hodnoty iPTH v rozmezí 150-300 pg/ml během 21. až 28. týdne. Terapií tohoto cíle dosáhlo 57,7% pacientů, kterým byl podáván parikalciol i.v. vs 32,7% pacientů užívajících cinacalcet, resp. 54,4% pacientů užívajících parikalciol p.o. oproti 43,4% užívajících cinacalcet (14,16,83,84).

Vitamin D a jeho suplementace u pacientů s CKD má vliv nejen na supresi PTH, ale i na redukci albuminurie, snížení TK a redukci hypertrofie LK a snad i na rozvoj vaskulárních kalcifikací. Kalcimimetika zastoupená cinacalcetem zvyšují senzitivitu calcium-sensing receptoru (CaSR) v PT ke kalciumu a přes tento receptor redukuje sekreci PTH i hyperplázii PT. Dle studie EVOLVE nebyl ale vliv kalcimimetik na snížení KV rizika u dialyzovaných pacientů prokázán (4,63,84).

KDIGO doporučení uvádějí pro pacienty s CHRS cílové koncentrace fosforu v séru co nejbližší fyziologickým koncentracím (2C), s menší silou důkazů (2D) doporučují rovněž udržení fyziologických koncentrací kalcia. Dialyzační roztok by měl obsahovat 1.25-1.5mmol Ca/l dialyzačního roztoku (2D). Stran vazačů fosfátů se doporučuje jejich zařazení

do chronické medikace (2B) s tím, že kalciové vazače by měly být omezeny u pacientů s kalcifikacemi, adynamickou osteopatií či nízkou koncentrací iPTH (2C). Dietní opatření zmiňují omezení fosforu v potravě (2D) a při hyperfosfatémii navýšení dialyzační dávky (2C), (49,85,86,87).

II. PRAKTICKÁ ČÁST

13. Cíle dizertační práce

1. V selektované skupině dialyzovaných pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem provést komplexní histomorfometrické vyšetření vzorků kostní tkáně se stanovením statických a dynamických parametrů.
2. Vyhodnotit výsledky histomorfometrického vyšetření k vybraným laboratorním parametrům kostního metabolismu MBD-CKD.
3. Vyhodnotit výsledky histomorfometrického vyšetření ve vztahu k věku, pohlaví, délce dialyzační léčby a DEXA vyšetření.
4. Zavedení metody do praxe.

14. Statistické metody

Statistické zpracování bylo provedeno prostřednictvím statistického softwaru IBM SPSS Statistics 22. Data byla popsána ukazateli popisné statistiky. Shapiro-Wilkovými testy normality bylo prokázáno, že data nemají normální distribuci. Proto byly pro zpracování použity neparametrické metody. Rozdíly mezi dvěma skupinami byly testovány pomocí Mann-Whitney U-testu. Závislost mezi dvěma kvantitativními veličinami byla ověřena výpočtem Spearmanova korelačního koeficientu. Všechny statistické testy byly provedeny na hladině statistické významnosti 0,05.

15. Soubor nemocných

Soubor tvořilo 26 chronicky dialyzovaných pacientů (17 žen, 9 mužů, průměrný věk 74 let, průměrná délka dialyzačního léčení byla 38 měsíců, 16 pacientů mělo DM 2. typu). Jednalo se o chronicky dialyzované pacienty s vysokým kardiovaskulárním rizikem (tab. č. 8). Pacienti splnili kritéria histomorfometrického vyšetření kostní tkáně dle doporučení KDIGO a ERA-EDTA (49,51,88), která v našem případě zahrnovala laboratorní nálezy, nejasný typ RO, přítomnost kostních bolestí a cévní kalcifikace. Vysoké kardiovaskulární riziko bylo dokumentováno následovně: 14 pacientů mělo prokázané kalcifikace srdečních chlopní pomocí echokardiografického vyšetření, u 5 pacientů byly přítomny kalcifikace abdominální aorty na bočním snímku břicha a u 7 pacientů byla zjištěna periferní mediokalcinóza na skiagramu s povšechnou komplikovanou aterosklerózou. 16 pacientů mělo potvrzený diabetes mellitus 2. typu s komplikacemi. Jiná kritéria pro kostní biopsii nebyla nalezena. Všichni pacienti podepsali informovaný souhlas s vyšetřením. Studie byla prováděna s grantovou podporou ČNS a Lékařské fakulty UP jako prospektivní nerandomizovaná jednoramenná studie. Všichni pacienti byli dialyzováni 3x týdně a vzhledem ke kardiovaskulárním komplikacím byl použit dialyzační roztok s koncentrací kalcia 1.25mmol/l roztoku. Pacienti neužívali kalciové vazače fosfátů.

Tabulka č. 8. Charakteristika souboru pacientů

Počet pacientů	26
Ženy	17
Muži	9
Průměrný věk (roky)	74
Průměrná délka dialyzační léčby (měsíce)	38
DM 2. typu (počet pacientů)	16

16. Biochemická charakteristika souboru

Biochemické parametry séra souboru byly vyšetřeny v den kostní biopsie, vždy 1. den po pravidelné dialyzační léčbě. V séru pacientů byly stanoveny hladiny: vápník celkový i vázaný (mmol/l), fosfáty (mmol/l), iPTH (ng/l), kostní izoenzym alkalické fosfatázy ($\mu\text{g/l}$), kalcitonin (ng/l), 1,25-hydroxyvitamin D (pg/ml), osteokalcin ($\mu\text{g/l}$), C-telopeptid kolagenu 1 ($\mu\text{g/l}$), RANK-L (pmol/l), cross-laps ($\mu\text{g/l}$), prokolagen 1 ($\mu\text{g/l}$) a osteoprotegerin (pmol/l), (tab. č. 9).

Tabulka č. 9. Vybrané biochemické parametry souboru

Biochemické parametry	normální rozmezí	jednotky	metodika vyšetření
Kalcium	2,17-2,51	mmol/l	ADVIA1650
Fosfát	0,75-1,33	mmol/l	ADVIA1650
iPTH	11,1-79,5	ng/l	Advia Centaur
Kostní izoenzym ALP	0,25-0,72	μkat/l	Dsx
Kalcitonin	muži 1,0-8,4i ženy 1,0-5,0	ng/l	Immulite 2000
Hydroxyvitamin D	75-250	pg/ml	Dsx
Osteokalcin	2-22	μg/l	Immulite 2000
C-telopeptid kolagenu 1	muži 38-200 ženy 50-170	μg/l	Dsx
RANK-L	0,5-32	pmol/l	Human s-RANKL ELISA
Cross-laps	0,02-1,0	μg/l	Dsx
Prokolagen I	16,3-73,9	μg/l	Dsx
Osteoprotegerin	1,5-60	pmol/l	Human OPG ELISA

17. Další charakteristiky souboru a příprava ke kostní biopsii

Dalšími sledovanými parametry souboru byly délka dialyzační léčby, vyšetření objemu PT (v ml) pomocí sonografie (přístroj iU22, Philips) a denzitometrické měření pomocí DEXA vyšetření přístrojem Lunar Prodigy Primo, PR+350110, v oblasti L páteře (první až čtvrtý obratel) se stanovením Z-skóre, tedy s korekcí na věk a pohlaví. V přípravě před kostní biopsií nemocní užívali 2 druhy tablet tetracyklinu p.o. (Doxycyklin® a Minocyklin®) v odstupu 2 týdnů. K identifikaci růstových linií byl v první fázi podáván Doxycyklin® 100mg p.o. po dobu 3 dnů, následně v druhé fázi v odstupu 14 dní Minocyklin® 2x 50mg p.o. opět po dobu 3 dnů. Kostní biopsie byly prováděny v odstupu 4-6 dnů po ukončení druhé fáze.

18. Metodika odběru kostní tkáně a její vyšetření

Vzorek kosti byl odebrán z hřebene kosti kyčelní v místě spina iliaca posterior superior speciálním trepanem. Tato oblast je dobře přístupná a umožňuje získat reprezentativní vzorek kostní tkáně. Odběr byl proveden ambulantně v LA 2% Mesokainem®, kdy po průniku kůží a podkožím byla tlakem na trepan navrtána kostní spongioza a poté kompakta a krouživým pohybem byla odříznuta kostní tkáň. Při odběru byl současně proveden roztěrový preparát kostní dřeně ke zhodnocení vyžrávání krevních elementů (ve studii nehodnocen). Vzorky kostní tkáně byly uchovány ve Formalinu a část vzorku od každého pacienta byla odvápněna, zbytek vzorku byl ponechán v původním stavu. Důvodem je skutečnost, že pouze v histologických řezech zhotovených z neodvápněných vzorků je možno spolehlivě určit stupeň demineralizace kostních trámců

a identifikovat tetracyklinové linie (po předchozím značení dvěma druhy tetracyklinových preparátů), které vypovídají o rychlosti kostního obratu. Odvápněný preparát byl nabarven dle Goldnera a byla z něj pomocí mikroskopu s objektivem Plan 10x pořízena dokumentace. Následně byly získané snímky hodnoceny s využitím software pro analýzu obrazu ACC 5.0. Vyšetřované parametry byly hodnoceny dle standardizované nomenklatury, symbolů a jednotek pro kostní histomorfometrii, dle revidované klasifikace 2012 dle ASBMR Histomorfometrické nomenklatury (49,88,89).

19. Histomorfometrické parametry

Histologické vyšetření vzorků kostní tkáně (tab. č. 10) bylo zaměřeno zejména na určení procenta relativního objemu kostního trámce, relativního objemu osteoidu (v %), objemu trabekulární kosti (v %), frakčního objemu osteoidu k objemu trámce (v %), na určení povrchu trámce krytého osteoidem (v %), tloušťky kostního trámce a tloušťky osteoidu (v μm) a rovněž na stanovení objemu trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze (v %). Současně byla hodnocena šíře TTC linií (v μm) k posouzení rozsahu kostní přestavby. Mineralizovaný objem byl reprezentován objemem osteoidu, mineralizovaná kost pak vzdáleností mezi dvěma TTC liniemi, síla osteoidu vypovídala o tvorbě mineralizované kosti a kostní hmoty během stanoveného období.

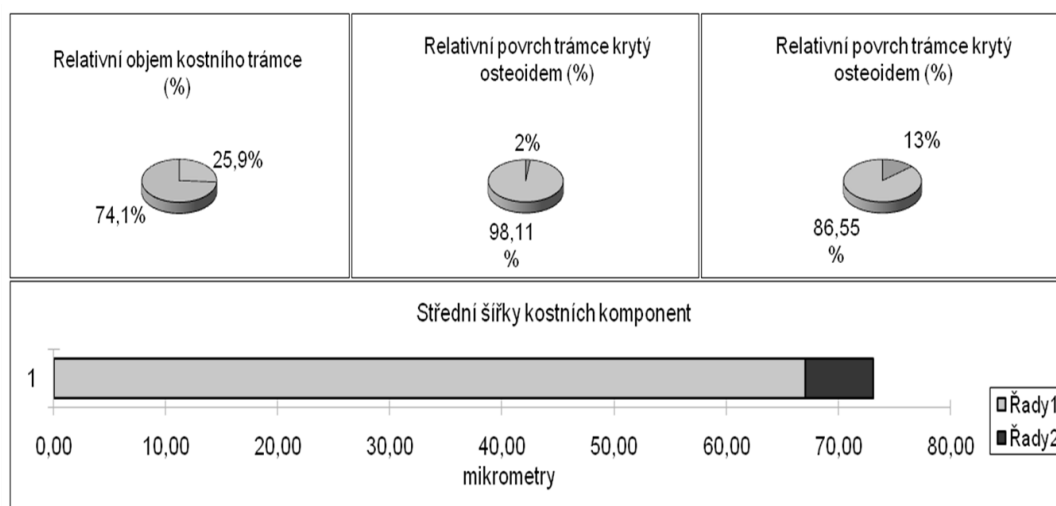
Příklad histomorfometrického vyšetření je uveden v tab. č. 11. Obrázek č. 6A a 6B zobrazuje histomorfometrický obraz.

Tabulka č. 10. Histomorfometrické parametry souboru (jednotky)

Relativní objem kostního trámce	%
Relativní objem osteoidu	%
Objem trabekulární kosti	%
Frakční objem osteoidu k objemu trámce	%
Povrch trámce krytého osteoidem	%
Tloušťka osteoidu	μm
Střední tloušťka kostního trámce	μm
Vzdálenost TTC linií	μm
Objem trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze	%

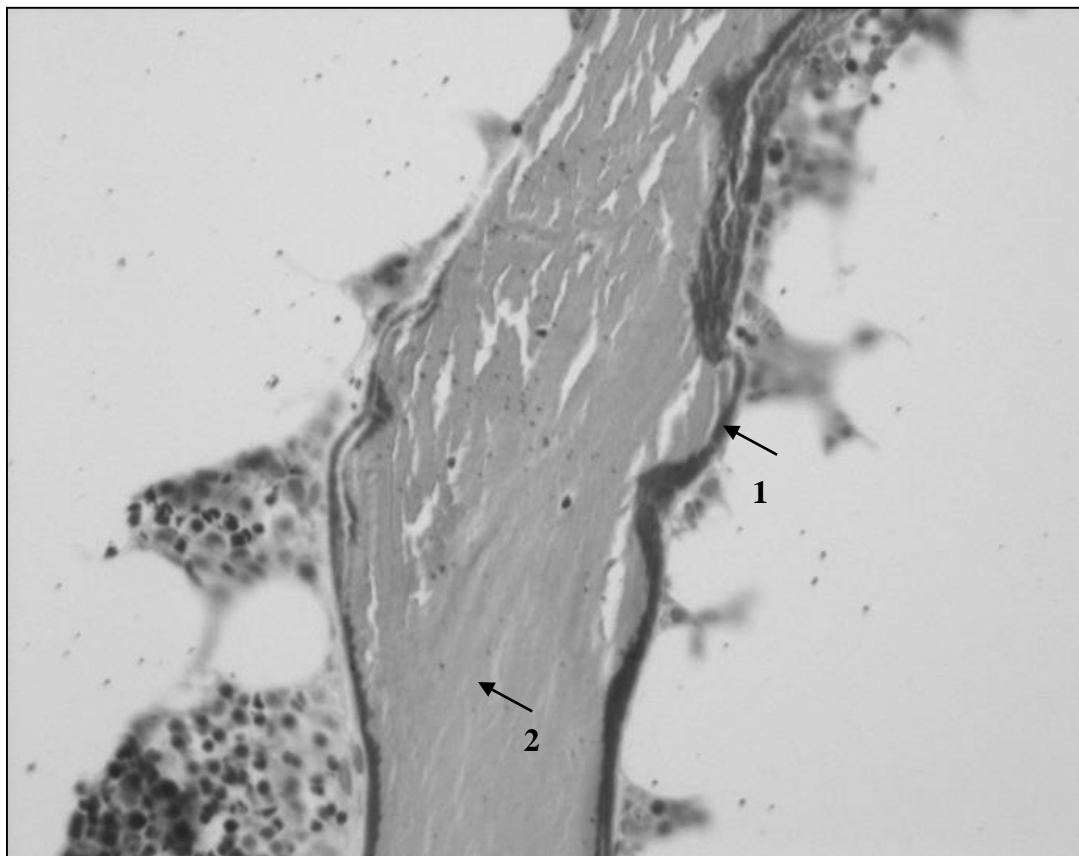
Tabulka č. 11. Příklad histomorfometrického vyšetření u jednoho pacienta

<i>Histomorfometrické údaje</i>	<i>Hodnoty, jednotky</i>
<i>Relativní V kostního trámce</i>	26,26%
<i>Vzdálenost TTC linií</i>	211,101 μm
<i>Relativní V osteoidu</i>	0,32 %
<i>V trabekulární kosti</i>	119,81 %
<i>Frakční V osteoidu k V trámce</i>	1,23 %
<i>Povrch trámce krytý osteoidem</i>	1,89 %
<i>Střední tloušťka kostního trámce</i>	73,08 μm
<i>Vzdálenost TTC linií</i>	211,101 μm
<i>V trabekulární kosti ke spongióze</i>	119,81 %



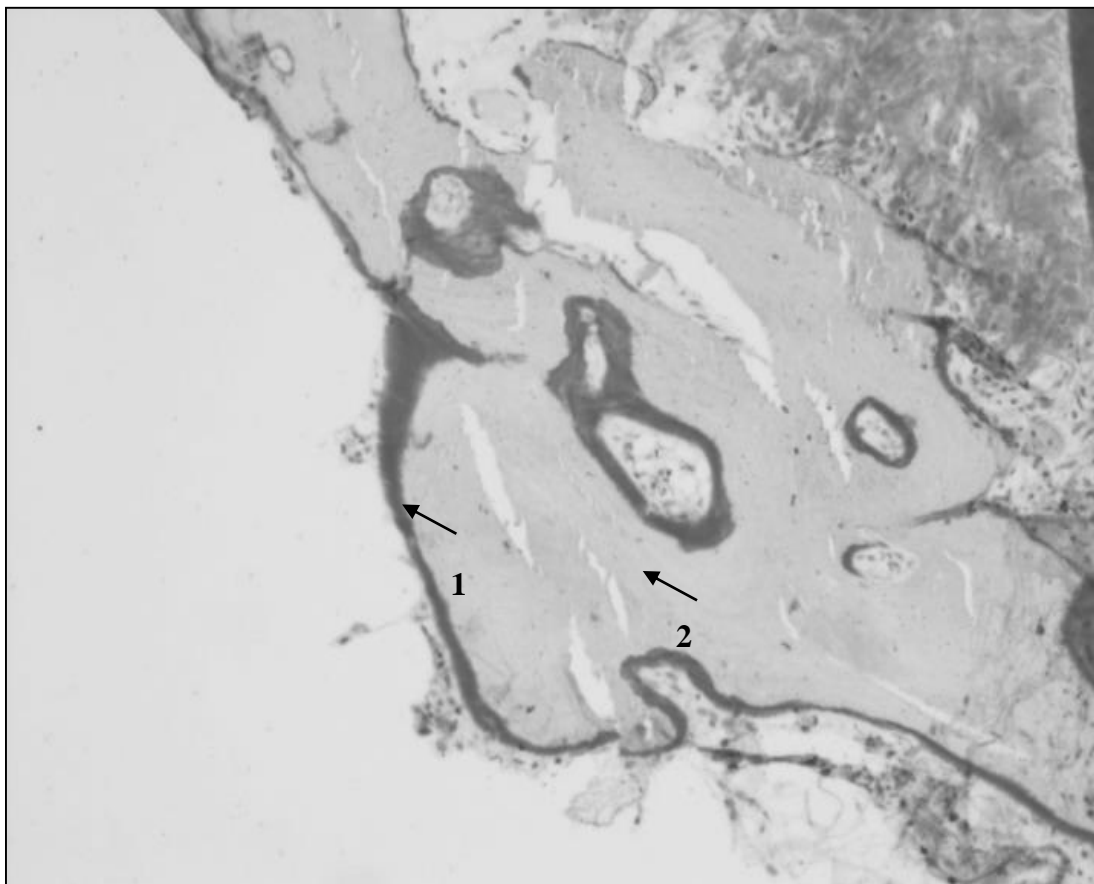
Obrázek č. 6A. Histomorfometrické vyšetření - kostní tkáň, osteoid (1), kostní trabekuly (2).

Barvení dle Goldnera, zvětšení 10x.



Obrázek č. 6B. Histomorfometrické vyšetření- kostní tkáň, osteoid (1), kostní trabekuly (2).

Barvení dle Goldnera, zvětšení 10x.



20. Výsledky biochemického vyšetření souboru

Výsledky biochemických parametrů u 26 pacientů jsou uvedeny v tab. č. 12.

Tabulka č. 12. Biochemické výsledky souboru

iPTH	ALP	H-vitD	Osteokalcin	C-tel. kolagenu1	RANK- L	Cross- laps	Prokolagen1	OPG	Kalcium	Fosfor
ng/l	μkat/l	pg/ml	μg/l	μg/l	pmol/l	μg/l	μg/l	pmol/l	mmol/l	mmol/l
468	15,3	28,5	617,5	21,6	-	1,2	758,4	-	2,34	0,65
107	14,8	22,6	718,9	19,5	-	1,1	760,4	-	2,22	1,26
39	25,7	17,5	863,3	36,8	312	1,3	152,6	11,26	1,77	0,97
300	13,6	16,8	841,8	50,0	6,1	3,8	906,3	25,69	2,31	1,4
651	17,9	14,1	897	58,7	196	4,6	989	9,34	2,19	1,18
472	30,5	12,3	150	50,0	74,4	1,5	872	10,37	2,10	3,14
267	10,5	22,6	296,1	46,3	13,2	2,2	158,4	11,28	2,28	2,02
174	26,7	17,8	348,1	34,1	208,3	2,6	296,2	6,3	2,1	1,39
589	19,8	14,5	897,1	47,6	245,1	1,5	563,21	11,21	2,32	1,56
254	18,9	13,5	723,5	46,5	60,4	1,5	658,21	10,27	2,10	1,78
207	9,8	19,1	189	50,2	112,4	1,9	330,1	17,22	2,10	1,39
315	14,1	12,2	479	41,1	55,4	1,9	261,7	6,81	2,39	2,22
120	24,3	26,3	202	50,0	87,9	1,8	336,1	19,83	2,05	2,12
111	28,3	7,5	220	44,9	0,1	2,4	312,5	9,34	2,22	1,51
79	7,2	10,9	186,5	24,7	178	1,4	249,8	6,37	2,03	1,15
338	13,2	7,5	225,6	49,2	94,6	2,9	327,5	9,44	1,82	2,17
526	16,81	16,5	769	39,8	97,1	1,5	337,8	7,52	2,04	2,3
214	24,7	15,6	598	19,8	95,6	1,9	169,7	9,54	2,07	0,98
368	17,9	18,4	723,6	17,4	205,3	1,1	725	10,57	1,98	1,76
321	12,9	15,8	865,9	33,6	78,6	1,4	869,7	9,5	1,86	1,62
198	10,8	13,8	168	47,6	-	2,9	463,8	-	2,38	3,02
402	19,8	9,7	359	32,1	178	4,5	169,4	18,7	2,42	1,62
198	17,9	14,9	798	36,8	211	1,9	365,2	12,6	2,30	1,87
267	14,5	14,8	256	47,3	-	1,9	357,6	-	2,80	1,37
198	26,8	22,8	263	45,9	-	1,8	365,8	-	2,10	1,16
88	9,7	13,5	762	44,6	-	4,9	165,3	-	1,80	1,65

21. Výsledky histomorfometrických dat

Histomorfometrické hodnoty sledovaných parametrů jsou uvedeny v tabulce č. 13.

Tabulka č. 13. Histomorfometrické hodnoty sledovaných parametrů

Objem kostního trámce	Objem osteoidu	Objem trabekulární kosti	Povrch trámce krytého osteoidem	Střední tloušťka kostního trámce	Střední tloušťka osteoidu	TTC linie
[%]	[%]	[%]	[%]	[μm]	[μm]	[μm]
1,22	1,80	5,60	53,28	15,80	14,80	111,25
0,42	1,56	5,68	87,68	24,85	1,56	247,25
1,34	1,46	7,81	103,29	11,71	11,46	92,46
1,44	1,62	4,67	49,32	12,41	11,62	106,05
0,32	1,23	6,04	101,81	26,26	1,23	211,10
0,76	5,65	9,42	47,39	14,56	5,65	83,62
0,08	1,17	7,68	37,73	7,12	1,17	94,33
0,54	4,41	8,57	45,75	12,19	4,41	81,36
0,76	3,97	8,62	56,23	15,63	4,52	98,57
0,25	1,87	5,23	56,87	12,35	3,62	96,32
0,62	1,54	7,26	54,72	15,98	11,25	64,00
7,55	1,32	5,98	46,23	11,27	5,23	112,63
0,93	1,37	5,62	105,27	20,47	-	98,62
0,21	1,27	7,68	86,54	22,65	-	111,65
0,02	1,27	6,54	38,69	14,63	11,68	86,23
3,73	1,74	5,62	54,23	15,98	1,23	212,54
2,04	1,93	7,23	86,53	13,87	14,21	99,87
4,46	1,75	5,68	74,23	12,36	4,24	87,35
7,39	1,34	7,26	49,87	8,56	-	98,62
0,76	-	6,86	49,85		1,68	-
6,65	1,54	7,65	52,36	22,98	1,21	85,62
2,28	1,12	6,54	72,98	14,87	5,23	225,47
-	1,68	-	-	-	-	96,23
3,16	1,86	6,24	49,87	20,65	11,98	112,54
0,31	1,47	8,57	67,32	16,32	3,67	94,23
-	1,86	5,60	-	-	-	-

22. Výsledky hodnot Z-skóre DEXA, délky dialyzační léčby a objemu PT

V tabulce č. 14 jsou uvedeny výsledky hodnot Z-skóre DEXA, délka dialyzační léčby a objem PT.

Tabulka č. 14. Délka dialyzační léčby, hodnota Z-skóre DEXA, objem PT

Z-skóre DEXA	Délka dialyzační léčby (měsíce)	Objem PT (ml)
-1,8	27	0,68
-1,4	34	0,74
-0,9	36	0,23
-2,1	144	0,86
-1,9	27	0,87
-1,1	72	0,98
-1,1	21	0,72
-1,3	54	0,61
-1,4	54	0,54
-0,6	27	0,76
-0,8	23	0,95
-1,9	37	0,50
-0,3	11	0,62
-2,1	54	0,71
-1,3	8	0,26
-1,7	22	0,31
-0,9	16	0,67
-0,9	32	0,89
-1,6	14	0,92
-2,2	39	0,72
-1,7	21	0,95
-2,4	5	1,04
-1,9	14	0,95
-1,7	21	0,95
-2,3	34	0,99
-2,1	26	0,83

23. Výsledky korelací

23.1 Korelace histomorfometrických a biochemických charakteristik

Porovnáním histomorfometrických charakteristik s hodnocenými biochemickými parametry byly zjištěny pozitivní korelace mezi relativním objemem kostního trámce a sérovou hladinou prokolagenu 1 (0,754) a mezi objemem kostního trámce a sérovou hladinou kalcitoninu (0,856). Rovněž byl prokázán vztah mezi tloušťkou kostního trámce a sérovým kalcitoninem (0,721). Při posuzování sérové hladiny osteoprotegerinu a RANKL byla prokázána korelace s tloušťkou osteoidu a silou kostního trámce; v případě s-osteoprotegerinu byla statistická síla prokázána ve vztahu k tloušťce osteoidu (0,830), v případě s-RANKL ve vztahu k tloušťce kostního trámce (0,880). Negativní byl vztah mezi s-RANK-L a tloušťkou osteoidu (-0,619).

Pozitivní korelace byla dále zjištěna mezi objemem trabekulární kosti a s-osteokalcinem (0,698) a mezi objemem trabekulární kosti a s-prokolagenem 1 (0,643), negativně korelovala tloušťka osteoidu s C-telopeptidem kolagenu 1 (-0,717). Neprokázal se vztah mezi histomorfometrickými znaky a základními parametry fosfokalciového metabolismu- sCa, sP, s-iPTH. Vztah mezi frakčním objemem osteoidu, silou kostního trámce, silou osteoidu a sérovou hodnotou kostního izoenzymu alkalické fosfatázy byl v našem souboru nespécifický (korelace na 0,05 hladině neprokázána). Nepotvrdili jsme tak v literatuře často uváděný vztah mezi aktivitou kostního izoenzymu ALP a aktivitou kostní tkáně. Biochemické parametry rovněž nekorelovaly s hodnotou Z-skóre DEXA a neměly vztah k šíři TTC linií (tab. č. 15).

Tabulka č. 15. Posouzení vztahů mezi biochemickými a histomorfometrickými charakteristikami souboru

Biochemické parametry	Relativní objem kostního trámce	Relativní objem osteoidu	Objem trabekulární kosti	Frakční objem osteoidu k objemu trámce	Povrch trámce krytého osteoidem	Střední tloušťka kostního trámce	Tloušťka osteoidu	TTC linie
Kalcium	-,069	,103	-,291	,138	,067	-,157	,161	,324
Fosfát	-,121	,285	-,405	,326	,067	,169	-,244	,021
iPTH	-,030	,398	-,266	,365	-,044	,107	,117	,248
ALP kostní izoenzym	,200	,497	,137	-,088	,365	,414	,497	-,015
Kalcitonin	,856	,001	-,114	,231	,274	,721	,161	,166
Hydroxyvitamin D	-,144	-,166	,131	-,152	-,024	-,152	,069	-,199
Osteokalcin	,087	,112	,698	-,150	-,228	-,376	-,164	,331
C-tel. kolagenu 1	,075	-,111	-,018	-,071	-,180	-,079	-,717	-,069
RANK-L	-,107	,081	,127	-,206	-,086	,880	-,619	-,327
Cross-laps	-,023	,105	-,205	,156	-,284	,145	,072	,141
Prokolagen 1	,754	-,028	,643	-,150	,066	-,391	-,174	,190
Osteoprotegerin	-,187	,086	,021	,060	-,382	,028	,830	-,109

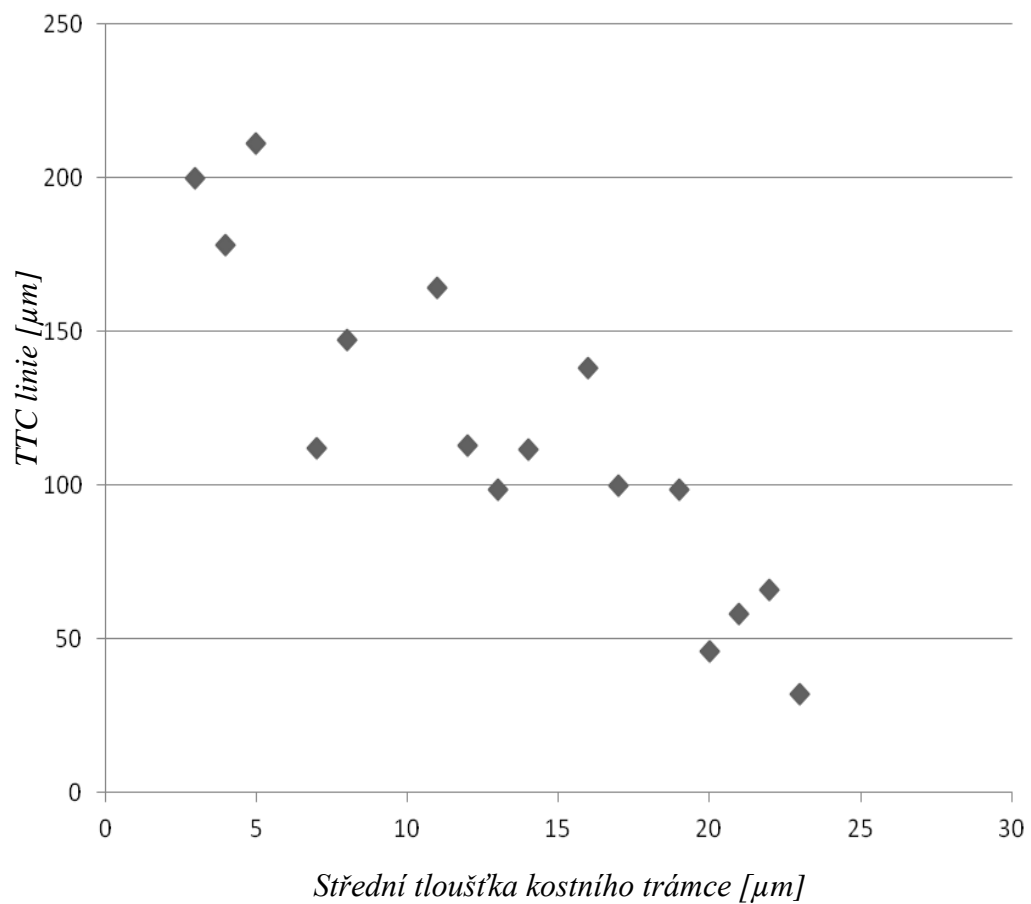
Při posuzování dynamických histomorfometrických parametrů jsme prokázali pozitivní statistickou korelaci mezi velikostí (vzdáleností) TTC linií a objemem kostního trámce (0,705). Negativní korelace byla naopak zjištěna mezi velikostí TTC linií a střední tloušťkou kostního trámce (-,742), (graf č. 1) a povrchem trámce krytého osteoidem (-,864). Hraniční byla vazba mezi TTC liniemi a objemem trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze (,679), viz tab. č. 16.

Tabulka č.16. Posouzení vztahů mezi histomorfometrickými parametry a TTC liniemi

(Sp.- koeficient dle Spearmana)

Histomorfometrické parametry	TTC linie
	Sp.
Relativní objem kostního trámce	,705
Relativní objem osteoidu	-,043
Objem trabekulární kosti	,479
Frakční objem osteoidu k objemu trámce	-,442
Povrch trámce krytého osteoidem	-,864
Střední tloušťka kostního trámce	-,742
Tloušťka osteoidu	-,188
Objem trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze	,679

Graf č. 1. Negativní korelace mezi velikostí TTC linií a střední tloušťkou kostního trámce



23.2 Korelace histomorfometrických parametrů s délkou dialyzační léčby

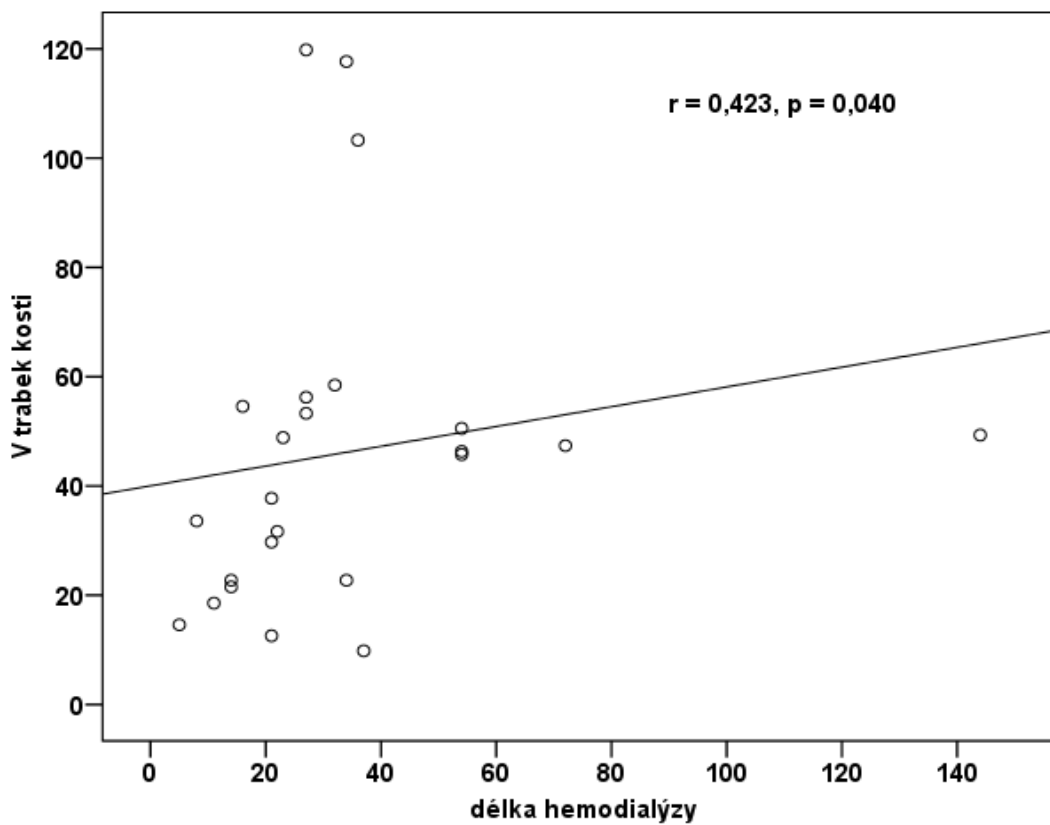
Při posuzování vlivu délky dialyzační léčby byl zjištěn pozitivní vztah mezi objemem trabekulární kosti (0,949) a relativním objemem kostního trámce (0,765). Negativní korelace byla mezi délkou HD léčby a střední tloušťkou kostního trámce (-0,819), graf č. 2, tab. č. 17. Žádný vztah nebyl prokázán mezi biochemickými parametry a délkou trvání dialyzační léčby.

Tabulka č. 17. Vztah mezi histomorfometrickými parametry a délkou HD léčby

Histomorfometrické parametry	Délka HD léčby Sp.
Relativní objem kostního trámce	,765
Relativní objem osteoidu	-,140
Objem trabekulární kosti	,949
Frakční objem osteoidu k objemu trámce	,232
Povrch trámce krytého osteoidem	-,256
Střední tloušťka kostního trámce	-,819
Tloušťka osteoidu	,221
Objem trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze	,423

(Sp.-koeficient dle Spearmana)

Graf č. 2. Objem trabekulární kosti [%] ve vztahu k délce HD léčby [měsíce]



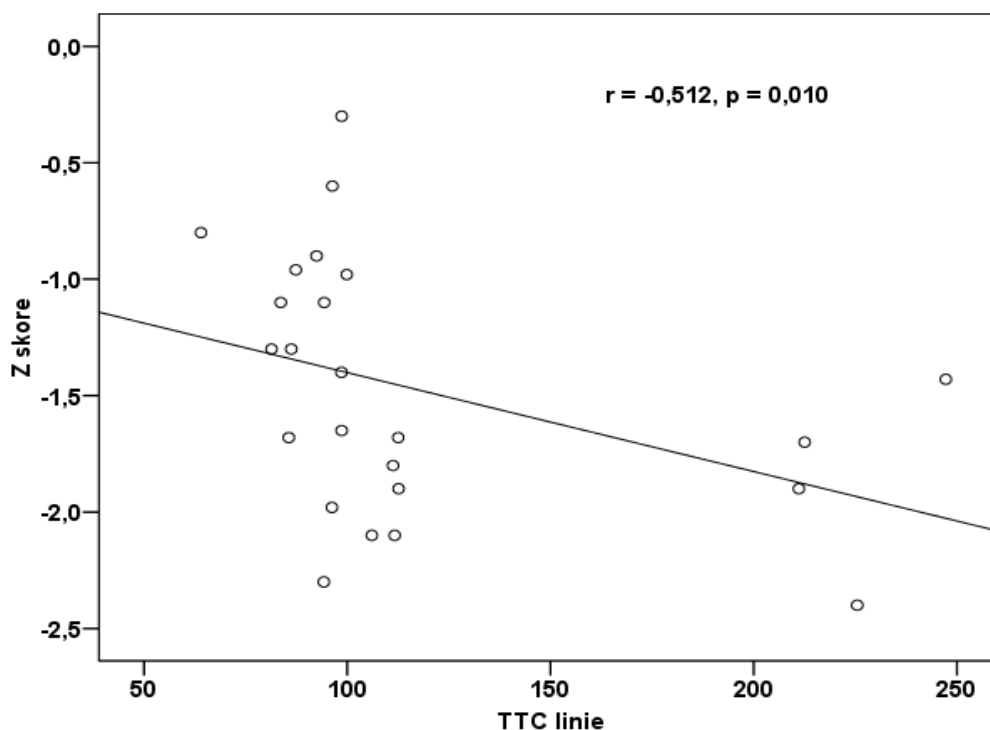
23.3 Korelace laboratorních parametrů s denzitometrickými hodnotami

Při srovnání laboratorních parametrů se Z-skóre dle DEXA vyšetření byla prokázána negativní statistická korelace mezi s-Cross-laps (-,681) a s-C-telopeptidem kolagenu typu I (-,747), tab. č.18. Dále byla prokázána středně silná negativní závislost mezi Z skóre (DEXA) a TTC liniemi ($p=0,01$) a mezi Z-skóre (DEXA) a s-Cross-laps ($p=0,034$), viz graf č. 3.

Tabulka č. 18. Vztah mezi biochemickými parametry a Z-skóre dle DEXA vyšetření

Biochemické parametry	Z-skóre DEXA
Kalcium	-,230
Fosfát	-,218
iPTH	-,293
ALP kostní izoenzym	,263
Kalcitonin	-,059
Hydroxyvitamin D	,113
Osteokalcin	,315
C-tel. kolagenu 1	-,747
RANK-L	,164
Cross-laps	-,681
Prokolagen 1	,056
Osteoprotegerin	,028

Graf č.3. Vztah mezi Z-skóre (DEXA) a TTC liniemi - středně silná negativní závislost



23.4 Hodnoty vybraných parametrů ve vztahu k pohlaví a přítomnosti diabetu mellitu

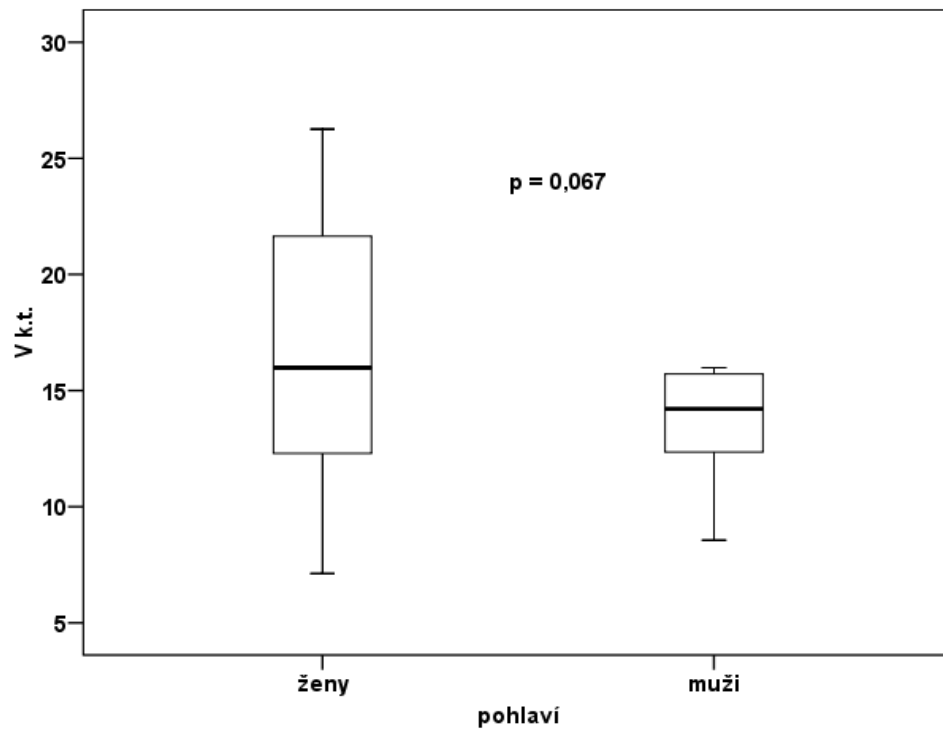
Při posuzování rozdílu histomorfometrických parametrů mezi muži a ženami v našem souboru (tab. č. 19) jsme prokázali menší objem kostního trámce u mužů na úrovni hraniční významnosti ($p = 0,067$) a výrazně nižší hodnoty osteoidu u žen ($p = 0,007$), (graf č. 4). Mann-Whitney U-test ukázal podstatně nižší hladiny s-osteokalcinu a s-prokolagenu 1 u pacientů s diabetem ($p = 0,014$), (graf č. 5).

Tabulka č. 19. Vztah mezi histomorfometrickými parametry a pohlavím

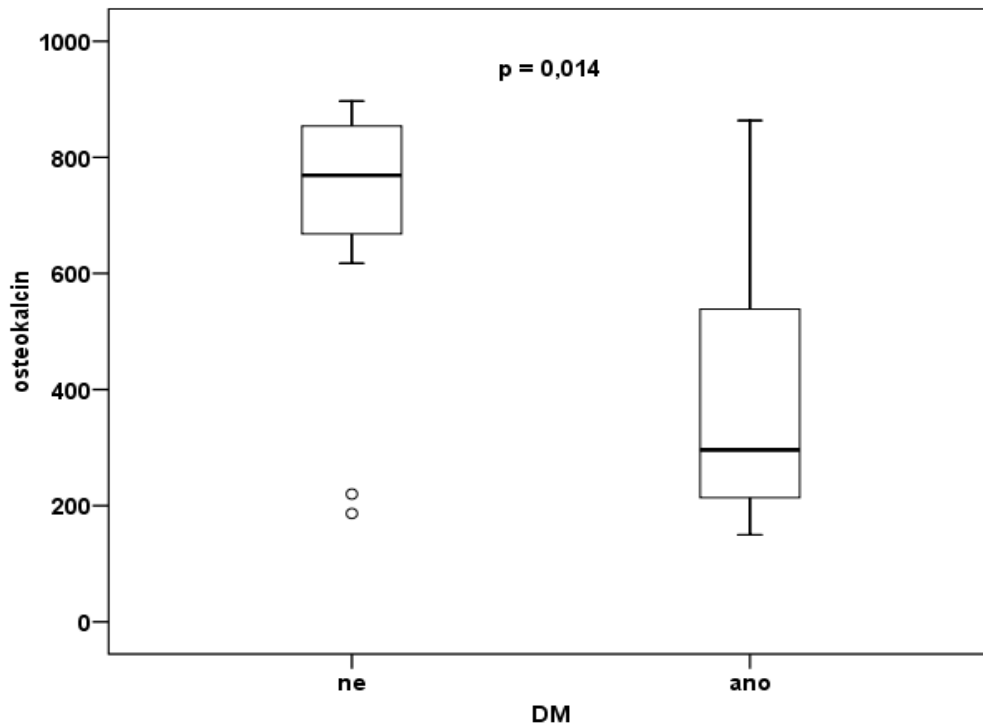
Histomorfometrické parametry	Muži vs ženy
	M-W
Relativní objem kostního trámce	p= 0,067
Relativní objem osteoidu	p= 0,007
Objem trabekulární kosti	p=0,018
Frakční objem osteoidu k objemu trámce	P=0,034
Povrch trámce krytého osteoidem	p=0,029
Střední tloušťka kostního trámce	p=0,027
Tloušťka osteoidu	p=0,031
Objem trabekulární kosti ve vztahu ke spongióze	p=0,019

M-W- Mann-Whitney U-test

Graf č.4. Vztah mezi objemem kostního trámce [%] a pohlavím



Graf č. 5. S-osteokalcin [$\mu\text{g/l}$] u pacientů s DM 2. typu



U 16 pacientů jsme histomorfometrickým měřením prokázali smíšenou formu RO, u 9 z nich byla převaha vysokoobratových forem MBD, u dalších 10 nemocných jsme verifikovali ABD. Všichni pacienti s ABD byli diabetici 2. typu. Vzhledem k velikosti souboru jsme již neprovedli srovnání jednotlivých biochemických parametrů ve vztahu ke všem zachyceným typům RO. Nicméně při srovnání dvou nejpočetněji zastoupených skupin jsme prokázali signifikantně vyšší sérové koncentrace iPTH u pacientů s vysokoobratovou formou RO oproti nemocným s ABD. Jiné statisticky signifikantní korelace jsme mezi těmito skupinami neprokázali.

24. Diskuze

Vyhodnocením vztahu mezi vybranými histomorfometrickými a biochemickými parametry, zejména prokolagenem 1 a kalcitoninem, byla prokázána pozitivní korelace s aktivitou kostní tkáně a tyto markery se tak dle našich nálezů jeví jako vhodné pro sledování vysokoobratových forem MBD-CKD. Šířka TTC linií je nejpřesnějším ukazatelem při posuzování míry obratu kostní tkáně a umožňuje rozlišit mezi vysokoobratovou a adynamickou formou MBD-CKD. V naší studii tomu odpovídalo zvýšení objemu kostní tkáně v případě vysokoobratové formy osteodystrofie a nižší tloušťka kostních trabekul a užší TTC linie při ABD. Nárůst tloušťky osteoidu a kostních trabekul byl pozorován ve vztahu k aktivitě kostí tkáně, což je v souladu s dostupnými literárními údaji. Ty poukazují na skutečnost, že zvýšené hodnoty sRANKL a s-osteoprotegerinu u dialyzovaných pacientů dlouhodobě predikují přítomnost jiných forem RO než ABD (46,52,57). U pacientů delší dobu v PDL byl pozorován větší nárůst objemu kostní tkáně. Tato zvýšená míra vysokoobratových forem MBD-CKD je v rozporu s literárními údaji, neboť většina provedených studií uvádí nárůst adynamické formy MBD-CKD v závislosti na délce dialyzační léčby (4,20,90). Žádná statisticky významná korelace pak nebyla pozorována ani mezi četnými biochemickými parametry a dobou trvání dialýzy.

Smíšená forma MBD-CKD byla pozorována u 16 pacientů, u 9 z nich převažovala varianta s vysokým obratem, což je v souladu s případy dokumentovanými v literatuře (15,73,77). ABD byla prokázána u dalších 10 pacientů, kteří všichni měli diabetes mellitus 2. typu. Vyšší výskyt ABD u diabetických pacientů byl pozorován také jinými autory (21,52,82,91,92).

V případě kostního izoenzymu ALP nebyla překvapivě zjištěna žádná vazba na biochemické a histomorfometrické parametry. Tyto nálezy mohly být ovlivněny námi nastavenou chronickou medikací MBD-CKD, potenciálně interferující s aktivitou tohoto enzymu produkovaného osteoblasty.

Posouzení kostních parametrů a Z-skóre DEXA vyšetřením se prokázaly některé negativní korelace s parametry kostní tkáně, nicméně prediktivní hodnota laboratorních ukazatelů kostního metabolismu a měření kostní hustoty není v detekci různých forem MBD-CKD příliš vysoká. Kostní denzitometrie je schopna posoudit stupeň demineralizace skeletu, ale s ohledem na patogenezi MBD-CKD nemusí být celkové množství kostního minerálu nutně sníženo. Hlavní nevýhodou DEXA vyšetření u dialyzovaných pacientů je nemožnost separátně posoudit trabekulární a kortikální kost. V případě MBD-CKD je mineralizace trabekulární kosti relativně zachována, zatímco v případě kortikální kosti je výrazně snížena (46,56,74,97).

Vzhledem k závažnosti onemocnění je nezbytná časná diagnostika s cílem zabránit progresi pokročilých stádiích MBD-CKD. U pacientů s převládající adynamickou formou MBD-CKD, pro kterou je charakteristický nízký kostní obrat a vysoké riziko rozvoje extraoseálních kalcifikací, je správné volit dialyzační roztok s nízkou koncentrací vápníku, vyvarovat se substituci vápníku, metabolitů a analogů vitamínu D a preferovat nekalciové vazáče fosforu v GIT. Bisfosfonáty jsou obecně v pokročilých stádiích chronické renální nedostatečnosti kontraindikovány. U pacientů s převažující histomorfometrickou složkou typu osteitis fibrosa je za adekvátní léčebný postup považována kombinovaná terapie s léky obsahujícími kalcium a vitamín D. U pacientů s převahou osteomalacie by měla být léčba zaměřena na vhodné doplnění vitamínu D a na ovlivnění VDR (93,94,95,96,98,99,100).

Při vyšetření se zaměřením na přítomnost cévních kalcifikací lze často prokázat rozsáhlé postižení (srdce, aorta, periferní cévy) u pacientů s převládající adynamickou formou MBD-CKD. Pacienti s DM mají tyto kalcifikace lokalizovány většinou do cévní medie. Tyto skupiny dialyzovaných pacientů mají vyšší kardiovaskulární riziko než pacienti s vysokoobratovou formou RO. V souboru nebyl hodnocen případný rozdíl v rozsahu postižení cévní složky v rámci MBD-CKD u pacientů s DM a u nediabetiků. Nicméně v celé skupině dialyzovaných pacientů byly užší TTC linie a nižší hladiny s-osteoprotegerinu a s-RANKL spojeny s vyšším rizikem cévních kalcifikací (54,60,90,102).

Nižší hodnoty s-osteokalcinu a s-prokolagenu 1, které dokumentují sníženou kostní remodelaci, byly ve studii prokázány u diabetických pacientů a u nemocných s histomorfometricky potvrzenou ABD. Nižší hodnoty objemu kostního trámce prokázané u mužů pravděpodobně souvisí s vyšším věkem a s hormonálními změnami spojenými s chronickým onemocněním ledvin (29,49,54,60,102,104,105).

Vedle běžných parametrů kostního metabolismu představují sérové markery kostní remodelace jako je prokolagen 1, kalcitonin, osteoprotegerin, RANKL a 1,25 hydroxyvitamin D skupinu potenciálně využitelných indikátorů při adekvátním vedení léčby kostní choroby u nemocných v PDL (28,53,101,103,106,107).

I přes nižší počet pacientů ve studii se nám podařilo prokázat statisticky významnou korelaci mezi některými biochemickými a histomorfometrickými parametry. Komplexním biochemickým vyšetřením zahrnujícím parametry fosfokalciového metabolismu, alkalickou fosfatázu a některé markery osteoresorpce respektive novotvorby, lze při současné znalosti funkce a morfologie PT a klinických zkušenostech odhadnout typ kostních změn v rámci MBD-CKD a indikovat správnou léčbu. Přesto zejména ve složitých případech a u rizikových pacientů (nejednoznačné laboratorní nálezy, progredující cévní kalcifikace,

neobjasněná hyperkalcémie, laboratorní nálezy neodpovídající sHPT) zůstává kostní biopsie s histomorfometrickým vyšetřením zlatým standardem při komplexním posouzení kostních změn v rámci MBD-CKD (doporučení K/DOQI, ERA-EDTA). Zejména u pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem lze očekávat v relativně vysokém procentu obě krajní formy RO, lišící se rychlostí kostního obratu, přičemž adekvátní léčba se zásadně liší. V tomto případě přesná diagnostika prostřednictvím kostní biopsie ovlivňuje tedy nejen rozdílné terapeutické postupy MBD-CKD, ale i následnou prognózu pacientů (20,21,108).

Tato pilotní studie je limitována relativně nízkým počtem zúčastněných nemocných a její výsledky by měly být ověřeny na větším souboru pacientů. Na druhé straně se jednalo o skupinu úzce vybraných nemocných v PDL s vysokým kardiovaskulárním rizikem, u nichž byla diagnóza a typ MBD-CKD verifikován histomorfometrickou analýzou kostní biopsie. Špatně stanovená diagnóza s nevhodně nastavenou terapií představuje nezávislý rizikový faktor progrese kardiovaskulárních onemocnění a dále zhoršuje prognózu těchto pacientů. Cílem této studie bylo posoudit možnosti neinvazivní diagnostiky jednotlivých typů MBD-CKD pomocí vybraných laboratorních parametrů a histomorfometrických charakteristik kostní tkáně u dialyzovaných pacientů s vysokým KV rizikem.

25. Závěr

Chronickým onemocněním ledvin s poklesem glomerulární filtrace na polovinu normálních hodnot je postiženo přibližně 10% populace. MBD je tedy častou komplikací, s podstatným vztahem k měkčotkáňové složce, k postižení cév a ke kardiovaskulárním komplikacím, které stojí v popředí morbidity a mortality pacientů s CKD. Kostní změny při selhání ledvin jsou vyjádřené vždy, avšak nikoliv jednotně. V rámci RO je nejčastějším projevem smíšený typ kostní nemoci, vyskytující se až u 80% dialyzovaných nemocných, který je dán kombinací fibrózní osteodystrofie a osteomalacie. Na opačných pólech se potom nacházejí ostatní krajní histologické obrazy, a to jednak kostní změny s vysokým kostním obrátem s přímým vztahem k sHPT a kostní změny se sníženým kostním obrátem (ABD). Tradiční název renální osteodystrofie se nyní omezuje jen na morfologický kostní nález. Plně rozvinuté formy kostní choroby se vyskytují při delším trvání PDL. V poslední době pak máme možnost pozorovat značně narůst incidence ABD. Příčinou může být zejména vyšší věk pacientů na dialyzační léčbě, nárůst prevalence diabetu mellitu a prokázaný vztah k nižším hodnotám sPTH. Cévní složka MBD-CKD je významná pro svůj těsný vztah ke kardiovaskulárním komplikacím a hyperfosfatémie a mimokostní kalcifikace jsou považovány za nové nezávislé rizikové faktory kardiovaskulární morbidity a mortality. Současné doporučené postupy kladou důraz na včasnou léčbu MBD-CKD s cílem předejít rozvoji pokročilých fází onemocnění.

Základní komponenty léčebné strategie představují primárně úpravu sérové fosfatémie v krvi s jejím snížením k přijatelným hodnotám. Sekundární terapeutický postup směřuje k zajištění aktivace receptoru pro vitamín D s užitím aktivátorů receptoru pro vitamín D (metabolity vitamínu D, analoga vitamínu D). Dalším léčebným krokem je pak snaha

o aktivaci receptoru pro kalcium s úpravou sekundární hypokalcémie a eventuálně užití kalcimimetik typu cinacalcetu.

V současné době může být léčba MBD-CKD přesně stanovena pouze na základě histomorfometrického vyšetření vzorku z kostní biopsie a určení jednotlivých forem kostního onemocnění. Výsledky naší studie tak představují nové, neinvazivní možnosti detekce kostního postižení, které jsou založeny na hodnocení vybraných laboratorních parametrů kostního metabolismu. Relativně vysoký podíl obou extrémních forem MBD-CKD u našich dialyzovaných pacientů s vysokým KV rizikem poukazuje na nutnost detekce subtypu kostních změn v závislosti na míře kostního obratu. Cílená terapie každé z forem MBD-CKD je totiž zásadně odlišná, a ovlivňuje prognózu těchto nemocných.

V běžné klinické praxi se před zahájením terapie MBD-CKD vždy nejprve posoudí klinické obtíže pacienta, pečlivě se zhodnotí základní laboratorní parametry kostního metabolismu a jejich časový vývoj. Pro správnou orientaci je nutné znát rovněž hodnoty sPTH, časový vývoj funkce příštítných tělísek a jejich morfologii a pátrat po cévní komponentě kostní choroby, po kalcifikacích a arterioskleróze. V indikovaných případech však může být nezbytné provést bioptické vyšetření ke stanovení jednotlivých subtypů kostní histomorfometrie. Přes poměrně bohaté zkušenosti a znalosti v oblasti patogeneze kostní choroby až na molekulární úroveň a přes pokroky ve farmakoterapii zůstává renální kostní choroba nadále významným problémem, se kterým se v běžné klinické praxi každodenně potýkáme.

III. LITERATURA

1. Dusilová-Sulková S. a kol. Renální osteopatie. Edice Farmakoterapie pro praxi, svazek 22 Maxdorf 2007: 46-48, 53, 57, 124.
2. Go AS, Chertow GM, Fan D et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296–1305.
3. Dusilová Sulková S., Kalousová M. Některé poznatky o poruše fosfokalciového metabolismu při selhání ledvin. *Postgraduální medicína* 2006; 8: 120-126.
4. Moe S., Druke T., Cunningham J. et al. Definition, evaluation and classification of renal osteodystrophy: a positron statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69: 1946-63.
5. Moe SM, Sprague SM. Chapter 52: Mineral bone disorders in chronic kidney disease. In: Brenner and Rector's *The Kidney*, 8th edn. WB Saunders Company: Philadelphia, PA 2007; 6:1784–1807.
6. Braun J. Extraosseous Calcification in patients with chronic renal failure- no espace. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2054-2059.
7. Zahálková J. Cévní postižení při minerálové a kostní nemoci u chronického onemocnění ledvin. *Osteologický bulletin* 2008; 13(4):166-171.
8. Tentori F. Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 519-530.
9. Tonelli M, Muntner P, Lloyd A et al. Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study. *Lancet* 2012; 380: 807.

10. Goldsmith D. Routine screening for vascular calcification in chronic kidney disease the case against. *Semin Dial* 2010; 23: 280–282.
11. Sobotová D., Zharfbin A., Neobálková M et al. Minerálově kostní porucha při chronickém onemocnění ledvin. *Vnitř Lék* 2007; 53: 841-851.
12. Abedin M., Fintit Y., Demer L et al. Vascular Calcification: Mechanisms and Clinical Ramifications. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 2004; 24: 1161-1170.
13. London GM. Awareness of vascular calcification alters mineral metabolism management. *Semin Dial* 2010; 23: 267–270.
14. 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.
15. 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.
16. London GM. Osa ledvina - kost - céva. *Aktuality v nefrologii* 2009; 15: 30-34.
17. Dusilová Sulková S. Kostní choroba u chronického selhání ledvin a její moderní terapie. *Vnitř Lék* 2011; 57: 620-625.
18. Morrow B, Qunibi W. Specific bone and mineral disorders in patients with chronic kidney disease. *Clin Rev Bone Miner Metab* 2012; 10: 184.
19. Bubeníček P. Potransplantační kostní nemoc. In: Viklický O, Janoušek L, Baláž P et al. *Transplantace ledvin v klinické praxi*. Praha: Grada 2008: 321-325.
20. Moorthi RN, Moe SM. CKD-mineral and bone disorder: core curriculum 2011. *Am J Kidney Dis* 2011; 58:1022.

21. Astor BC, Shafi T, Hoogeveen RC et al. Novel markers of kidney function as predictors of ESRD, cardiovascular disease, and mortality in the general population. *Am J Kidney Dis* 2012; 59:653.
22. 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.
23. Sabbagh Y, Gracioli FG, O'Brien S. et al. Repression of osteocyte Wnt/ β -catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res* 2012; 27:1757.
24. Civitelli R, Armamento-Villareal R, Napoli N. Bone turnover markers: understanding their value in clinical trials and clinical practice. *Osteoporos Int* 2009; 20:843.
25. López I, Rodríguez-Ortiz ME, Almadén Y et al. Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Kidney Int* 2011; 80:475.
26. Souberbielle JC, Cavalier E, Jean G. Interpretation of serum parathyroid hormone concentrations in dialysis patients: what do the KDIGO guidelines change for the clinical laboratory? *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 769–774.
27. 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.
28. Isakova T, Wahl P, Vargas GS et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79:1370.

29. Moore C., Yee J., Malluche H et al. Relationship between bone histology and markers of bone and mineral metabolism in African-American hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1484–1493.
30. Gao P, D'Amour P. Evolution of the parathyroid hormone (PTH) assay importance of circulating PTH immunoheterogeneity and of its regulation. *Clin lab* 2005; 51: 21–29.
31. Silver J., Levi R. Regulation of PTH synthesis and secretion relevant to the management of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2005; 15: 4-8.
32. Hruska KA., Matjes S., Lund R et al. Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008; 74: 148-157.
33. Tentori F. Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Am J Kidney Dis* 2008; 52:519-530.
34. Schoppet M., Shanahn CM. Role for alkaline phosphatase as an inducer of vascular calcification in renal failure. *Kidney Int* 2008; 73: 989-991.
35. Schoppet M., Shanahn C.M. Role for alkaline phosphatase as an inducer of vascular calcification in renal failure. *Kidney Int* 2008; 73: 989-991.
36. Cunningham J, Locatelli F, Rodriguez M. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:913.
37. Gutiérrez O M. Fibroblast Growth Factor 23 and Disordered Vitamin D Metabolism in Chronic Kidney Disease: Updating the „Trade-off“ Hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 ;5:1710-1716.

38. Joly D, Drueke TB, Alberti C et al. Variation in serum and plasma PTH levels in second-generation assays in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Am J Kidney Dis* 2008; 51: 987–995.
39. Holmes DT, Levin A, Forer B et al. Preanalytical influences on DPC IMMULITE 2000 intact PTH assays of plasma and serum from dialysis patients. *Clin Chem* 2005; 51: 915–917.
40. Huan J, Olgaard K, Nielsen LB et al. Parathyroid hormone 7-84 induces hypocalcemia and inhibits the parathyroid hormone 1-84 secretory response to hypocalcemia in rats with intact parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1923–1930.
41. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest* 2007; 117: 4003–4008.
42. Souberbielle JC, Friedlander G, Cormier C. Practical considerations in PTH testing. *Clin Chim Acta* 2006; 366: 81–89.
43. 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.
44. 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.
45. Cannata Andia JB. Pathogenesis, prevention and management for low bone turnover. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 15:15-17.
46. Salutsky I.B., Silver J., eds. *The Spectrum of Mineral and Bone Disorders in Chronic Kidney Disease*. New York, NY: Oxford University Press 2010; 5: 1-14.

47. 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.
48. 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.
49. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2009.
50. Bauer D, Kregge 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.
51. Zoccali C, Abramowicz D, Cannata-Andia JB et al. European Best Practice Guidelines; European Renal Best Practice. European best practice quo vadis? From European Best Practice Guidelines (EBPG) to European Renal Best Practice (ERBP). *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2162–2166.
52. Malluche HH, Porter DS, Monier-Faugere MC et al. Differences in bone quality in low- and high-turnover renal osteodystrophy. *J Am Soc Nephrol* 2012; 23:525.
53. Covic A, Kothawala P, Bernal M et al. Systematic review of the evidence underlying the association between mineral metabolism disturbances and risk of all-cause mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular events in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1506–1523.

54. Ziolkowska H, Paniczyk-Tomaszewska M, Debinski A et al. Bone biopsy results and serum bone turnover parameters in uremic children. *Acta Paediatr* 2000; 89: 666–671.
55. 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.
56. Jamal SA, Chase C, Goh YI. et al. Bone density and heel ultrasound testing do not identify patients with dialysis-dependent renal failure who have had fractures. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 843-849.
57. 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.
58. Ketteler M, Giachelli C. Novel insights into vascular calcification. *Kidney Int* 2006;70:54-62.
59. Block GA, Maggi P, Bellasi A et al. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007; 71 :438-441.
60. London GM. Cardiovascular calcification in uremic patients: clinical impact on cardiovascular function. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 305-309.
61. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ et al. Changes in arterial stiffness and wave reflections with advancing age in healthy men and women: the Framingham Heart Study. *Hypertension*. 2004; 43: 1239–1245.
62. Guerin A, Blacher J, Pannier B et al. Impact of aortic stiffness attenuation on survival of patients in end-stage renal disease. *Circulation* 2001; 103: 987–992.

63. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney* 2003; 42:150-154.
64. Vanholder R, Abramowicz D, Jorge B et al. The future of European Nephrology 'Guidelines' declaration of intent by European Renal Best Practice (ERBP). *NDT Plus* 2009; 2: 213–221.
65. Kuhlmann MK. Phosphate elimination in modalities of hemodialysis and peritoneal dialysis. *Blood Purif* 2010; 29: 137–144.
66. Spasovski G, Gelev S, Masin-Spasovska J et al. Improvement of bone and mineral parameters related to adynamic bone disease by diminishing dialysate calcium. *Bone* 2007; 41: 698–703.
67. Mittalhenkle A, Gillen DL, Stehman-Breen CO. Increased risk of mortality associated with hip fracture in the dialysis population. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 672–679.
68. Taal MW, Masud T, Green D et al. Risk factors for reduced bone density in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1922-1928.
69. Malluche HH, Mawad H, Trueba D et al. Parathyroid hormone assays evolution and revolutions in the care of dialysis patients. *Clin Nephrol* 2003; 59: 313–318.
70. Reichel H, Esser A, Roth H-J. et al. Influence of PTH assay methodology on differential diagnosis of renal bone disease. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 759–768.
71. Gonzalez EA, Sachdeva A, Oliver DA et al. Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease. A single center observational study. *Am J Nephrol* 2004; 24: 503–510.

72. 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.
73. Ott SM. Bone histomorphometry in renal osteodystrophy. *Semin Nephrol* 2009; 29: 122-132.
74. Amerling R, Harbord NB, Pullman J et al. Bisphosphonate use in chronic kidney disease: association with adynamic bone disease in a bone histology series. *Blood Purif* 2010; 29: 293–299.
75. Frazão JM, Martins P. Adynamic bone disease: clinical and therapeutic implications. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 303.
76. Kaneko TM, Foley RN, Gilbertson DT et al. Clinical epidemiology of longbonefractures in patients receiving hemodialysis. *Clin Orthop Relat Res* 2007; 457: 188–193.
77. Gutierrez OM, Isakova T, Andress DL et al. Prevalence and severity of disordered mineral metabolism in Blacks with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008; 73: 956–962.
78. Drüeke TB, Ritz E. Treatment of secondary hyperparathyroidism in CKD patients with cinacalcet and/or vitamin D derivatives. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 234–241.
79. Fouque D, Vennegoor M, Ter Wee P et al. EBPG guideline on nutrition. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 45–87.
80. Fang Y, Ginsberg C, Sugatani T et al. Early chronic kidney disease-mineral bone disorder stimulates vascular calcification. *Kidney Int* 2014; 85:142

81. Laurent S, Boutouyrie P. Determination of systemic and regional arterial stiffness. In: Safar ME, O'Rourke MF (eds). Handbook of Hypertension (series editors: Birkenhäger WH, Reid JL), Vol. Arterial Stiffness in Hypertension. Elsevier, 2006; 53–62.
82. Coen G. Adynamic bone disease. J Nephrol 2005; 18: 110-126.
83. Kettler M., Martin K.J., Wolf M et.al. Paricalcitol vs cinacalcet plus low dose vitamin D therapy for treatment of secondary hyperparathyroidism in patients receiving haemodialysis: results of the IMPACT SHPT study. Nephrol Dial Transplant 2012; 27(8):3270-3278.
84. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. Am J Physiol 2005; 8: 289.
85. Block GA, Persky MS, Ketteler M et al. A randomized double-blind pilot study of serum phosphorus normalization in chronic kidney disease: a new paradigm for clinical outcomes studies in nephrology. Hemodial Int 2009; 13: 360–362.
86. Dempster W.D., Compston E.J., Drezner K.M et al. Standardized Nomenclature, Symbols, and Units for Bone Histomorphometry: A 2012 Update of the Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. Journal of Bone and Mineral Research 2013; 28(1):1-16.
87. Ferreira A, Frazão JM, Monier-Faugere MC et al. Sevelamer Study Group. Effects of sevelamer hydrochloride and calcium carbonate on renal osteodystrophy in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 2008; 19: 405–412.
88. Histomorphometric Measurements of Bone Turnover, Mineralization and Volume. Clin J Am Soc Nephrol 2008; 3: 151-156.
89. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C et al. Assessment of fracture risk. Osteoporos Int 2005; 16: 581–589.

90. 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.
91. 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.
92. Danese MD, Kim J, Doan QV et al. PTH and the risks for hip, vertebral, and pelvic fractures among patients on dialysis. *Am J Kidney Dis* 2006; 47:149–156.
93. Tonelli M, Wang W, Hemmelgarn B et al. Alberta Kidney Disease Network. Phosphate removal with several thrice-weekly dialysis methods in overweight hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 1108–1115.
94. Perazella MA, Markowitz GS. Bisphosphonate nephrotoxicity. *Kidney Int* 2008; 74: 1385–1393.
95. Walsh SB, Altmann P, Pattison J et al. Effect of pamidronate on bone loss after kidney transplantation: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 856–865.
96. Mahajan A, Narayanan M, Jaffers G et al. Hypoparathyroidism associated with severe mineral bone disease postrenal transplantation, treated successfully with recombinant PTH. *Hemodial Int* 2009; 13: 547–550.
97. Holick MF, Biancuzzo RM, Chen TC et al. Vitamin D2 is as effective as vitamin D3 in maintaining circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 677–681.
98. Saenger AK, Laha TJ, Bremner DE et al. Quantification of serum 25- hydroxyvitamin D(2) and D(3) using HPLC-tandem mass spektrometry and examination of reference

- intervals for diagnosis of vitamin D deficiency. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 914–920.
99. Binkley N, Krueger D, Gemar D et al. Correlation among 25-hydroxyvitamin D assays. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 1804–1808.
 100. Gauci C, Moranne O, Fouquieray B et al. Pitfalls of measuring total blood calcium in patients with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1592–1598.
 101. Rivedi H, Moore H, Atalla J. Lack of significant circadian and postprandial variation in phosphate levels in subjects receiving chronic hemodialysis therapy. *J Nephrol* 2005; 18: 417–422.
 102. Adragao T, Herberth J, Monier-Faugere MC et al. Femoral bone mineral density reflects histologically determined cortical bone volume in hemodialysis patients. *Osteoporos Int* 2010; 21: 619–625.
 103. Ketteler M, Brandenburg V, Jahnhen-Dechent W et al. Do not be misguided by guidelines: the calcium x phosphate product can be a Trojan horse. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 673–677.
 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. LaClair RE, Hellman RN, Karp SL et al. Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: a cross-sectional study across latitudes in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 1026–1033.
 106. Rivedi H, Moore H, Atalla J. Lack of significant circadian and postprandial variation in phosphate levels in subjects receiving chronic hemodialysis therapy. *J Nephrol* 2005; 18: 417–422.

107. Tsugawa N, Suhara Y, Kamao M et al. Determination of 25-hydroxyvitamin D in human plasma using high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal Chem* 2005; 77: 3001–3007.
108. 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.

IV. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORA

Původní vědecká publikace v časopise s IF

Žamboch K, Krejčí K, Škarda J, Tichý M, Überall I, Skýpalová P, Langová K, Stejskal D, Švesták M, Zahálková J, Ščudla V, Zadražil J.

Histomorphometric diagnostics of renal osteopathy in chronic dialysis patients at high risk of cardiovascular disease. *Int Urol Nephrol* 2015 Jul;47(7):1195-1201. doi: 10.1007/s11255-015-0989-x. Epub 2015 May 1. IF 1.519

Původní vědecká publikace v recenzovaném časopise

Žamboch, K., Zahálková, J., Kosatíková, Z., Skýpalová, P., Škarda, J., Zadražil, J.:

Přesná diagnostika jednotlivých forem renální osteopatie v rámci minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin. *Čes Revmatol* 2012;20(4):20-28.

Přehledná vědecká práce v recenzovaném časopise

Kamil Žamboch, Jana Zahálková, Zdenka Kosatíková: Minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin. *Inter Med* 2010; 12(7,8): 357–360.

Ostatní publikace

Žamboch, K., Ščudla, V., Pika, T., Tichá, V., Tichý, M.: Vzácná koincidence papulární mucinózy (lichen myxedematosus) s primární systémovou AL-amyloidózou. *Inter Med* 2008; 10:37-39.

Krejčí, K., Tichý, T., Horák, P., Ciferská, H., Smržová, A., Hrubý, M., Žamboch, K., Strojil, J., Bachleda, P., Zdražil, J.: Srovnání nefrotoxicity cyklosporinu a takrolimu vyhodnocením opakovaných protokolárních biopsií transplantovaných ledvin. *Aktuality v nefrologii* 2011;17 (4):17-23.

Krejčí, K., Tichý, T., Horák, P., Ciferská, H., Smržová, A., Hrubý, M., Žamboch, K., Bachleda, P., Zdražil, J.: Sekvenční protokolární biopsie transplantované ledviny a její komplikace – monocentrická studie. *Aktuality v nefrologii* 2001; 17(2):79-83.

Krejčí, K., Tichý, T., Al-Gabri, S., Horák, P., Ciferská, H., Hrubý, M., Horčíčka, V. Jr., Štrebl, P., Žamboch, K., Bachleda, P., Zdražil, J.: Protocol biopsy of a transplanted kidney as a tool for monitoring adequacy of immunosuppressive therapy: 10 years of experience from a single transplant center. *Transplantation Proceedings* 2011;43:1576-1582. doi:10.1016/j.transproceed.2011.03.008.

Orság, J., Pika, T., Kosatíková, Z., Lochman, P., Žamboch, K., Minařík, J., Hrubý, M., Ščudla, V., Zadražil, J.: Hemodialýza s použitím „high cut-off“ membrán při selhání ledvin u mnohočetného myelomu – první zkušenosti. *Klin Biochem Metab* 2013;21(42):88-92.

Orsag J, Flodr P, Melter O, Tkadlec J, Sternbersky J, Hruby M, Klicova A, Zamboch K, Krejci K, Zadrzil J.: Cutaneous bacillary angiomatosis due to *Bartonella quintana* in a renal transplant recipient. *Transpl Int* 2015;28(5):626-31. doi: 10.1111/tri.12539. Epub 2015 Feb 18.

Kapitola v monografii

Žamboch K., Krejčí, K., Zadražil, J.: Hypertenze v predialýze a možnosti její léčby, s. 82-91. In: Viklický O.: *Predialýza*, Maxdorf 2013. ISBN 978-80-7345-356-5.

Abstrakta v časopise s IF

Žamboch K., Zahálková J., Kosatíková Z. et al. Bone histomorphometry in patients undergoing dialysis with serious calcifications. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27(2):492-510.

Abstrakta

Žamboch, K., Zadražil, J., Tichý, T., Al-Jabry, S., Štrébl, P.: Diferenciální diagnostika nefrotického syndromu u diabetiků. *Vnitř Lék* 2006;52(5):541.

Žamboch, K., Tichá, V., Pika, T., Ščudla, V.: Vzácná koincidence papulární mucinózy (lichen myxedematosus) s primární AL-amyloidózou. Vnitř Lék 2007;53(5):591.

Žamboch, K., Zahálková, J., Kosatíková, Z., Šrámková, J.: Úspěšná léčba pokročilé formy sekundární hyperparatyreózy. Vnitř Lék 2009;55(1):181-182.

Žamboch, K., Kosatíková, Z., Zahálková, J., Žurková, M., Kolek, V., Ščudla, V.: Využití membránové plazmaferézy u plicní alveolární proteinózy. Vnitř Lék 2010;56(5):477-478.

Žamboch, K., Zadražil, J., Krejčí, K., Zahálková, J., Ščudla, V.: Minerálová a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin. Vnitř Lék 2011;57(5):33.

Žamboch, K., Zahálková, J., Kosatíková, Z., Skopalová, P., Škarda, J., Zadražil, J.: Kostní histomorfometrie u dialyzovaných pacientů se závažnými kalcifikacemi. Aktuality v nefrologii 2012;18(1):38.

Žamboch, K., Krejčí, K., Škarda, J., Langová, K., Stejskal, D., Švesták, M., Zahálková, J., Zadražil, J.: Histomorfometrie renální osteopatie u minerálové a kostní nemoci při chronickém selhání ledvin. Vnitř Lék 2013;59(5):24.

Žamboch, K., Krejčí, K., Škarda, J., Langová, K., Stejskal, D., Švesták, M., Zahálková, J., Zadražil, J.: Histomorfometrie renální osteopatie u minerálové a kostní nemoci při chronickém selhání ledvin. Osteologický bulletin 2013;18(3):124-125.

Žamboch, K., Krejčí, K., Škarda, J., Tichý, M., Uberal, I., Skýpalová, P., Langová, K., Stejskal, D., Švesták, M., Zahálková, J., Ščudla, V., Zadražil, J.: Histomorfometrická diagnostika renální osteopatie u chronicky dialyzovaných pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem. *Aktuality v nefrologii* 2014;20(1):32.

Abstrakta- spoluautor

Zahálková, J., Žamboch, K., Zapletalová, J., Kosatíková, Z., Hrubý, M.: Význam změn svalové hmoty a tukové tkáně v průběhu chronické hemodialyzační léčby. *Aktuality v nefrologii* 2008;14(2):79.

Horák, P., Zadražil, J., Skácelová, M., Žamboch, K.: Dialyzační osteoartropatie. 55. zjazd slovenských a českých reumatológov. *Rheumatologia* 2011;25(3):143-144.

Hrušková, Z., Jančová, E., Žamboch, K., Hanzal, V., Svojanovský, J., Ševčík, J., Grussmannová, M., Klaboch, J., Němec, P., Tesař, V.: Národní klinický registr ANCA-asociovaných vaskulitid: 3 roky existence. *Aktuality v nefrologii* 2012;18(1):14.

Krejčí, K., Tichý, T., Hrubý, M., Žamboch, K., Orság, J., Bachleda, P., Zadražil, J.: Komplikace protokolárních biopsií transplantovaných ledvin: 10 let zkušeností transplantčního centra Olomouc. *Aktuality v nefrologii* 2012;18(1):21.

Kajabová, M., Zdražil, J., Horák, P., Krejčí, K., Kosatíková, Z., Hrubý, M., Žamboch, K., Orság, J.: Prospektivní sledování vybraných parametrů oxidačního stresu po transplantaci ledviny. *Aktuality v nefrologii* 2012;18(1):31-32.

Orság, J., Pika, T., Kosatíková, Z., Lochman, P., Žamboch, K., Minařík, J., Klíčová, A., Ščudla, V., Zdražil, J.: „High-cut-off“ hemodialýza – nová možnost v terapii ledvinného selhání u mnohočetného myelomu. *Vnitř lék* 2013;59(5):25.

Orság, J., Pika, T., Kosatíková, Z., Lochman, P., Žamboch, K., Minařík, J., Klíčová, A., Ščudla, V., Zdražil, J.: „High cut-off“ hemodialýza v terapii ledvinného selhání u mnohočetného myelomu – první zkušenosti. *Aktuality v nefrologii* 2014;20(1):28.

Orság, J., Šafránek, P., Metelka, R., Turczányi, P., Mazánek, L., Zelená, H., Pucek, L., Zahálková, J., Krejčí, K., Žamboch, K., Kosatíková, Z., Zdražil, J.: Co skrývá vaše zahrádka? Aneb hantaviry na Moravě. *Vnitř Léč* 2014;60(5-6):21.

Krejčí, K., Žamboch, K., Orság, J., Hrubý, M., Kíčová, A., Kosatíková, Z., Černá, M., Zdražil, J.: Pozdní ruptura lumbální artérie jako vzácná komplikace renální biopsie. *Aktuality v nefrologii* 2014;20(1):33.

V. PŘÍLOHY - PUBLIKACE AUTORA SOUVISEJÍCÍ S DIZERTAČNÍ PRACÍ

Histomorphometric diagnostics of renal osteopathy in chronic dialysis patients at high risk of cardiovascular disease.

Žamboch K, Krejčí K, Škarda J, Tichý M, Überall I, Skýpalová P, Langová K, Stejskal D, Švesták M, Zahálková J, Ščudla V, Zadražil J.

Int Urol Nephrol 2015 Jul;47(7):1195-1201. doi: 10.1007/s11255-015-0989-x. Epub 2015 May 1. IF 1.519

Přesná diagnostika jednotlivých forem renální osteopatie v rámci minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin.

Žamboch, K., Zahálková, J., Kosatíková, Z., Skýpalová, P., Škarda, J., Zadražil, J.:
Čes Revmatol 2012;20(1):20-28.

Minerálová a kostní nemoc při chronickém onemocnění ledvin.

Kamil Žamboch, Jana Zahálková, Zdenka Kosatíková

Inter Med 2010; 12(7, 8): 357–360.