

POSTGRADUÁLNÍ NEFROLOGIE

VÝBĚR ZE SVĚTOVÉ LITERATURY S KLINICKÝMI KOMENTÁŘI

Ročník 2 Číslo 3

Červen 2004

Řídí redakční rada:

Předseda:

MUDr. Štefan Vítko, CSc.,
Transplantcentrum IKEM, Praha

Členové:

Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.,
I. interní klinika 3. LF UK
a Interní oddělení VFN Strahov, Praha

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.,
Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN,
Praha

Doc. MUDr. Miroslav Merta, CSc.,
Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN,
Praha

MUDr. Ondřej Víklík, CSc.,
Klinika nefrologie TC IKEM, Praha

Informační bulletin Postgraduální nefrologie

Vydává jako čtvrtletník
Medical Tribune CZ, s. r. o.

Redakce:
Mgr. J. Hořejší
Mgr. D. Lipovská

Vydání umožňuje vzdělávací grant
společnosti Roche, s. r. o.

Zástupce:
MUDr. E. Houbová

Názory publikované v tomto periodiku
se nemusí nutně shodovat s názory
nakladatele nebo sponsora.

Copyright © 2004
MEDICAL TRIBUNE GROUP

Žádná část tohoto časopisu nesmí být
kopírována ani rozmnožována
za účelem dalšího rozšiřování v jakékoli
formě či jakýmkoli způsobem bez
písemného souhlasu vlastníka
autorských práv.

Registrováno pod č. MK ČR E 14238
ISSN: 1214-178X

OBSAH

- **Léčba ANCA-pozitivní systémové vaskulitidy protilátkou proti TNF α** 34
- **Má hypolipidemická léčba u pacientů s chronickým onemocněním ledvin stejný vliv na kardiovaskulární morbiditu jako u pacientů s ischemickou chorobou srdeční?** 35
- **Hyperparathyreóza jako jedna z příčin rezistence na erythropoetin: patogenetické mechanismy a jejich klinický význam** 37
- **Hodnota hematokritu v jednotlivých kompartmentech cévního řečiště není konstantní. Je toto zjištění klinicky významné pro sledování změn hydratace během dialýzy?** 38
- **Hypertenze dárce negativně ovlivňuje prognózu transplantované ledviny** 40
- **Zvýšená koncentrace homocysteinu zvyšuje expresi transkripčního faktoru pro zánětlivé cytokiny v experimentálním modelu – příspěvek k poodhalení patogeneze renálního poškození u nemocných s hyperhomocysteinémií?** 41
- **Prognóza a rizikové faktory idiopatické membranózní nefropatie provázené nefrotickým syndromem** 43
- **Protilátky proti erythropoetinu a aplazie červené řady** 45
- **Slovní (nematematické) vysvětlení Coxovy analýzy poměru rizik** 46



www.nefrol.cz

Vydávají:

Česká nefrologická společnost a Česká transplantační společnost



Vychází díky vzdělávacímu grantu společnosti ROCHE s. r. o.

Léčba ANCA-pozitivní systémové vaskulitidy protilátkou proti TNF α

Booth A, Harper L, Hammad T, et al. Prospective study of TNF α blockade with infliximab in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated systemic vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 717–721.

Předpokládá se, že faktor nekrotizující tumory (TNF α) hraje důležitou roli v patogenezi ANCA-pozitivní vaskulitidy. Protilátky proti cytoplasmě neutrofilních leukocytů aktivují neutrofile stimulované v předchozím období TNF α . Pacienti s aktivní ANCA-pozitivní vaskulitidou mají zvýšené sérové hodnoty TNF α i jeho solubilních receptorů, u pacientů v remisi jsou hodnoty TNF α i jeho solubilních receptorů významně nižší, i když často zůstávají vyšší než u zdravých osob (Tesař et al., 1998). Podání protilátky proti TNF α (infliximabu) nebo solubilního receptoru TNF α (etanerceptu) by tak mohlo mít příznivý efekt na průběh onemocnění. Příznivý vliv protilátky proti TNF α byl pozorován u experimentální srpkovité glomerulonefritidy a byl také popsán u pacientů s refrakterní Wegenerovou granulomatózou (Bartolucci et al., 2002).

V otevřené, multicentrické, prospektivní studii byli léčeni infliximabem pacienti s ANCA-pozitivní vaskulitidou (Wegenerovou granulomatózou i mikroskopickou polyangiitidou) ve věku 18–85 let. Pacienti byli zařazeni do jedné ze dvou skupin: pacienti s akutním onemocněním (první manifestací nebo relapsem) a pacienti s perzistující aktivitou onemocnění, kteří absolvovali před zařazením do studie alespoň tříměsíční léčbu prednisolonem a cyklofosfamidem, azathioprinem nebo metotrexátem, a nedosáhli remise onemocnění. Do studie nebyli zařazeni mj. pacienti s život ohrožujícími plicními projevy vaskulitidy. Doba sledování byla 18 měsíců.

V každé skupině bylo 16 pacientů, pacienti s akutním onemocněním měli výrazně vyšší aktivitu onemocnění (dle Birmingham Vasculitis Activity Score – BVAS) než nemocní s perzistujícím onemocněním (skóre vyšší než 10 u akutního onemocnění a vyšší než 4 u perzistujícího onemocnění). Všichni nemocní byli léčeni infliximabem v úvodní dávce 5 mg/kg, která pak byla opakována za 2, 6 a 10 týdnů. V obou podskupinách měli pacienti navíc obvyklou terapii. Akutní pacienti byli současně léčeni prednisolonem a cyklofosfamidem a pacienti s perzistujícím onemocněním pokračovali v zavedené udržovací léčbě s postupným snižováním dávky prednisolonu dle klinického stavu. Pacienti s perzistujícím onemocněním, u nichž bylo léčbou infliximabem dosaženo remise, pokračovali v léčbě infliximabem ve stejné dávce v šestitýdenních intervalech po dobu jednoho roku.

Průměrný věk léčených pacientů byl 52,4 let, 53 % léčených nemocných byly ženy, doba sledování byla 16,8 měsíců. Remise bylo dosaženo u 88 % pacientů (stejně v obou léčených skupinách), skóre aktivity (BVAS) kleslo z 12,3 na začátku léčby na 0,3 ve 14.

týdnu sledování. C-reaktivní protein klesl v průměru z 29,4 na 7,0 mg/l. Střední dávku prednisolonu bylo možno snížit u pacientů s perzistujícím onemocněním z 23,8 na 8,8 mg. V průběhu léčby dva pacienti zemřeli a u sedmi pacientů proběhly závažné infekce. Relaps vznikl u pěti pacientů (z toho u tří pacientů s perzistujícím onemocněním, kteří byli v době relapsu stále léčeni v šestitýdenních intervalech infliximabem) po střední době 27 týdnů od začátku léčby.

U pacientů léčených infliximabem byla zaznamenána dvě úmrtí (jedno v důsledku krvácení do plic, druhé v důsledku bronchopneumonie v pravděpodobné souvislosti s cyklofosfamidem indukovanou leukopenií) a pět dalších závažných infekčních komplikací (bronchopneumonie, urosepsy, absces na noze vyžadující chirurgickou drenáž, endoftalmitida s nutností eviscerace oka a kožní infekce kombinovaný s infekcí močových cest). U jednoho pacienta léčeného v minulosti cyklofosfamidem (kumulativní dávka 26 g) se vyvinul ne Hodgkinský lymfom, u dalších dvou pacientů se vyvinuly trombotické komplikace (plicní embolie a trombóza axilární žíly).

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Léčba kortikosteroidy a cyklofosfamidem dramaticky zlepšila prognózu nemocných s Wegenerovou granulomatózou. Zatímco 85 % neléčených pacientů umíralo do dvou let od diagnózy, kombinovanou imunosupresivní léčbou (kortikosteroidy a cyklofosfamidem) lze dnes dosáhnout remise onemocnění do 6 měsíců u 95 % léčených nemocných (Jayne et al., 2003). Při této léčbě ale vyvine minimálně 25 % nemocných závažné nežádoucí účinky (především infekční komplikace) a asi u 50 % nemocných se vyvíjí během několika let po navození remise relaps onemocnění. Relapsy vyžadují opakování léčby cyklofosfamidem se zvyšujícím se rizikem chronické toxicity (gonadotoxicita, sekundární malignity) v důsledku zvyšující se kumulativní dávky cyklofosfamidu. V důsledku opakovaných relapsů navíc přibývá ireverzibilního poškození orgánů, které může mít za následek vývoj terminálního selhání ledvin nebo respirační insuficience. Hledání nových srovnatelně účinných, ale méně toxických terapeutických postupů je tedy plně oprávněné.

Cílem komentované studie bylo zhodnotit účinnost a bezpečnost protilátky proti TNF α (infliximabu) u pacientů s ANCA-pozitivní vaskulitidou, buď vysoce aktivní (při první manifestaci či relapsu) či s perzistující aktivitou po absolvování standardní indukční léčby (kortikosteroidy a cyklofosfamid). U vysoce aktivních pacientů byl infliximab podáván současně s indukční léčbou kortikosteroidy a cyklofosfamidem, u pacientů s perzistující aktivitou byl podáván paralelně s léčbou udržovací (kortikosteroidy a azathioprin, nebo mykofenolát). Z hlediska efektu je pozoruhodné zejména dosažení remise u 88 % pacientů s perzistující aktivitou, a to při současném významném snížení dávky

podávaného prednisolonu. Toboto efektu bylo velmi pravděpodobně dosaženo při neměnicích se nebo snižujících se dávkách dalších léků právě infliximabem. Hodnocení přínosu infliximabu u pacientů s první manifestací či relapsem onemocnění, kde byl přidán ke standardní indukční léčbě, je problematické, i když průměrná doba potřebná k navození remise (6 týdnů) byla mírně kratší, než je tomu při standardní léčbě kortikosteroidy a cyklofosfamidem, a léčba infliximabem umožnila rychlejší redukci prednisolonu, takže kumulativní dávka prednisolonu byla asi o 40 % nižší než u pacientů léčených standardní indukční léčbou (Jayne et al., 2003). Dvacet procent nemocných s perzistující aktivitou, u nichž bylo léčbou infliximabem dosaženo remise, relabovalo přes pokračující léčbu infliximabem (šlo zejména o c-ANCA-pozitivní pacienty s postižením ORL oblasti). Komentovaná studie neumožňuje posoudit, zda tomu tak bylo v důsledku aktivace jiných prozánětlivých cytokinů nebo nedostatečné inhibice TNF α v důsledku např. příliš dlouhých intervalů mezi podávanými dávkami infliximabu nebo nedostatečné dávky infliximabu.

Závažné infekční komplikace vyžadující hospitalizaci se vyskytly při léčbě infliximabem u 21 % pacientů s ANCA-pozitivní vaskulitidou, což je podobné jako při léčbě pacientů s vaskulitidou jen kortikosteroidy a cyklofosfamidem, ale více než při léčbě revmatoidní artritidy infliximabem a nízkou dávkou metotrexátu. Pacienti s vaskulitidou léčení infliximabem v komentované studii měli jistě vysoké riziko infekce jak v důsledku předchozí imunosupresivní léčby, tak v důsledku současné léčby dalšími imunosupresivy.

Bylo by jistě velmi zajímavé srovnat u aktivní vaskulitidy účinnost i bezpečnost terapie infliximabem s malou dávkou metotrexátu (režimu používaného u revmatoidní artritidy) se standardní léčbou kortikosteroidy a cyklofosfamidem. Pokud by byla účinnost infliximabu bez cyklofosfamidu (nebo alespoň s nižší kumulativní dávkou cyklofosfamidu) podobná jako účinnost standardní léčby cyklofosfamidem, mohl by se infliximab stát pro indukční terapii ANCA-pozitivní vaskulitidy lékem volby. Infliximab může být jistě také užitečnou alternativou u pacientů refrakterních na léčbu cyklofosfamidem. Pro udržovací léčbu bude nezbytné definovat optimální režim podávání infliximabu. Infliximab není plně humanizovaná protilátka a vyžaduje současnou léčbu alespoň nízkou dávkou standardního imunosupresiva, které blokuje tvorbu protilátek proti infliximabu. Do léčby revmatoidní artritidy byla nedávno zavedena plně humanizovaná anti-TNF protilátka (adalimumab). Tato protilátka zatím u vaskulitidy použita nebyla. Výsledky probíhající americké studie s léčbou Wegenerovy granulomatózy solubilním receptorem TNF α etanerceptem by mohly naznačit, zda je u vaskulitidy účinnost infliximabu a etanerceptu srovnatelná. U Crohnovy choroby je zřejmě etanercept méně účinný než infliximab. Dosavadní limitované informace naznačují vysoké riziko relapsů u pacientů s Wegenerovou

granulomatózou léčených etanerceptem (Stone et al., 2001).

Literatura

Bartolucci P, Ramanoelina J, Cohen P, et al. Efficacy of the anti-TNF α antibody infliximab against refractory systemic vasculitides: an open pilot study on 10 patients. *Rheumatology* 2002;41:1126–1132.

Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, et al. A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *N Engl J Med* 2003;349:36–44.

Stone JH, Uhlfelder ML, Hellmann DB, et al. Etanercept combined with conventional treatment in Wegeners granulomatosis: a six-month open-label trial to evaluate safety. *Arthritis Rheum* 2001;44:1149–1154.

Tesař V, Mašek Z, Rychlík I, et al. Cytokines and adhesion molecules in renal vasculitis and lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:1662–1667.

Má hypolipidemická léčba u pacientů s chronickým onemocněním ledvin stejný vliv na kardiovaskulární morbiditu jako u pacientů s ischemickou chorobou srdeční?

Fabti R, Isbel N, Short L, et al. The effect of long-term aggressive lipid lowering on ischemic and atherosclerotic burden in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2004;350:971–980.

Pacienti s chronickým onemocněním ledvin mají zvýšenou kardiovaskulární mortalitu již při poklesu kalkulované glomerulární filtrace pod 1 ml/s. Kardiovaskulární riziko zřejmě dále roste s progresí chronické renální insuficience, dialyzovaní nemocní mají kardiovaskulární mortalitu ve srovnání s osobami srovnatelného věku zhruba desetkrát vyšší.

Australští autoři léčili skupinu pacientů s chronickým onemocněním ledvin a věkově srovnatelnou skupinu pacientů s chronickou ischemickou chorobou srdeční a normální renální funkcí atorvastatinem dva roky a sledovali v obou skupinách změny lipidového profilu, tloušťky intimy a medie karotid a dobutaminové echokardiografie se snahou určit rizikové faktory progresu tloušťky intimy a medie. Do skupiny nemocných s chronickým onemocněním ledvin (38 pacientů středního věku 63 ± 13 let) byli zařazeni pacienti s alespoň šestměsíčním trváním výrazně snížené renální funkce (kalkulovaná glomerulární filtrace nižší než 0,5 ml/s/1,73 m² nebo dialyzační léčba – 12 pacientů hemodialyzovaných, 9 pacientů na peritoneální dialýze, 17 pacientů v predialýze) ve věkovém rozmezí 18–80 let. Kontrolní skupinu (32 pacientů srovnatelného věku) tvořili nemocní s chronickou ischemickou chorobou srdeční s kalkulovanou glomerulární filtrací vyšší než 1,5 ml/s/1,73 m². Pacienti s ischemickou chorobou srdeční měli alespoň 50% stenózu koronární tepny na koronarografii (27 pacientů) nebo klasické příznaky anginy pectoris s pozitivní dobutaminovou echokardiografií (5 pacientů) a nebyli z různých důvodů indikováni k revaskularizaci. Všich-

ni pacienti byli léčeni atorvastatinem ve vstupní dávce 20 mg denně, která se postupně zvyšovala až na 80 mg denně se snahou dosáhnout cílové koncentrace LDL cholesterolu nižší než 2,0 mmol/l.

Vstupní koncentrace celkového cholesterolu byly u pacientů s ischemickou chorobou srdeční statisticky významně vyšší než u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, sérové koncentrace triglyceridů byly naopak statisticky významně vyšší u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, sérová koncentrace LDL cholesterolu se mezi oběma skupinami statisticky významně nelišila. Po dvou letech dosáhlo cílového sérového LDL cholesterolu nižšího než 2,0 mmol/l 51 % pacientů s chronickým onemocněním ledvin a 68 % pacientů s chronickou ischemickou chorobou srdeční. Přestože se dosažený LDL cholesterol mezi oběma skupinami pacientů významně nelišil, ke snížení tloušťky intimy a medie došlo pouze u pacientů s ischemickou chorobou srdeční, ale nikoli u nemocných s chronickým onemocněním ledvin. Hlavními prediktory maximální tloušťky intimy a medie byly onemocnění ledvin, kouření, vstupní LDL cholesterol a VLDL cholesterol a užívání blokátorů kalciových kanálů. V mnohohorozměrové analýze zůstaly nezávislémi prognostickými faktory jen onemocnění ledvin a vstupní LDL a VLDL cholesterol. K poklesu počtu ischemických segmentů při dobutaminové echokardiografii došlo také jen u pacientů s ischemickou chorobou srdeční, ale nikoli u nemocných s chronickým onemocněním ledvin. Celková změna v počtu ischemických segmentů při dobutaminové echokardiografii korelovala se sonograficky změřenou změnou v tloušťce intimy a medie.

U pacientů s chronickým onemocněním ledvin, kteří jsou léčeni agresivní hypolipidemickou léčbou, tedy nedochází při srovnatelné redukci sérové koncentrace cholesterolu ke srovnatelné regresi aterosklerózy jako u pacientů s chronickou ischemickou chorobou srdeční.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Je známo, že dialyzovaní pacienti, u nichž byla provedena perkutánní koronární angioplastika (bez stentu nebo se stentem) či aortokoronární bypass, mají horší prognózu než pacienti s normální renální funkcí (Herzog et al., 2002). Důvodem může být např. odlišná charakteristika cévních změn, kde u dialyzovaných pacientů jsou ve srovnání s nemocnými s normální renální funkcí podstatně častěji zastoupeny pokročilejší aterosklerotické změny, podstatně vyšší je zejména zastoupení kalcifikovaných aterosklerotických lézí (kromě kalcifikací cévní medie).

Statiny jsou zatím u pacientů s chronickým onemocněním ledvin používány méně často než v běžné populaci, i když jejich používání stoupá. Retrospektivní studie ukázala, že dialyzovaní pacienti léčení statiny mají nižší kardiovaskulární mortalitu než pacienti statiny neléčení (Seliger et al., 2002). V současné době probíhá několik velkých prospektivních studií, které by měly

ukázat, zda léčba statiny u dialyzovaných pacientů s chronickým selháním ledvin a/nebo u pacientů s chronickou renální insuficiencí opravdu snižuje kardiovaskulární mortalitu (Wanner et al., 1999). Na základě vysokého kardiovaskulárního rizika navrhuji nedávno publikovaná doporučení K/DOQI (2003) léčbu statiny u pacientů s chronickým selháním ledvin a koncentrací LDL cholesterolu vyšší než 2,6 mmol/l, a rovněž u pacientů s LDL cholesterolem nižším než 2,6 mmol/l, pokud mají sérové koncentrace triglyceridů vyšší než 2,2 mmol/l a non-HDL cholesterol vyšší než 3,36 mmol/l.

Komentovaná studie ukazuje, že výsledky takovéto agresivní hypolipidemické léčby nemusejí být u pacientů s chronickým selháním ledvin stejně dobré jako u nemocných s normální renální funkcí. Řada studií prokázala u pacientů s ischemickou chorobou srdeční nebo u pacientů s hypercholesterolemií bez klinických známek ischemické choroby srdeční regresi nebo zpomalení progresu sonograficky měřené tloušťky intimy a medie karotid (např. Mercuri et al., 1996). Chronické selhání ledvin je rizikovým faktorem ztlustění intimy a medie karotid (Shoji et al., 2002), dialyzovaní pacienti s největší tloušťkou intimy a medie mají nejvyšší kardiovaskulární mortalitu (Nishizawa et al., 2003).

Efekt statinů na tloušťku intimy a medie karotid by jistě měl být testován na větším souboru nemocných, event. by měl být srovnán s efektem léčby zaměřené i na další rizikové parametry (např. poruchy kalcium-fosfátového metabolismu). Komentovaná studie potvrzuje, že rozdíly v patogenezi, prognóze a odpovědi na léčbu mezi kardiovaskulárním onemocněním u lidí s normální renální funkcí a pacientů s chronickým selháním ledvin jsou tak podstatné, že poznatky získané u normální populace nelze automaticky na pacienty se selháním ledvin převádět. Prospektivní studie dostatečného rozsahu studující vliv různých terapeutických intervencí na kardiovaskulární prognózu pacientů s chronickým selháním ledvin jsou proto pro definování doporučených postupů naléhavě potřebné.

Literatura

Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Comparative survival of dialysis patients in the United States after coronary angioplasty, coronary artery stenting, and coronary artery bypass surgery and impact of diabetes. *Circulation* 2002;106:2207–2211.

K/DOQI Clinical Practice Guidelines for managing dyslipidemias in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;41(Suppl 3):S1–S91.

Mercuri M, Bond MG, Sirtori CR, et al. Pravastatin reduces carotid intima-media thickness progression in an asymptomatic hypercholesterolemic Mediterranean population: The Carotid Atherosclerosis Italian Ultrasound Study. *Am J Med* 1996;101:627–634.

Nishizawa Y, Shoji T, Maekawa K, et al. Intima-media thickness of carotid artery predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003;41(Suppl 1):S76–S79.

Seliger SL, Weiss NS, Gillen DL, et al. HMG-CoA reductase inhibitors are associated with reduced mortality in ESRD patients. *Kidney Int* 2002;61:297–304.

Shoji T, Emoto M, Tabata T, et al. Advanced atherosclerosis in predialysis patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 2002;61:2187–2192.

Wanner C, Krane V, Ruf G, et al. Rationale and design of a trial improving outcome of type 2 diabetics on hemodialysis. *Kidney Int* 1999;56(Suppl 71):S-222–S-226.

Hyperparathyreóza jako jedna z příčin rezistence na erythropoetin: patogenetické mechanismy a jejich klinický význam

Brancaccio D, Cozzolino M, Gallieni M. Hyperparathyroidism and anemia in uremic subjects. A combined therapeutic approach. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:S21–S24

Odpověď na rHuEPO, tj. stupeň úpravy červeného krevního obrazu, je u jednotlivých pacientů značně variabilní. S účinkem erythropoetinu totiž interferuje aditivně či protikladně celá řada dalších mechanismů. K těm, které se uplatňují při rezistenci na erythropoetin, je řazena i sekundární hyperparathyreóza. Vztah mezi erythropoetinem a parathormonem, resp. hyperparathyreózou u dialyzovaných pacientů, je předmětem přehledné analýzy Brancaccia a spol. Cíleně se pak zaměřují na souvislost mezi léčbou hyperparathyreózy a anémií.

Autoři připomínají definici „neadekvátní odpovědi“ na léčbu erythropoetinem, publikovanou v roce 1997 v DOQI: není-li dosaženo cílové koncentrace Hb během 4–6 týdnů při dávkách 300 U/kg týdně s.c. (při současných dostatečných zásobách železa v organismu) (NKF-DOQI, 1997). Uvádí též tabulku s přehledem faktorů dosud rozpoznaných v rezistenci na erythropoetin (deficit železa, zánět, infekce, malignita, aluminiová akumulace, sekundární hyperparathyreóza, malnutrice, urémie, krevní ztráty, dysfunkce kostní dřeně, deficit vitamínu B₁₂, deficit kyseliny listové, chemoterapeutika a imunosupresiva).

Vztah mezi hyperparathyreózou a anémií, resp. erythropoézou, je komplikovaný a v řadě aspektů zůstává stále kontroverzní. Mechanismus či mechanismy, jimiž by parathormon mohl snižovat krvetvorbu, resp. působit rezistenci na rekombinantní erythropoetin, nejsou přesně objasněny a autoři předkládají publikovaná potvrzení, či naopak vyvrácení jednotlivých možností.

Teoreticky může být negativní efekt PTH na erythropoézu přímý a nepřímý. K mechanismům přímé toxicity přiřazuje autor následující tři možnosti: inhibice syntézy endogenního erythropoetinu, inhibiční vliv na progenitory erythropoézy v kostní dřeni a zkrácení přežívání erytrocytů. Nepřímá toxicita PTH je zprostředkována úbytkem funkční kostní dřeně při fibrotizaci při hyperparathyreóze.

První ze tří možných přímých mechanismů ilustruje např. Washio (1992). U 10 chronicky hemodialyzovaných pacientů byl po parathyreoidektomii pozorován výrazný nárůst hodnoty endogenního erythropoetinu v časném pooperačním období (zvýšení z průměrné hodnoty 48 mU/ml na 103 mU/ml za 6 hodin a na 163 mU/ml za 12 hodin po operaci). Souběžně však významně klesla hodnota ionizovaného kalcia. Protože hodnota EPO nestoupla v případech neúplné para-

thyreoidektomie, je zvažován též i možný vliv hypokalcémie.

Druhý ze zmiňovaných přímých mechanismů, tj. inhibice progenitorových buněk, je dle literatury poměrně rozporný. Autoři uvádějí jak práce podporující tuto hypotézu, tak i nálezy, které v experimentu takovýto přímý inhibiční vliv erythropoetinu neprokázaly.

Třetí možný přímý mechanismus není blíže diskutován, jen je zmíněno, že PTH zvyšuje osmotickou fragilitu erytrocytů.

Poměrně jednoznačně však vyznívá mechanismus nepřímé interference PTH a erythropoézy: rozsah fibrotizace kostní dřeně zvyšuje spotřebu erythropoetinu (Rao 1993) a dle mínění autora je fibrotizace kostní dřeně hlavním mechanismem, jímž parathormon, resp. sekundární hyperparathyreóza, působí rezistenci na erythropoetin.

V dalším textu jsou zmiňovány klinické studie zabývající se vztahem PTH, anémie a odpovědi na léčbu lidským rekombinantním erythropoetinem. I v klinických studiích je skutečná role hyperparathyreózy v dopadu na erythropoézu poměrně rozporuplná, nicméně opakovaně doložená. Jsou uvedeny ilustrativní kazuistiky, např. zvýšení hematokritu na 30–40 % během několika týdnů po parathyreoidektomii, při současném poklesu dávek erythropoetinu o polovinu (před parathyreoidektomií byla hodnota hematokritu 25 %, a to přes týdenní dávky erythropoetinu 240 U/kg).

Následující text je věnován rozvaze o možném vlivu aktivního vitamínu D. Teoreticky by měla konzervativní terapie hyperparathyreózy mít na anémii podobný pozitivní vliv jako chirurgická parathyreoidektomie, v tomto aspektu jsou rozebrány čtyři dosud publikované studie, které přínos aktivního vitamínu D potvrdily (například práce španělských autorů – Goicoechea 1998, viz komentář). Možným vysvětlením je zmírnění fibrotizace kostní dřeně, ale nelze vyloučit ani přímý vliv kalcitriolu na erythropoézu a v tomto ohledu jsou zapotřebí další studie.

V závěru autor připomíná, že jakýkoli progredující vzestup PTH znamená vzestup spotřeby erythropoetinu a riziko rezistence na EPO. Proto včasná a účinná prevence a terapie poruchy fosfokalciového metabolismu jsou součástí optimalizace terapie rekombinantním lidským erythropoetinem.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.

Práce předkládá rozvahu o vztahu hyperparathyreózy a anémie (resp. rezistence na erythropoetin) u dialyzovaných pacientů. Zvažuje možné mechanismy, jimiž parathormon na erythropoézu působí, a uvádí charakteristiku prací, které v experimentu či klinickém pozorování tyto mechanismy potvrzují (či naopak jejich platnost neprokazují).

Práce demonstrující zvýšení koncentrace endogenního erythropoetinu po parathyreoidektomii pocházejí ze začátku devadesátých let, neboli z období, kdy te-

rapie rekombinantním erythropoetinem nebyla natolik rozšířená, jak je tomu v současné době. Další studie v tomto obledu by v současné době byly metodicky problematické, neboť těžko si lze představit, že by byl sestaven dostatečně početný soubor pacientů bez terapie rHuEPO. Navíc, v době širokého používání rHuEPO je podstatně důležitější zajistit jeho optimální efektivitu, než samotné zvýšení koncentrace endogenního erythropoetinu (to je z podstaty selhání ledvin značně limitované).

Přímý inhibiční vliv parathormonu na progenitory erytropoézy je nepravděpodobný. Dokládá to například Komatsuda (2001), který studoval kultury buněk kostní dřeně šesti zdravých osob – dobrovolníků. Nezjistil inhibici erytropoézy (BFU-e, CFU-e) ani granulocytopenie (CFU-GM) v experimentu *in vitro*, ani při koncentraci intaktního PTH 5 000 pg/ml, tedy 100krát vyšších, než jsou fyziologické hladiny, a nejméně 4 až 5krát vyšších, než jsou koncentrace při velmi pokročilých hyperparathyreózách. Metodika prací, které přímý inhibiční vliv mezi parathormonem a funkcí vývojové řady erytropoézy nalézaly, nebyla s touto studií srovnatelná: inhibiční efekt PTH se například týkal syntézy benu v kulturách fetálních hepatocytů u myši či ve vývojových buňkách červené krevní řady v kostní dřeni rovněž u myši.

Vztah mezi parathormonem a fragilitou červených krvinek (resp. poločasem jejich přežívání) autor diskutované práce jen zmiňuje. Druke (2002) v podobném přehledu uvádí citace prací, které zvýšenou fragilitu při hyperparathyreóze nacházejí, i odkazy na publikaci, která žádný analogický vztah nezjistila, a to u pacientů s primární i sekundární hyperparathyreózou. Jednoznačný závěr v tomto smyslu tedy není znám.

Fibrotizace kostní dřeně je průvodním jevem sekundární hyperparathyreózy, resp. jejího projevu na strukturách kostního aparátu, a je hlavním faktorem mezi těmi, které se na vztahu mezi hyperparathyreózou a anémií podílejí. Je důležité, že při úpravě hyperparathyreózy je fibrotizace kostní dřeně (kromě velmi pokročilých stavů) reverzibilní (přínejmenším parciálně). Tím je dána i možnost zlepšení krevetvorby.

Sledování parametrů červeného krevního obrazu při intravenózním podávání kalcitriolu (2 µg třikrát týdně po hemodialýze po dobu 12 měsíců) u 28 hemodialyzovaných pacientů, kteří měli dostatečné zásoby železa v organismu, ukázalo zvýšení koncentrace hemoglobinu ze 106 g/l na 122 g/l u „responderů“, tj. u pacientů, u nichž se sekundární hyperparathyreóza upravila (Komatsuda, 1998). Mezi dávkou erythropoetinu a stupněm snížení koncentrace parathormonu však nebyla zjištěna závislost. Naopak, u non-responderů (tj. při přetrvávající hyperparathyreóze) byl mezi koncentrací PTH a spotřebou erythropoetinu prokazatelný přímý vztah. Tato studie tedy patří k těm, které potvrzují hyperparathyreózu jako faktor rezistence na erythropoetin.

I když faktorů snižujících účinnost rekombinantního erythropoetinu je celá řada a prokazatelně mezi nimi

má nejvyšší význam absolutní či relativní stav zásob železa, má prevence a léčba hyperparathyreózy pro úpravu anémie dialyzovaných pacientů velký význam.

Literatura

Druke TB, Eckardt KU. Role of secondary hyperparathyroidism in erythropoietin resistance of chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(Suppl 5):28–31.

Goicoechea M, Vazquez MI, Ruiz MA, et al. Intravenous calcitriol improves anemia and reduces the need for erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephron* 1998;78:23–27.

Komatsuda A, Hirokawa M, Haseyama T, et al. Human parathyroid hormone does not influence human erythropoiesis *in vitro*. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2088–2091.

NKF-DOQI. Clinical practice guidelines for the treatment of anemia of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997;30(Suppl 3):S192–S240.

Rao DS, Shih MS, Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N Engl J Med* 1993;328:171–175.

Washio M, Iseki K, Onayama K, et al. Elevation of serum erythropoietin after subtotal parathyroidectomy in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1992;7:121–124.

Hodnota hematokritu v jednotlivých kompartmentech cévního řečiště není konstantní. Je toto zjištění klinicky významné pro sledování změn hydratace během dialýzy?

Mitra S, Chamney P, Greenwood R, Farrington K. The relationship between systemic and whole body hematocrit is not constant during ultrafiltration on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:463–469.

Autoři ve své zcela originální práci ověřují základní předpoklad klinického využití kontinuálního sledování změn intravaskulárního objemu během hemodialýzy. Tímto předpokladem je zachování konstantního množství cirkulujících komponent krve a jejich rovnoměrná distribuce v cévách.

Zachování komponent krve, tj. masy červených krvinek (volíme-li přístroj sledující kontinuálně hematokrit, například Critline), lze považovat za jisté (pochopitelně pokud během dialýzy nenastanou krevní ztráty). Rovnoměrná distribuce masy červených krvinek v cévách však takto samozřejmě není. Za fyziologických okolností je v makrocirkulaci, neboli v tepnách a žilách, hodnota hematokritu vyšší než v mikrocirkulaci, kde probíhá přestup tekutiny z intersticia. Vyjádřením je tzv. „Fcell ratio“ (poměr průměrného hematokritu v organismu vůči hematokritu v makrocirkulaci, Hct_w/Hct_{sys} , w = průměrná hodnota v celém cévním systému, sys = hodnota v systémové cirkulaci). Fyziologická hodnota tohoto poměru je 0,86. Cílem práce bylo zjistit, zda poměr Hct_w/Hct_{sys} zůstává během hemodialýzy stálý, či zda se mění.

Bylo sledováno celkem 10 hemodialyzačních procedur u 10 chronicky hemodialyzovaných osob. Podstatnou modifikací jinak běžné procedury byla zvolená

intermitentní ultrafiltrace. Celkové množství odstraňované vody bylo rozděleno na čtyři části (40 %, 20 %, 20 % a 20 % celkového požadovaného objemu). Takto stanovené jednotlivé objemy tekutiny byly ultrafiltrovány rychlostí 3 000 ml/h. Po dosažení jednotlivého zadaného množství byla ultrafiltrace na předepsanou dobu zastavena, tak, aby nastalo ekvilibrium rozložení tělesných tekutin (intravaskulární a extravaskulární).

Celkem čtyřikrát během hemodialýzy (před první ultrafiltrací, v době ekvilibria po jejím ukončení a analogicky před a po poslední ultrafiltraci) byl stanoven objem plazmy, celková dosažená ultrafiltrace a aktuální hodnota hematokritu. Výsledky těchto tří parametrů byly použity k výpočtu poměru Hct_w/Hct_{sys} . Zatímco první měření odpovídalo rozložení tekutin a krve v organismu před dialýzou, další tři již odrážely redistribuci tekutin po ultrafiltraci (po odstranění 40 %, 90 % a 100 % celkového požadovaného množství).

Metoda stanovení objemu plazmy byla založena na detekci barviva po diluci. Zvolené barvivo je z organismu výlučně eliminováno v játrech, a to během několika minut, proto lze měření během hemodialýzy opakovat. Předpokladem je zcela normální funkce jater, normální jaterní testy byly předpokladem zařazení pacienta do sledování.

Ze znalosti objemu plazmy a hodnoty průměrného tělesného hematokritu lze vypočítat absolutní objem krve. Ten je dán poměrem mezi objemem plazmy a rozdílem ($1-Hct$). Objem plazmy byl stanoven přímo, průměrná hodnota hematokritu byla vypočítána z přímo změřené hodnoty hematokritu v systémové krvi (změřený hematokrit korigován faktorem 0,86).

Z objemu krve byla vypočítána velikost objemu erytrocytární masy jako ta část objemu krve, která odpovídá relativní hodnotě hematokritu (tj. objem krve vynásobený relativně vyjádřeným hematokritem).

Stejným způsobem byl ze změřeného objemu plazmy a hodnoty průměrného hematokritu vypočítán objem krve v průběhu dialýzy (druhé, třetí a čtvrté měření) a z něho stanoven objem erytrocytární masy. Objem plazmy sice během dialýzy klesal, ale objem erytrocytární masy by měl být konstantní.

Objem erytrocytární masy se však ve výpočtech postupně během hemodialýzy snižoval. To znamená, že jeho výpočet nebyl správný a že některý ze zadaných parametrů neodpovídá skutečnosti. Do výpočtu se dosazují tři parametry: objem plazmy (přímo změřená hodnota), aktuální hematokrit (přímo změřená hodnota, Hct_{sys}) a poměr Hct_w/Hct_{sys} . Protože Hct_w neznáme, do výpočtu byl dosazen předpokládaný poměr 0,86. Je tedy zřejmé, že příčinou nesprávnosti výpočtu byl onen předpoklad 0,86, jinými slovy, že hodnota poměru Hct_w/Hct_{sys} se během hemodialýzy mění.

Poslední fází výpočtů bylo stanovení skutečné hodnoty tohoto poměru v průběhu dialýzy. Výpočet tentokrát vycházel z konstantního objemu erymasy a hledal pro změřený objem plazmy hodnotu poměru

Hct_w/Hct_{sys} . Vypočítaná hodnota byla vyšší než 0,86 a během dialýzy se postupně zvyšovala, a to až na průměrnou hodnotu 0,94 ve 3. a 4. intervalu měření.

Interpretace nálezu zvyšující se hodnoty Hct_w/Hct_{sys} je následující: během hemodialýzy přechází tekutina nejen z intersticia do cév, ale redistribuuje se i v rámci cirkulace, a sice z mikrocirkulace do makrocirkulace. Mikrocirkulace může sloužit jako jakýsi rezervoár tekutiny a při poklesu objemu krve dochází k doplnění systémového objemu z tohoto prostoru. Proto metoda sledování intravaskulárních změn založená na kontinuálním monitorování změn systémového hematokritu může velikost úbytku celkového krevního objemu podhodnotit.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.

Kontinuální monitorování změn intravaskulárního objemu se stává velmi cenným pomocníkem při optimalizaci ultrafiltrace během dialýzy. Příliš velká strmost úbytku intravaskulárního objemu je suspektní z podhodnocené „suché hmotnosti“ pacienta, naopak, pokud se i přes odstraňování tekutin během hemodialýzy intravaskulární objem nemění, je to pravděpodobným ukazatelem převodnění (přestup tekutin z intersticia do cév plně kompenzuje úbytek intravaskulárního objemu, tj. v intersticiu je velké množství tekutiny). Průkopnické práce na tomto poli odvedl u nás Lopot, který je i autorem originálních interpretací některých typů křivek (Lopot 1996, 1998).

Při znalosti klinické interpretace je při kontinuálním monitorování změn intravaskulárního objemu možné podstatně snížit výskyt intradialyzační hypotenze, a tím přispět ke zkvalitnění hemodialyzační léčby (Santoro, 1996). Byly ověřeny i systémy pracující na principu automatické zpětné vazby (biofeedback), kdy ultrafiltrace, resp. její velikost, byla automaticky regulována dle kontinuálních změn intravaskulárního objemu (Santoro, 2002).

Předkládaná práce je srozumitelná až při opakovaném čtení, a to jen za předpokladu znalostí z oblasti kontinuálního monitorování intravaskulárního objemu v odezvě na ultrafiltraci během dialýzy. Obsahuje řadu vzorců a může na první pohled čtenáře odradit. Přitom však je v dané oblasti zcela průkopnická, přináší do oblasti monitorování změn relativního objemu krve během hemodialýzy zcela nový aspekt. Tím je nerovnoměrné a měnící se rozložení intravaskulárního objemu během hemodialýzy. Ukazuje se, že v odezvě na ultrafiltraci se více snižuje objem tekutiny v mikrovaskulárním prostoru než ve velkých cévách. S tímto zjištěním je v souladu například i popsané snížení objemu erytrocytů ve slezině během hemodialýzy (Yu, 1997), a přinejmenším zčásti je tak vysvětlitelná i interindividuální variabilita chování změn intravaskulárního objemu dialyzovaných pacientů.

Sami autoři v závěru poznamenávají, že jejich nálezy by mohly představovat východisko pro navržení

protokolu dalších studií, které by charakterizovaly změny mikrocirkulace v odezvě na ultrafiltraci při hemodialýze.

Literatura

Lopot F, et al. Use of continuous volume monitoring for detecting inadequately high dry weight. *Int J Artif Organs* 1996;19:411–414.

Lopot F. Hodnocení stavu hydratace a stanovení optimální hmotnosti u dlouhodobě dialyzovaných pacientů. Závěrečná zpráva grantu IGA MZ ČR, 3594-3, 1996–1998.

Santoro A, Mancini E, Paolini F, et al. Blood volume monitoring and control. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(Suppl 2):42–47.

Santoro A, Mancini E, Basile C, et al. Blood volume controlled hemodialysis in hypotension-prone patients: A randomized, multicenter controlled trial. *Kidney Int* 2002;62:1034–1045.

Yu AW, Nawab ZM, Barnes WE, et al. Splanchnic erythrocyte content decreases during hemodialysis: a new compensatory mechanism for hypovolemia. *Kidney Int* 1997;51:1986–1990.

Hypertenze dárce negativně ovlivňuje prognózu transplantované ledviny

Pratschke J, Paz D, Wilhelm MJ, Laskowski I, Kofla G, Vergopoulos A, MacKenzie HJ, Tullius SG, Neubaus P, Hancock WW, Volk HD, Tilney NL. Donor hypertension increases graft immunogenicity and intensifies chronic changes in long-surviving renal allografts. Transplantation 2004;77:43–48.

V této experimentální práci se autoři z Humboldtovy univerzity v Berlíně a z Harvardovy univerzity v Bostonu věnovali aktuálnímu tématu současné transplantací medicíny, a to vlivu hypertenze dárce na osud transplantované ledviny. V experimentu byl použit model chronické rejeckce F344→LEW, kdy ledviny potkanů kmene Fischer (F344) jsou transplantovány nefrektomovaným potkanům kmene Lewis (LEW). Protože se tyto dva kmeny liší jen v méně významných histokompatibilních antigenech, je potřeba jen malé přechodné imunosuprese cyklosporinem A podávané muskulárně prvních 10 dní. Následně zvířata přežívají bez imunosuprese – avšak vyvíjejí morfologické a funkční změny, které připomínají chronickou transplantální nefropatii pozorovanou u člověka.

V této experimentální práci byla hypertenze u dárce kmene potkanů navozena částečnou okluzí jedné renální arterie. Hypertenze byla ověřena pomocí měření krevního tlaku na ocase. Po 10 týdnech byla za účelem transplantace odstraněna ledvina, která nebyla vystavena přímému účinku stenózy renální tepny (kontralaterální k renální svorce). Doba deseti týdnů byla použita proto, že není spojena se vznikem ireverzibilního renálního poškození.

Autoři následně rozdělili zvířata do dvou skupin. V první skupině byly normotenzním příjemcům transplantovány ledviny odebrané od zvířat s navozenou hypertenzí a ve druhé skupině byly transplantovány ledviny od normotenzních kontrol. Zvířata pak byla sledována až po dobu 32 týdnů, v jejichž průběhu byl měřen krevní tlak a byla stanovována proteinurie.

Histologické a molekulárně biologické vyšetření renální tkáně bylo provedeno v čase 0 (ještě před transplantací) a dále po 2, 12, 24 a 32 týdnech od transplantace (v každé skupině bylo vždy 6 zvířat).

Autoři pozorovali v průběhu celého experimentu vyšší proteinurii a rovněž i vyšší hodnoty sérového kreatininu u transplantací od hypertenzních dárců v porovnání s normotenzními kontrolami. Rovněž při morfologickém vyšetření byly pozorovány závažnější morfologické změny v případě transplantací ledvin od dárců s hypertenzí. Největší rozdíly byly pozorovány na konci experimentu, po 32 týdnech, kdy „hypertenzní“ ledviny měly závažnou arteriosklerózu a glomerulosklerózu a četnou kulatobuněčnou infiltraci. Pomocí RT-PCR metody (polymerázová řetězová reakce s reverzní transkripcí) pak byla sledována exprese genů pro zánětlivé cytokiny. Největší rozdíly mezi skupinami byly pozorovány v případě exprese TNF α (tumor nekrotizující faktor) a MIP-1 α (makrofágový zánětlivý protein). Rozdíly v případě interleukinu 2 a 4 byly jen nepatrné.

Zajímavé bylo rovněž i pozorování dynamiky vzniku renálního poškození po transplantaci „hypertenzní“ ledviny. Na počátku byla přítomna jen mírná vakuolizace endotelu, ale po transplantaci se již po dvou týdnech začala objevovat fibróza, glomeruloskleróza a místy i proliferace intimy. Tyto změny v průběhu experimentu dále progredovaly a současně se zvyšovala intenzita kulatobuněčného infiltrátu. Již v čase 0, tedy před transplantací, byla pozorována vyšší exprese mRNA (odpovídající přepisu genu) pro TNF α , MIP-1 α , perforin, Fas-ligand a interferon- γ v ledvinách odebraných od hypertenzních zvířat.

Tato experimentální práce tak dokazuje, že i když ledviny odebrané od hypertenzních dárců v čase „0“ nevykazují závažné histologické změny, v delším časovém úseku od transplantace rychleji vyvíjejí změny typické pro chronickou transplantální nefropatii. Hypertenze dárce tak – bez ohledu na přítomné histologické změny – představuje riziko pro vznik chronické transplantální nefropatie. V patofyziologii uvedeného postižení hraje zjevnou roli fakt, že ještě před transplantací jsou v „hypertenzních“ ledvinách zvýšeně exprimovány některé zánětlivé cytokiny, které umožňují snazší a rychlejší imunitní rozpoznání po transplantaci.

KOMENTÁŘ MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Tato na první pohled nenápadná práce významně doplňuje desítky prací skupiny spolupracovníků kolem prof. Tilneyho z Bostonu, zabývající se nyní již vlastně 15 let chronickou rejeckou (v případě transplantací ledvin je tento proces v poslední době nazýván chronickou transplantální nefropatií – chronic allograft nephropathy). Ta se významným způsobem podílí na ztrátě funkce transplantované ledviny v dlouhodobém sledování. Práce Pratschkeho a spol. poprvé v literatuře demonstruje, že ledviny odebrané od hypertenzního

dárce jsou více imunogenní a jako takové po transplantaci snáze a rychleji podléhají procesu chronické transplantální nefropatie. Jistě, jedná se o práci experimentální a navíc provedenou na kmenech laboratorních potkanů. Můžeme tedy vůbec vztáhnout výsledky této pozoruhodné práce k transplantacím u lidí? Domnívám se, že do určité míry můžeme.

V posledních letech byl vzestup, respektive udržení počtů transplantací ledvin skutečně díky akceptování dárců tzv. marginálních, tedy takových, kteří jsou starší, mají nekontrolovanou hypertenzi nebo dokonce diabetes. Je jisté, že dlouhodobé přežití takovýchto ledvin je omezené, i když krátkodobé výsledky jsou dobré (Tullius, 2001; Viklický, 2002). Transplantace těchto ledvin umožňuje život bez dialýzy desítkám i stovkám nemocným také v České republice. Nejednou se tak v ordinaci můžeme setkat s nemocným, který po třech letech od transplantace chválí svou „babičku“ pro setrvalý kreatinin 250 $\mu\text{mol/l}$. Rozhodnutí, které ledviny jsou ještě vhodné a které již nikoli, usnadňují tzv. biopsie nulté hodiny, tedy ještě před transplantací. Pokorná a spol. však demonstrovali, že rozsah glomerulosklerózy sám o sobě není vhodný prognostický faktor (Pokorná, 2001). Právě výše uvedená experimentální práce Pratschkeho a spol. zapadá dobře do tohoto konceptu. Histologické změny v čase „0“ mají malý – pokud vůbec jaký – význam pro odhad krátko- a střednědobé prognózy transplantace. Je ale nepochybné, že dlouhodobá funkce takovéto transplantované ledviny bude omezená.

V poslední době se i v České republice více rozšířily počty transplantací od žijících dárců. Požadavek na absolutní zdraví je ve světě stále dokonalejších diagnostických metod iluzí. Někdy jsou pak akceptováni jako dárce lidé, u kterých byla zachycena poprvé esenciální hypertenze. Pratschkeho pozorování o zvýšené imunogenicitě ledvin odebraných od dárců s hypertenzí (minimálně nekontrolovanou nebo špatně kontrolovanou) bude pravděpodobně univerzální. Ve světě popsaných experimentů by pak byla – v případě transplantace ledviny od dárce s hypertenzí – ztracena jedna z výhod transplantace ledviny od žijícího dárce v porovnání s dárce se smrtí mozku. U kadaverózních dárců totiž globální ischemie parenchymatózních orgánů vyvolaná autonomní bouří při mozkové smrti způsobuje vyšší expresi cytokinů a adhezních molekul. Antigenní struktury těchto ledvin jsou pak imunitním systémem příjemce snáze rozpoznány a následně snáze a rychleji odhojovány (Pratschke, 2000).

Jednou větou lze tedy tuto práci shrnout takto: Ledvina odebraná od dárce s hypertenzí bude mít po transplantaci, bez ohledu na prakticky normální morfologický nálezn před transplantací, omezenou dlouhodobou funkci.

Literatura

- Tullius SG, Volk HD, Neuhaus P. Transplantation of organs from marginal donors. Transplantation 2001;72:1341–1349.
Viklický O, Bohmová R, Heemann U. Ledviny, stárnutí a transplantace. Čas lék Čes 2002;141:765–768.

Pokorná E, Vítko Š, Chadimová M, Schück O, Ekberg H. Proportion of glomerulosclerosis in procurement wedge renal biopsy cannot alone discriminate for acceptance of marginal donors. Transplantation 2000;69:36–43.

Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, et al. Accelerated rejection of rat renal allografts from brain death donors. Ann Surg 2000;232:263–271.

Zvýšená koncentrace homocysteinu zvyšuje expresi transkripčního faktoru pro zánětlivé cytokiny – příspěvek k poodhalení patogeneze renálního postižení u nemocných s hyperhomocysteinémií?

Fan Zhang, Yaw L. Siow, Karmin O. Hyperhomocysteinemia activates NF- κ B and inducible nitric oxide synthase in the kidney. Kidney Int 2004;65:1327–1338.

Hyperhomocysteinémie je již dlouho známa jako nezávislý rizikový faktor pro vznik kardiovaskulárních onemocnění. Kromě genetických predispozic, deficitu folátů a vitamínu B, vyššího věku a menopauzy, se hyperhomocysteinémie vyskytuje také u nemocných v renální insuficienci: čím je renální funkce horší, tím vyšší je i hodnota celkového homocysteinu. Současné studie ukázaly, že se hyperhomocysteinémie uplatňuje v cévní remodelaci a v poškození renálního intersticia, stejně tak jako v glomerulárním poškození.

Nukleární faktor κ B (NF- κ B) je transkripční faktor, který zvyšuje expresi zánětlivých cytokinů. NF- κ B se vyskytuje v cytoplazmě v neaktivní formě, která je navázána na inhibiční faktor I κ B. Po stimulaci NF- κ B se I κ B oddělí a aktivní forma tohoto transkripčního faktoru se přemístí do buněčného jádra. Zde se pak váže na tzv. genové promotery (= enzymy, které spustí přepis genu) genů pro cytokiny. Produkce inducibilní syntetázy oxidu dusnatého (iNOS) je řízena právě transkripčním faktorem NF- κ B. Zvýšená produkce iNOS má pak za následek vyšší produkci oxidu dusnatého, která působí cytotoxicky. Cílem komentované studie bylo vyšetřit v experimentálním modelu vliv hyperhomocysteinémie na expresi NF- κ B a syntetáz oxidu dusnatého.

V pokusu byli použiti osmítýdenní potkani kmene Sprague-Dawley, kteří byli čtyři týdny krmeni 1) standardní dietou, 2) dietou o vysokém obsahu methioninu a 3) dietou o vysokém obsahu cysteinu. V každé skupině bylo po 16 zvířatech. Pomocí molekulárně biologických metod bylo následně měřeno množství jednotlivých syntetáz oxidu dusnatého (iNOS, eNOS a nNOS) a inhibičního faktor I κ B-proteinu metodou „western blot“ a mRNA metodou „northern blot“. Dále byla změřena produkce nitritů a nitrátů v ledvinách.

Pomocí imunohistochemického barvení bylo zobrazeno v renální tkáni místo produkce NF- κ B a pomocí metody EMSA (electrophoretic mobility shift assay) pak byla kvantifikována exprese NF- κ B.

Dieta s přebytkem methioninu vedla ke zvýšení plazmatické koncentrace homocysteinu, na rozdíl od diety s přebytkem cysteinu, která koncentrace homocysteinu nezvyšovala. Skupiny se nelišily ve funkci ledvin. Potkani s hyperhomocysteinémií měli vyšší obsah proteinu iNOS, mRNA pro iNOS a rovněž i větší množství oxidu dusnatého v ledvinách. Nejvyšší obsah iNOS i NF- κ B byl imunohistologicky popsán ve dřeni ledvin. Tato zvířata měla rovněž vyšší aktivitu NF- κ B a nižší produkci inhibičního faktoru I κ B.

Tato studie tak jasně ukázala, že dietou navozená hyperhomocysteinémie vede ke zvýšení renální aktivity NF- κ B cestou zvýšené fosforylace I κ B. Následně pak účinkem NF- κ B dochází ke zvýšení intrarenálních hladin iNOS, a tak v konečném důsledku i ke zvýšení obsahu oxidu dusnatého i k tvorbě toxických peroxynitritů. Protože u zvířat krmených vysokým obsahem cysteinu k tomuto nedošlo, je zřejmé, že se jedná o mechanismus specifický pro hyperhomocysteinémii. Popsaný mechanismus tak může vysvětlit poruchu renálních funkcí u nemocných s hyperhomocysteinémií.

KOMENTÁŘ

MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Již delší dobu je známo, že hyperhomocysteinémie je spojena s častějším vznikem kardiovaskulárních onemocnění (McCully, 1969). Spolu s renální insuficiencí a renálním selháním tak představuje jeden z neklasických rizikových faktorů vzniku onemocnění srdce a cév (Ross, 1999). Koncentrace celkového homocysteinu jsou vysoké jak u nemocných v renální insuficienci, tak u pacientů léčených hemodialýzou. Příčiny zvýšení hodnot celkového homocysteinu u těchto nemocných jsou sice známy (Bostom, 1997), ale patofyziologická souvislost mezi vysokými koncentracemi celkového homocysteinu a renální dysfunkcí nebyla dosud přesvědčivě dokázána.

Uvedená práce je tak vůbec jedna z prvních, která ukazuje na příčinný vztah mezi hyperhomocysteinémií a zvýšenou produkcí transkripčního faktoru NF- κ B, oxidu dusnatého a následně i toxických peroxynitritů. V této práci byl prokázán vztah mezi zvýšením produkce NF- κ B a indukibilní izoformy syntetázy oxidu dusnatého (iNOS) v dřeni ledvin hyperhomocysteinemických potkanů. Souvislost vysokých koncentrací celkového homocysteinu s poškozením cév je již známa (Tsai, 1994). Transkripční faktor NF- κ B se uplatňuje při expresi genů pro zánětlivé cytokiny, a je tak škoda, že autoři této práce nerozšířili své analýzy i na přítomnost některých cytokinů a růstových faktorů. Ty jsou většinou produkovány lymfocyty a makrofágy a uplatňují se v tkáňovém poškození a fibrotizaci. V uvedené studii sice nebyla zaznamenána vyšší pří-

tomnost mononukleárních buněk, ale vyšetření bylo vlastně jen orientační a soustředilo se jen na průkaz makrofágů. Konečně i trvání hyperhomocysteinémie (4 týdny) mohlo být příliš krátké na to, aby se vyvinuly závažnější strukturální změny včetně vyšší přítomnosti mononukleárních buněk.

I když jsou tak závěry práce poněkud spekulativní, její význam spočívá v tom, že pomocí jednoduchých metod (diety) byl vytvořen model hyperhomocysteinémie a že hypotéza předkládaná autory do určité míry vysvětluje vztah mezi hodnotami celkového homocysteinu a horší renální funkcí, respektive intersticiálním poškozením. Vztah koncentrací homocysteinu a renálních lézí je tak možná „dialektický“: Renální insuficience představuje jednu z příčin hyperhomocysteinémie, ale na druhé straně se hyperhomocysteinémie může podílet i na urychlení progresu renální insuficience mechanismem, který popsali autoři této zajímavé studie.

Literatura

Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997;52:10–20.

McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969;56:111–128

Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–126.

Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6369–6373.

Prognóza a rizikové faktory idiopatické membranózní nefropatie provázené nefrotickým syndromem

Shiiki H, Saito T, Nishitani Y, et al. Research Group on Progressive Renal Diseases in Japan: Prognosis and risk factors for idiopathic membranous nephropathy with nephrotic syndrome in Japan. *Kidney Int* 2004;65:1400–1407.

Předmětem sdělení je retrospektivní multicentrická studie zabývající se prognózou a rizikovými faktory u idiopatické membranózní nefropatie (IMGN) spojené s nefrotickým syndromem (NS) v Japonsku. Idiopatická membranózní nefropatie je zřejmě nejčastější primární glomerulonefritidou způsobující nefrotický syndrom u dospělých. Údaje publikované u pacientů bělošské populace svědčí o vývoji chronického selhání ledvin u 20 až 40 % pacientů po 10 až 15 letech trvání. Některá sdělení naznačují odlišnost průběhu IMGN v závislosti na etnickém původu a geografických podmínkách (např. příznivější průběh u japonských pacientů).

Údaje o pacientech (n = 949 nemocných z 60 středisek) byly získány dotazníkovou formou u pacientů léčených v letech 1975–1993 pro histologicky prokázanou IMGN provázenou nefrotickým syndromem.

Jako hlavní kritéria pro definici NS byly zvoleny proteinurie > 3,5 g/den a albuminémie < 30 g/l.

Kromě základních biochemických parametrů a údajů o arteriálním krevním tlaku byly hodnoceny i histologické nálezy z renálních biopsií (hodnoceny jak změny ve světelné mikroskopii, tak i ultrastrukturální změny glomerulů, postižení tubulointersticia bylo hodnoceno semikvantitativně).

V závislosti na léčbě byli pacienti rozřazeni do tří skupin léčby: skupina steroidní (n = 374), zahrnující pacienty léčené (z hlediska imunosuprese) výlučně kortikosteroidy, dále skupina kombinovaná – cyklofosfamidová (n = 257), zahrnující pacienty léčené kombinací kortikosteroidů a cyklofosfamidu (CPA), a skupina podpůrné léčby (n = 161), v níž byli pacienti léčeni inhibitory angiotensin-konvertujícího enzymu a antiagregační/antikoagulační léčbou. Zbylí pacienti (n = 157) byli léčeni různými jinými imunosupresivními léky (včetně cyklosporinu), avšak jejich malý počet neumožňoval statistické hodnocení. Kortikosteroidy byly podávány v dávce 40–60 mg/den po dobu čtyř týdnů a jejich dávkování bylo dále snižováno, cyklofosfamid byl podáván v dávce 50–100 mg/den po dobu 6–24 týdnů. Dle účinku léčby na proteinurii byli pacienti zařazeni do čtyř kategorií: 1) úplná remise, 2) částečná remise I (proteinurie < 1 g/24 h), 3) částečná remise II (proteinurie 1–3,5 g/24 h), 4) non-responder s přetrvávajícím nefrotickým syndromem (NR). Z hlediska renálních funkcí byli nemocní klasifikováni jako nemocní: 1) s normální funkcí, 2) s chronickou renální insuficiencí, 3) s chronickým selháním ledvin.

Výsledky: Poměr muži : ženy byl 1,66 : 1, průměrný věk nemocných byl 50,5 let, průměrná doba sledování 83 měsíců. Proteinurii přesahující 10 g/den mělo při vstupu do studie 18,7 % pacientů, porucha renálních funkcí byla přítomna u 9,5 % nemocných. Prognóza pacientů byla následující: do skupiny úplné remise se dostalo 42,1 %, do skupiny částečné remise I 24,6 %, do skupiny částečné remise II 17,1 % a do nejméně příznivé skupiny s perzistujícím NS (tj. do skupiny NR) 16,2 % pacientů. Z hlediska funkce ledvin dosáhlo 11,7 % nemocných fáze chronické renální insuficience a 8,3 % pacientů chronického selhání ledvin. Renální přežití činilo za pět let 95,8 %, za 10 let 90,3 %, za 15 let 81,1 % a za 20 let 60,5 %. V průběhu doby sledování zemřelo 41 pacientů (4,3 %), z toho čtyři pro důvody vztahující se k ledvinám. Mezi klinické rizikové faktory se (při použití jednorozměrové analýzy) zařadily: mužské pohlaví, věk (> 50 let) sérová koncentrace kreatininu (> 126 μmol/l), masivní proteinurie (> 10 g/den). Tři první uvedené rizikové faktory se potvrdily i při použití mnohorozměrové analýzy. Z histopatologických parametrů se (při použití mnohorozměrové analýzy) jako zřetelný rizikový faktor projevilo pouze tubulointersticiální postižení, stadium glomerulárního postižení nemělo prognostický význam. Podíl pacientů, kteří dosáhli úplné remise či částečné remise I byl statisticky nevýznamně vyšší u skupiny léčené kortikosteroidy (proti skupině s pod-

půrnou léčbou). Ledvinné přežití bylo významně vyšší ve skupinách léčených kortikosteroidy a cyklofosfamidem (proti skupině s podpůrnou léčbou); ledvinné přežití mezi oběma skupinami se nelišilo. Klinický průběh (ve smyslu dosažení remise) koreloval velmi dobře s ledvinným přežitím, tzn. že pacienti, kteří dosáhli částečné remise, měli rovněž významně snížené riziko vzniku chronického selhání ledvin (v porovnání s pacienty, kteří zůstali po léčbě ve skupině částečné remise II či NR). Určité (byť statisticky nevýznamné) 70% (!) snížení rizika vzniku chronického selhání ledvin bylo možno prokázat mezi pacienty, kteří dosáhli částečné remise I proti pacientům, kteří dosáhli pouze částečné remise II.

Diskuse: V diskusi se autoři obrací k předchozím (menším) studiím, které proběhly v Japonsku v 80. letech se zaměřením na IMGN, a upozorňují, že výsledky obou studií se poněkud lišily z hlediska dlouhodobé prognózy – více než 95% renální přežití po 20 letech ve studii Abeho (Abe, 1986) proti 80,8% přežití v 15letém období, které pozoroval ve své studii Kida (Kida, 1986). Výsledky komentované studie se v tomto ohledu blížily výsledkům pozorovaným Kidou s tím, že 20leté ledvinné přežití kleslo na 60 %. Dlouhodobá (renální) prognóza tedy není nijak zvlášť příznivá, byť je příznivější než u studií bělošské populace. Dlouhodobá prognóza není přitom patrně významně ovlivněna věkem; určitý (nepříznivý) zlom lze pozorovat po 15 letech sledování. Na druhou stranu příznivě vyznívá výsledek dlouhodobého přežití pacientů: pouze čtyři zemřeli z důvodů vázaných na ledvinné onemocnění, přežívání pacientů bylo 20 let po vzniku onemocnění více než 90% a při porovnání předpokládané délky života u japonské populace s výsledky dlouhodobého přežívání pacientů s IMGN nejsou prokazatelné rozdíly. Účinkem léčby se v polovině 90. let 20. století zabývaly dvě metaanalýzy, které ve shodě potvrdily příznivější účinek alkylačních látek pro dosažení úplné remise; z uvedených důvodů není pro léčbu IMGN indikována léčba samotnými kortikosteroidy. V Japonsku se nicméně kortikosteroidy udržely jako léčba první linie a výsledky léčby potvrdily příznivý dlouhodobý účinek na dosažení remise a ochranu ledvinných funkcí.

KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Miroslav Merta, CSc.

Čím je tato studie zajímavá? Především tím, že na podkladě retrospektivní analýzy průběhu idiopatické membranózní nefropatie u mimořádně vysokého počtu sledovaných osob (n = 949) z různých oblastí Japonska byl učiněn pokus o stanovení průběhu IMGN na reprezentativním vzorku této populace. Po 20 letech pozorování renální přežití, resp. přechod do chronického selhání ledvin, bylo možno prokázat u 60,5 % (resp. 39,5 %) japonských nemocných, což dlouhodobou prognózu IMGN u japonského etnika přibližuje prognóze bělošské populace.

Z pohledu léčby se zdají výsledky studie naznačovat poměrně příznivý (dlouhodobý) účinek léčby kortikosteroidy. Jaké jsou důkazy o účinnosti jednotlivých zmíněných imunosupresivních postupů?

Kortikosteroidy: V několikaletém odstupu od podání léčby nebylo možno prokázat žádný příznivější účinek léčby kortikosteroidy (KS) na sledované parametry (dosazení remise, úroveň renálních funkcí apod.) ve srovnání s kontrolní skupinou (Cattran, 1989). Ponticelli porovnal účinek šestiměsíční léčby kortikosteroidy v monoterapii proti kombinované léčbě chlorambucil + KS u 92 nemocných. V odstupu jednoho roku až tří let od začátku léčby bylo možno prokázat nižší výskyt nefrotického syndromu ve skupině s kombinovanou imunosupresí proti skupině s kortikosteroidy, ve čtvrtém roce se však již tyto výsledky statisticky významně nelišily (remise v 62 % vs. 42 %) (Ponticelli, 1992). Výsledky některých dalších studií (nikoli všech) svědčily ve prospěch příznivého účinku kortikosteroidů.

Kombinovaná imunosupresivní léčba: Ve známé studii Ponticelliho ($n = 81$) byl podáván v úvodu methylprednisolon v dávce 1 g i.v./24 h po dobu tří dnů, s následným p.o. podáním prednisonu v dávce 0,5 g/kg/den po dobu 27 dnů (cyklus A). Po jednom měsíci byl tento léčebný režim přerušen a pacientovi byl podáván chlorambucil v dávce 0,2 mg/kg/den po dobu jednoho měsíce (cyklus B). Celková doba léčby (střídavě cykly A a B) byla 6 měsíců. Za 10 let byla u pacientů s imunosupresivní léčbou 92% pravděpodobnost renálního přežití proti 60% pravděpodobnosti u skupiny kontrolní ($p = 0,0038$). Statisticky významného zlepšení ve skupině s aktivní léčbou bylo dosaženo rovněž z hlediska reciproční hodnoty sérového kreatininu, dosažení úplné nebo částečné remise (88 % vs. 47 %) a doby, která byla strávena bez nefrotického syndromu (Ponticelli, 1995). Přímé porovnání dvou variant cytotoxické léčby (chlorambucil nabízen v léčebném schématu za CPA v dávce 2,5 mg/kg/den po dobu 30 dnů) vyzněla ve prospěch cyklofosfamidu (obdobná účinnost, nižší počet nežádoucích účinků) (Ponticelli, 1998). Jiní autoři navrhli snížit dávku CPA (na 1,5 mg/kg/den) a cyklofosfamid podávat spolu s kortikosteroidem (prednison v obdenním dávkování 60 až 100 mg) po dobu až 12 měsíců. V pokročilejších stádiích chronické renální insuficience prokázaly tři nekontrolované studie příznivý účinek CPA + KS jak na hodnotu sérového kreatininu, tak na výši proteinurie (pokles). Falk však následně ve své prospektivní randomizované studii z roku 1992 nebyl schopen prokázat žádoucí účinek intravenózně podávaných cyklů CPA ani prednisonu samotného na progresi onemocnění u pacientů s IMGN a chronickou renální insuficiencí (Falk, 1992). Horší účinnost pulsní formy podání cyklofosfamidu (proti léčbě chlorambucilem) u nemocných s IMGN a chronickou renální insuficiencí potvrdily i další studie. Při porovnání účinku chlorambucil versus CPA (v perorální podobě) u nemocných s IMGN a renální insuficiencí se zdál být účinnější cyklofosfamid. Nizozemská prospektivní nekontrolovaná studie ($n = 65$;

kreatinin v séru > 135 , CPA podáván v dávce 1,5 až 2 mg/kg/den + KS, po dobu 12 měsíců), publikovaná zcela recentně, rovněž potvrdila dobrý efekt na ochranu ledvinových funkcí (renální přežití 86 % po pěti letech a 74 % po sedmi letech), avšak při výskytu relativně častých relapsů (za dobu pět let u 28 % pacientů) a za cenu řady komplikací spojených s léčbou (u dvou třetin pacientů) (Du Buf-Vereijken, 2004).

Pro úplnost je třeba uvést, že v poslední době se do léčby IMGN zavádí cyklosporin a některá další imunosupresiva (např. mykofenolát). U cyklosporinu lze dosáhnout antiproteinurického účinku v rozmezí 2 až 4 týdnů. Cattran ve studii z roku 2001 hodnotil účinnost léčby cyklosporinem u pacientů s IMGN, kteří byli v předchozím období léčeni 6 měsíců kortikosteroidy bez odpovídajícího účinku (Cattran, 2001). Léčbou cyklosporinem (6 měsíců) bylo dosaženo vysokého stupně remise (po 78 týdnech byl výskyt remise u 43 % pacientů versus 19 % u skupiny s placebem, efekt na zpomalení progresu IGMN však nebyl pozorován). Zatímco antiproteinurický účinek je u cyklosporinu nesporný, je otázkou, zda lze podáváním cyklosporinu dosáhnout poklesu imunologické aktivity onemocnění, což možná souvisí s obavou z výskytu relapsu onemocnění po vysazení léčby cyklosporinem.

Literatura

- Abe S, Amagasaki Y, Konishi K, Kato E, Iyori S, Sakaguchi H. Idiopathic membranous glomerulonephritis: aspects of geographical differences. *J Clin Pathol* 1986;39:1193–1198.
- Cattran, DC, Appel, GB, Hebert, LA, et al. Cyclosporine in patients with steroid-resistant membranous nephropathy: A randomized trial. *Kidney Int* 2001;59:1484.
- Du Buf-Vereijken PW, Branten AJ, Wetzels JF. Cytotoxic therapy for membranous nephropathy and renal insufficiency: improved renal survival but high relapse rate. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19 (5):1142–1148. Epub 2004 Feb
- Falk, RJ, Hogan, SL, Muller, KE, et al. Treatment of progressive membranous glomerulopathy. A randomized trial comparing cyclophosphamide and corticosteroids with corticosteroids alone. *Ann Intern Med* 1992;116:438.
- Kida H, Asamoto T, Yokoyama H, Tomosugi N, Hattori N. Long-term prognosis of membranous nephropathy. *Clin Nephrol* 1986;25:64–69.
- Ponticelli, C, Zucchelli, P, Passerini, P, et al. Methylprednisolone plus chlorambucil as compared with methylprednisolone alone for the treatment of idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 1992;327:599.
- Ponticelli, C, Zucchelli, P, Passerini, P, et al. A 10-year follow-up of a randomized study with methylprednisolone and chlorambucil in membranous nephropathy. *Kidney Int* 1995;48:1600.

Protilátky proti erytropoetinu a aplazie červené řady

Rosser J, Casadevall N, Eckardt KU. Anti-erythropoietin antibodies and pure red cell aplasia. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:398–406.

V rubrice „Nemoc měsíce“ podali autoři přehled o současném stavu znalostí týkajících se vývoje anti-erythropoetinových protilátek a aplazie červené řady (pure red cell aplasia – PRCA) ve vztahu k léčbě rekombinantním erytropoetinem (rHuEPO).

Od konce 80. let 20. století byli pacienti s chronickým selháním ledvin (CHSL) léčeni rHuEPO. Zpočátku byla volena cesta nitrožilní (i.v.), později z důvodu snazší aplikace a s představou vyšší účinnosti byla rozšířena cesta podkožní (s.c.) aplikace. Případy vzniku a produkce protilátek, které nejen zablokovaly účinek rHuEPO, ale také neutralizovaly zbytkovou endogenní produkci EPO, byly zpočátku velmi vzácné. Od roku 1998 počet zaznamenaných případů stoupl – až na počet kolem 250 prokázaných či suspektních případů PRCA, které byly vázány na s.c. cestu podání, ve velké většině u nemocných léčených epoetinem α mimo území USA.

Izolovaná aplazie červené řady, vyznačující se útlumem erytropoézy a absencí erytroidních prekursorových buněk, je vzácné hematologické onemocnění, obvykle autoimunitní povahy, vyznačující se působením imunoglobulinových protilátek či cytotoxických lymfocytů T na progenitorové buňky červené řady. Jeho vznik se dává v některých případech do vztahu k přítomnosti lymfoproliferativního či systémového onemocnění či podání některých léků.

Z diagnostických a klinických příznaků PRCA vzniklé v souvislosti s léčbou rHuEPO jsou nejdůležitější: léčba rHuEPO trvající nejméně několik týdnů (obvykle 6–18 měsíců), náhlý pokles hodnot hemoglobinu při přetrvávající léčbě stejnými (či zvýšenými) dávkami rHuEPO, pokles retikulocytů (pod 10 000/mm³); počty leukocytů a destiček neklesají. Potvrzení PRCA lze dosáhnout vyšetřením kostní dřeně, která vykazuje normální buněčnost, snížené počty erytroblastů (< 5%) a blok ve vyžívání červené krevní řady a průkazem sérových protilátek proti EPO.

Jsou k dispozici čtyři typy testů k zachycení protilátek proti EPO: radioimunoprecipitační esej (RIPA), biosenzor imunoesej (BIAcore esej), ELISA kity, *in vitro* bioesej. Nejvhodnější je test RIPA, jehož podstatou je stanovení radioaktivity vzniklé po navázání izotopově (¹²⁵I) značeného EPO na protilátky proti EPO (typu IgG). RIPA je velmi citlivý test, schopný detekovat protilátky v koncentraci 10 ng/ml a současně velmi specifický – z počtu 1 340 pacientů léčených rHuEPO bez příznaků PRCA byl test RIPA negativní prakticky u všech. Určitou nevýhodou testu RIPA je skutečnost, že není schopen odhalit přítomnost anti-EPO IgM protilátek (takže v časných fázích nemoci mohou být získány falešně negativní výsledky) a také přítomnost protilátek o nízké afinitě. Většina výše uvedených testů není schopna postihnout neutralizační schopnost protilátek proti EPO – schopnost těchto protilátek působit neutralizačně vůči endogennímu EPO lze prokázat pouze *in vitro* bioanalýzou. Z hlediska protilátek proti EPO je možno shrnout následující poznatky: protilátky jsou zaměřeny proti bílkovinné složce (navazují se jak na nativní, tak na deglykosylovaný EPO), rozpoznávaný epitop má konformační charakter (denaturací lze zrušit vazbu antigen-protilátka), protilátky mají obvykle povahu IgG4 (vzácně IgG1) a konečně – existuje zatím ne zcela objasněný přesmyk v tvorbě protilátek typu IgM na tvorbu protilátek typu IgG.

Výskyt PRCA se ze zcela ojedinělých popsanych případů do roku 1998 dostal do fáze zenitu v rozmezí let 1998–2002 a od roku 2002 do současnosti vykazuje zřetelný pokles. Od roku 1998 do července 2003 bylo v Evropě zaznamenáno 184 případů PRCA (a dalších 62 je ve stadiu vyšetřování) vzniklých u nemocných léčených epoetinem α (Eprex® – Ortho-Biotech) a osm případů u pacientů léčených epoetinem β (NeoRecormon – Roche). V USA bylo zaznamenáno jen pět případů PRCA v souvislosti s léčbou epoetinem α . Od doby nejvyššího výskytu v druhé polovině roku 2001 (4,5 případů/10 000 léčených pacientů) došlo postupně k poklesu na 2,1/10 000 pacientů koncem roku 2002 a na 0,5/10 000 v první polovině roku 2003.

Ačkoli rekombinantní přípravky jsou „kopiemi“ přirozeně se vyskytujícími molekul, byla tvorba protilátek (s různou klinickou závažností) podmíněná jejich imunogenicitou popsána snad u všech rekombinantních látek. Skutečnost, že s.c. forma podání rHuEPO je významným rizikovým faktorem pro vznik PRCA, je v souladu se známou zkušeností, že i.v. cesta podání bývá obvykle spojena s nižší imunogenicitou (Schellekens, 2002). Je nepravděpodobné, že by se na vzniku imunitní reakce v rámci PRCA uplatňovaly odlišnosti ve skladbě (sekvenci) aminokyselin či sacharidové složce. Pozoruhodné je, že zvýšený výskyt PRCA se časově překrýval se změnou technologie výroby epoetinu α v Evropě, kdy výrobce odstranil z rHuEPO lidský sérový albumin coby stabilizátor a nahradil jej látkou Tween 80 (polysorbat 80). Uvažovalo se o tom, že tato změna a možné následné změny ve stabilitě látky (zvláště za situace, kdy nebyly plně respektovány instrukce týkající se chladového uskladnění) mohly vést ke vzniku makroagregátů. Jako další přídatný rizikový faktor byla např. zvažována kontaminace silikonem, užívaného jako lubrikační látky v předplněných injekčních stříkačkách.

Z hlediska přirozeného průběhu PRCA a její léčby je nepochybné, že základním opatřením je ukončení nebo přerušení léčby rHuEPO. Jelikož vzniklé protilátky reagují nejen s podávaným rHuEPO, ale i s endogenním EPO a se všemi dalšími variantami rHuEPO (včetně darpoetinu), nelze podávaný rHuEPO nahradit jiným přípravkem EPO, a prodloužení léčby by zvýšilo riziko vzniku závažné systémové imunitní reakce. Samotné přerušení léčby však nestačí k řešení PRCA, a určitá forma imunosupresivní léčby je nezbytná (zvl. kortikosteroidy, či kortikosteroidy v kombinaci s cyklofosfamidem).

V závěru autoři naznačují, že fenomén PRCA je v současné době na ústupu. Upozorňují, že je na místě standardizovat vyšetřovací postupy (zvl. stanovení protilátek proti EPO), upřesnit definici a iniciovat vznik nezávislých registrů případů PRCA a zaujmout stanovisko k léčebnému režimu při vzniku PRCA.

KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Miroslav Merta, CSc.

V době, kdy byl fenomén aplazie červené řady (PRCA) vázáný na léčbu rHuEPO popisován u stále stoupající-

cího počtu pacientů léčených pro anémii renálního původu – tedy především v roce 2001 – strbla na sebe tato komplikace mimořádnou pozornost. Objevily se i názory, že se může jednat pouze o špičku ledovce (z hlediska možného četnějšího výskytu protilátek proti EPO s vývojem PRCA) a léčba rHuEPO může být vážně ohrožena v širším měřítku. V dalším období se naštěstí obavy z rozšířenějšího výskytu této komplikace nepotvrdily a dále se podařilo, alespoň částečně, odhalit některé faktory, které se mohou na výskytu PRCA podílet.

Ukázalo se, že ačkoli byly případy PRCA popsány u různých typů rHuEPO (epoetin α i β), je přece jen zřetelně častější výskyt u pacientů léčených epoetinem α . Navíc, prakticky výhradně, se tento jev objevil u pacientů léčených s.c. cestou. Možných faktorů, uplatňujících se při vzniku PRCA při léčbě rHuEPO, byla zvažována celá řada (kromě těch, které již byly uvedeny v souhrnu článku). U nově zavedeného stabilizátoru Tween 80 (nabrazujícího lidský albumin u epoetinu α) se např. spekulovalo o možnosti jeho působení na vznik micel, které by na svém povrchu integrovaly molekuly rHuEPO; prostorové uspořádání rHuEPO by se tak vůči organismu příjemce stávalo zvýšeně antigenní. U epoetinu α byly zvažovány (avšak neprokázány) i další mechanismy – např. působení pryžových součástí předplněných stříkaček na uvolnění organických látek, uplatňujících se v konečné fázi na zvýšené imunogenicitě (v mezidobí byly tyto pryžové součásti stříkačky nahrazeny teflonovými). Je vysoce pravděpodobné, že právě mimořádná snaha o identifikaci možných faktorů uplatňujících se při vývoji PRCA a důraz na jejich odstranění (byť nebyl plně prověřen či prokázán jejich skutečný podíl) vedl v dalších letech ke snížení výskytu PRCA.

Z hlediska tvorby protilátek proti EPO je zajímavé, že vzácně byly popsány případy pacientů, u nichž se vyvinula PRCA, aniž by tito pacienti byli v minulosti léčeni rHuEPO. Je pozoruhodné, že až na dva případy (myelodysplastického syndromu) nebyl popsán výskyt PRCA v souvislosti s léčbou EPO u pacientů s maligními chorobami. Mezi hlavní důvody sníženého výskytu PRCA patří nejspíše kratší doba léčby (proti nemocným s anémií renálního původu) a odlišný (nespecifický) stav imunosuprese u těchto nemocných. V České republice se PRCA nevyskytla po žádném erythropoetinovém přípravku.

Pokud jde o potřebu uplatnit při léčbě PRCA imunosupresivní léčbu, lze uvést, že u osmi ze 45 pacientů s PRCA, u nichž nebyla kromě ukončení léčby rHuEPO nasazena žádná další léčba, přetrvávala tvorba protilátek proti EPO (s obrazem PRCA) ještě po dalších 12 měsících. Naopak u 36 ze 45 pacientů, jimž byla podána imunosupresivní léčba, protilátky vymizely a u většiny nemocných došlo k znovunastolení erytropoézy (Verhelst, 2003).

V návaznosti na výskyt PRCA byla provedena některá opatření, v jejichž důsledku patrně došlo ke snížení výskytu této komplikace: u epoetinu α změněna indi-

kace cesty podání (z s.c. na i.v.), dále byly pozorně evidovány a monitorovány případy výskytu PRCA a celkově byla tomuto jevu věnována zvýšená pozornost a osvěta, byly uskutečněny některé technologické změny v rámci produkce a finální úpravy epoetinu α , a konečně byla věnována mimořádná péče skladovacím podmínkám a způsobu podání epoetinu α . V současné době se doporučuje, aby se aktivita nefrologů ve vztahu k jevu PRCA zaměřila především na následující činnosti (Locatelli, 2004):

- seznámit se s klinickými projevy a příznaky PRCA (mj. počty retikulocytů jsou citlivým ukazatelem PRCA);
- u pacientů, kteří nereagují na léčbu rHuEPO očekávaným způsobem, vyloučit běžné příčiny neodpovídatosti na EPO (deficit železa, krvácení, přítomnost zánětlivého procesu apod.) a zacházet s nimi z hlediska další zdravotnické péče jako s pacienty s podezřením na PRCA (uskutečnit vyšetření dle doporučeného vyšetřovacího algoritmu, zahrnujícího např. stanovení počtu retikulocytů, vyšetření kostní dřeně a vyšetření protilátek proti EPO);
- realizovat doporučení odpovědných zdravotnických orgánů a blásit suspektní případy PRCA a uvědomovat si, že protilátky proti EPO reagují zkříženě se všemi typy EPO, a že proto je třeba v případě podezření na PRCA ukončit léčbu jakýmkoli typem rHuEPO.

Je povzbudivé, že se výskyt PRCA v loňském roce výrazně snížil a velmi pravděpodobně, že tato problematika již do budoucna nepřesáhne rámec velmi vzácného výskytu (tj. výskyt do 1 případu na 10 000 léčených pacientů).

Literatura

Locatelli F, Aljama P, Barany P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, Macdougall IC, Macleod A, Horl WH, Wiecek A, Cameron S. Erythropoiesis-stimulating agents and antibody-mediated pure red-cell aplasia: here are we now and where do we go from here? *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:288-93.

Schellekens H. The immunogenicity of biopharmaceuticals. *Neurology* 2003;61(9 Suppl 5):S11-12.

Verhelst D, Rossert J, Casadevall N, MacDougall IC, Kruger A, Eckardt KU. Treatment of antibody-mediated pure red cell aplasia. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:27A.

Slovní (nematematické) vysvětlení Coxovy analýzy poměru rizik

Roodnat JJ, Mulder PGH, Tielens ET, van Riemsdijk IC, van Gelder T, Weimar W. The Cox proportional hazards analysis in words: examples in the renal transplant field. *Transplantation* 2004;77:483-488.

V únorovém čísle *Transplantation* se J. I. Roodnat a spol. pokusili vysvětlit základní principy „analýzy přežívání“ nikoli pomocí matematických pojmů a vzorců, ale zjednodušeným slovním popisem. Ve své práci použili příklady z oblasti transplantací ledvin. Při analýzách přežívání je – bez ohledu na použité statistické metody – základním údajem doba (čas),

kteřá uplyne od zahájení sledování do manifestace sledovaného jevu. Při transplantacích jsme například zvědaví, jaká doba uplyne mezi transplantací a selháním štěpu a/nebo úmrtím příjemce. Za „dobu sledování“ se považuje čas, který uplyne mezi transplantací a manifestací sledovaného jevu, nebo mezi transplantací a datem arbitrárně stanoveného konce studie. V druhém případě se doba sledování „cenzuruje“. Sledování je ukončeno, i když se sledovaný jev do té doby nemanifestoval. Statistický přístup, při němž se do celkové doby sledování započítávají i cenzurované časy, se nazývá „analýza přežívání“. Vychází z předpokladu, že i v uvedených obdobích byl nemocný v riziku vzniku sledovaného jevu, a proto je správné s nimi počítat. Při analýze přežívání se v okamžiku, kdy se sledovaný jev manifestuje, poměřuje četnost jeho výskytu s počtem nemocných, kteří jsou v danou chvíli v riziku jeho vzniku. Datum manifestace jevu je tedy stejně důležité jako skutečnost, že daný jev skutečně nastal. Speciálními statistickými metodami, které se pro analýzy přežívání používají, jsou analýza podle Kaplana a Meierové (1958) a Coxův regresní model (1972).

Ještě donedávna bylo nejčastěji používanou metodou analýzy přežívání tzv. kumulativní přežívání Kaplana a Meierové (K-M). Jde o tzv. jednorozměrnou analýzu, která má dvě významné nevýhody. Umožňuje totiž hodnotit jenom kategorické proměnné, nebo proměnné, které lze na kategorické transformovat. Spojité proměnné (např. věk) lze sice na kategorické převést, ale trpí tím přesností analýzy. Nově vytvořené kategorie (podskupiny) jsou jednak méně početné, a jednak mohou mít různé zastoupení dalších proměnných, které riziko přežívání významně ovlivňují.

Další nevýhoda této analýzy spočívá v tom, že proměnné nelze v případech, kdy je to zapotřebí, standardizovat. Například když se zjistí, že orgány starších dárců negativně ovlivňují přežívání štěpů po transplantaci, nelze zjistit, zda to nebylo způsobeno například tím, že odebrané ledviny nebyly alokovány častěji starším příjemcům. Rozlišit vliv těchto dvou proměnných (starší dárce, starší příjemce) na přežívání není možné. Analýzou podle Kaplana a Meierové lze zjistit pouze celkový rozdíl mezi křivkami přežívání dvou porovnávaných skupin nemocných. Velikost tohoto rozdílu však vypočítat nelze, proto hovoříme o neparametrickém testu.

Pro uvedené nevýhody předchozí metody se výsledky transplantací stále častěji analyzují pomocí Coxova modelu „poměru rizik“ (CM). Při této analýze se současně posuzuje vliv několika nezávislých kategorických nebo spojitých proměnných na přežívání. Jeho pomocí lze odhadnout i velikost vlivu jednotlivých proměnných. Coxovým modelem nelze určit absolutní riziko sledovaného jevu, jenom poměr relativních rizik (relative risk ratio – RR). Například riziko úmrtí diabetiků lze porovnat s rizikem úmrtí nediabetiků. Když se poměr relativních rizik úmrtí diabetiků a „nediabetiků“ rovná 3,0, znamená to, že diabetici mají

tříkrát větší riziko úmrtí než „nediabetici“. Vzhledem k tomu, že absolutní riziko úmrtí nediabetiků není známo, je tento model označován za semiparametrický.

Stejně jako u všech ostatních statistických metod platí výsledky Coxova modelu jenom za definovaných předpokladů. Základním předpokladem je, že se poměr rizik dvou jedinců v čase nemění – je konstantní. Tento předpoklad je nutné ověřit. Jednou z možností je provést jednorozměrnou analýzu podle Kaplana a Meierové pro každou proměnnou.

Jak Coxův model vlastně funguje? U každého analyzovaného nemocného je nutné znát tři základní vstupní údaje. Předně celkovou dobu sledování. Dále skutečnost, zda se sledovaný jev v průběhu sledování vyskytl nebo nevyskytl (proto musí být jasně definován a datum jeho manifestace musí být známo). Při transplantacích ledvin jsou nejčastěji sledovanými jevy „selhání štěpu“ nebo „úmrtí nemocného“. Cenzurování se však neuplatňuje jenom při ukončení studie nebo při ztrátě nemocného ze sledování. Jestliže je analýza zaměřena primárně na selhání štěpů, jsou nemocní, kteří zemřou s funkčním štěpem, dnem úmrtí cenzurováni (úmrtí nemocného není sledovaným jevem).

A nakonec jsou pro Coxův model důležité ostatní rizikové faktory, které přežívání významně ovlivňují. Při analýze je velmi důležité zařadit do analýzy dostatečný počet proměnných, které přežívání ovlivňují. Jejich počet nezávisí na počtu nemocných, ale na četnosti výskytu sledovaného jevu. Za maximální počet proměnných lze odhadem považovat 10 % z druhé mocniny počtu sledovaného jevu. Do analýzy je nezbytné zařadit všechny proměnné, o nichž je zřejmé, že mají na přežívání skutečný vliv. Jenom velice těžko bychom důvěřovali analýze vlivu dvanácti proměnných na šanci otěhotnění, kdyby neobsahovala například věk ženy.

Existuje několik druhů proměnných. Za kategorické se považují ty, které vyjadřují dva jasně odlišné stavy (například – dárce: žijící/zemřelý). Za typické spojitě proměnné lze považovat např. věk příjemce nebo výsledky některých biochemických laboratorních metod (sérová koncentrace kreatininu). Může jím však být i počet transplantací.

Jak správně porozumět výsledkům Coxovy analýzy? Jak již bylo zmíněno, její výsledky jsou vyjádřeny hodnotou poměru relativních rizik (RR) a statistické významnosti zjištěného poměru rizik (p). O velikosti (síle) proměnné vypovídají hodnoty RR. Čím je p menší, tím je méně pravděpodobné, že sledovaný vliv proměnné se blíží nulové hypotéze. I když zjistíme, že proměnná, nazvaná „anatomie štěpu“, by mohla mít velmi významný vliv na selhání štěpu, protože hodnota jejího p je *velmi nízká* ($p = 0,0001$), avšak RR selhání štěpu s „abnormální anatomíí“ je 1,005 (je zvýšeno o 0,05 % ve srovnání s „normální anatomíí štěpu“), klinický význam abnormální anatomie je zanedbatelný.

Největší předností Coxova modelu je (ve srovnání s metodou Kaplana a Meierové) jeho schopnost vyjá-

dřít vliv sledovaného rizikového faktoru, po zohlednění vlivu ostatních relevantních rizikových faktorů. Proto se nazývá modelem mnohorozměrným. Z klinického hlediska se hodí zejména pro analýzu nerandomizovaných klinických studií, protože umožňuje „odclonit“ vliv ostatních proměnných, které přežívání významně ovlivňují. Nicméně i v randomizovaných klinických studiích může při alokaci nemocných do sledované či kontrolní skupiny náhodně vzniknout nerovnováha v zastoupení jednotlivých rizikových faktorů. Coxovým modelem lze tuto nerovnováhu odstranit. V komplikovaných observačních studiích, které jsou ovlivněny mnoha faktory a mezi něž analýzy nemocných po transplantaci ledviny jistě patří, nelze výsledky bez použití Coxova modelu „rozplést“.

KOMENTÁŘ

MUDr. Štefan Vítko, CSc.

V počátečním období transplantací ledvin bylo selhání štěpů velmi časté, a proto bylo hodnocení úspěchu či neúspěchu nové léčebné metody na první pohled zřejmé. Nebylo k tomu zapotřebí žádných složitých statistických metod. V posledním desetiletí jsou selhání štěpů a úmrtí příjemců v časném potransplantačním stále řidším jevem. Bylo identifikováno i velmi mnoho předtransplantačních a potransplantačních faktorů, které přežívání nemocných a/nebo štěpů významně ovlivňují. Proto jsou nyní ze statistického hlediska, analýzy výsledků transplantací mnohem složitější. Správné pochopení statistického zpracování výsledků transplantací se stává noční můrou lékařů, kteří se snaží sledovat recentně publikované časopisecké práce.

J. I. Roodnat se v komentovaném článku pokusil slovem, bez použití matematických vzorců, vysvětlit základní principy analýzy přežívání a porovnat výhody a nevýhody kumulativního přežívání podle Kaplana a Meierové a Coxova modelu poměru rizik na příkladech transplantací ledvin. Nakolik se mu to podařilo? Vysvětlení „kumulativního přežívání“ je srozumitelné a zejména výběr příkladů je velmi ilustrativní. Příklad, ve kterém jsou porovnány křivky přežívání štěpů při léčbě azathioprinem (Aza) a při imunosupresi cyklosporinem A (CsA), velmi dobře ilustruje limity analýzy Kaplana-Meierové. V prvním období je přežívání štěpů cyklosporinové skupiny podstatně lepší, než skupiny léčené azathioprinem. Po několika letech však obě

křivky splývají v jednu. Přežívání štěpů se v obou skupinách již neliší. Je pozdní zhoršení výsledků cyklosporinové skupiny způsobeno dlouhodobou nefrotoxitou? Nebo je počáteční lepší přežívání štěpů léčených CsA jenom odrazem zlepšení operační techniky a dokonalejší pooperační péče u nemocných, kterým byla transplantace provedena o několik let později, než tomu bylo ve skupině léčené azathioprinem? Na tyto otázky neumí analýza Kaplana-Meierové odpovědět (možná, že by mohla být v této souvislosti alespoň zmíněna existence statistických metod, které porovnávají statistickou významnost rozdílů křivek přežívání /log-rank test/).

Většinu textu se autor zabývá charakteristikou Coxova modelu. Ten je popsán poměrně ilustrativně, nicméně omezený prostor nutí autora k formulacím, které někdy vyžadují velmi soustředěné čtení. Pro čtenáře, který se s danou problematikou setkává poprvé, bude asi obtížné i pochopení některých pojmů, které mají v angličtině přirozeně odlišný obsah, ale čeština mezi nimi příliš nerozlišuje (například „odd“ versus „risk“). O tom, že to není úplně banální problém, svědčí i některé práce českých statistiků. Dobrým dokladem obtížnosti překladu statistických pojmů je například i „statistická“ kapitola knihy „Klinické studie v kardiologii“ (Špinar, 2001). Klinický pracovník asi lépe než z komentovaného článku pochopí význam mnohorozměrné analýzy z obsáhléji koncipované Katzovy publikace (1999). Ten se podobně jako Roodnat cítil být frustrován čtením složitých matematicky založených biostatistických textů, a proto ve své knize vyložil problematiku krok za krokem s použitím skutečně publikovaných příkladů. V jeho podání se stává výklad statistických metod skutečně vzrušujícím čtením. Přesto Roodnatova práce představuje velmi zajímavý pokus přiblížit analýzu přežívání i čtenářům, kteří exaktní vyjádření nepreferují. Možná, že použití několika matematických symbolů by pochopení Coxova modelu přece jenom prospělo.

Literatura

- Cox DR. Regression models and life tables (with discussion). J R Stat Soc B 1972;34:187–202.
- Kaplan E, Meier R. Nonparametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Assoc 1958;53:457–481.
- Katz MH. Multivariate analysis. A practical guide for clinicians. Cambridge: Cambridge University Press, 1999:192.
- Holčík J, Koupilová I. Statistické metody v kardiologii. In: Špinar J, Vítovec J, Kubecová L, Pařenica J (eds). Klinické studie v kardiologii. Praha: Grada, 2001:435–453.