

# POSTGRADUÁLNÍ NEFROLOGIE

VÝBĚR ZE SVĚTOVÉ LITERATURY S KLINICKÝMI KOMENTÁŘI

Ročník VII Číslo 5

Listopad 2009

Řídí redakční rada:

Předseda:

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Členové:

Doc. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D.

I. interní klinika FN, Plzeň

Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.

Klinika gerontologická a metabolická FN,  
Hradec Králové

Doc. MUDr. Ivan Rychlík, CSc., FASN

II. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.

Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Prof. MUDr. Vladimír Teplán, DrSc.

Klinika nefrologie TC IKEM, Praha

Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Klinika nefrologie TC IKEM, Praha

MUDr. Štefan Vítko, CSc.


Transplantcentrum IKEM, Praha

Informační bulletin

Postgraduální nefrologie

Vydává 6x ročně

 MEDICAL TRIBUNE CZ

 SV Süddeutscher Verlag

Redakce:

Mgr. D. Lipovská, PaedDr. L. Šámalová

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

Zástupce:

MUDr. Helena Pikartová

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

Copyright © 2009

MEDICAL TRIBUNE CZ, s. r. o.

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

- *Snížená tvorba reninu vede k vývoji chronického selhání ledvin –  
může inhibice systému renin-angiotensin zvyšovat renální riziko?* ..... 66
- *Embryonální kmenové buňky se množí a diferencují v ledvinách  
zbavených vlastních buněk – cesta k získání imunologicky shodných štěpů  
pro transplantaci ledviny?* ..... 67
- *Tekutinová bilance a akutní poškození ledvin: důvod k zamyšlení* ..... 69
- *Neutropenie po transplantaci: laboratorní odchylka, nebo klinický problém?* ..... 70
- *Oxfordská klasifikace – krok ke sjednocení diagnostiky a zlepšení  
odhadu prognózy IgA nefropatie* ..... 71
- *Vliv vrozených anomálií ledvin a močových cest na výslednou renální funkci* ..... 72
- *Fosfokalciový metabolismus v prvních měsících po transplantaci ledviny* ..... 74
- *Snížení hmotnosti u osob s chronickým onemocněním ledvin* ..... 75
- *Úspěšná léčba potransplantačních lymfoproliferací* ..... 76
- *Dlouhodobé zvýšení chuti k jídlu u malnutričních dialyzovaných  
pacientů při denním podávání ghrelinu* ..... 78
- *Vliv metody použité k měření albuminémie na stanovení korigované kalcémie* ..... 79



www.nefrol.cz

Vydávají:

Česká nefrologická společnost a Česká transplantační společnost  
Vychází díky vzdělávacímu grantu společnosti ROCHE s. r. o.



Česká  
Transplantační  
Společnost

www.transplant.cz

## Snížená tvorba reninu vede k vývoji chronického selhání ledvin – může inhibice systému renin-angiotensin zvyšovat renální riziko?

Živná M, Hůlková H, Matignon M, et al. Dominant renin gene mutations associated with early-onset hyperuricemia, anemia, and chronic kidney failure. *Am J Hum Genetics* 2009;85:1–10.

**R**ecesivní mutace genu pro renin způsobující úplnou ztrátu jeho syntézy vede k poruše vývoje renálních tubulů (Gribouval et al., 2005). V komentované práci identifikovali pracovníci skupiny ing. Kmocha, CSc., z Ústavu dědičných metabolických poruch 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Praze dominantní mutaci v signální sekvenci genu pro renin jako příčinu pomalu se vyvíjejícího chronického selhání ledvin doprovázeného hyperurikémií a anémií.

Autoři analyzovali tři rodiny (původem belgickou, americkou a portugalskou) s autosomálně dominantně dědičnou chronickou renální insuficiencí progredující postupně ve středním až vyšším věku do selhání ledvin. Ve všech rodinách se vyskytovala u postižených jedinců již v dětském věku hyperurikémie a anémie, snížená glomerulární filtrace a menší velikost ledvin, pacienti měli sklon k hypotenzii, u některých byla přítomna normokalcémie, u jiných mírná hyperkalcémie, plazmatická reninová aktivita i plazmatický aldosteron byly nižší, ale ne zcela suprimovány. U některých probandů byl v dospělém věku hemoglobin normální, pokud nebyla renální funkce výrazněji snížena. U pacientů s nízkým hemoglobinem (u jednoho z nich byl normální nálezní v kostní dřeni) odpovídala anémie na léčbu erytropoetinem. Močový nálezní byl negativní, včetně proteinurie, snížená glomerulární filtrace přítomná od dětského věku pomalu progredovala do terminálního chronického selhání ledvin, které se vyvinulo ve dvou prvních rodinách ve věku 43–66 let.

Provedený celogenomový scan identifikoval kandidátní oblast na 1. chromosomu (1q41) obsahující cca 300 genů. Po analýze devíti možných kandidátních genů identifikovaných autory v jejich předchozí studii (Hodanová et al., 2005) byla pozornost zaměřena na dalších šest genů a v jednom z nich, v genu pro renin, byla identifikována v exonu 1 heterozygotní delece tří nukleotidů v pozici 45–47. Tato delece byla přítomna u všech postižených rodinných příslušníků v dané rodině, ale u žádného z nepostižených rodinných příslušníků a u žádných z 385 nepřibuzných kontrolních osob. Stejná heterozygotní delece byla nalezena i v druhé (s první rodinou nepřibuzné) americké rodině. Ve třetí rodině portugalského původu s podobným fenotypem byla u dvou postižených příslušníků prokázána mutace v 1. exonu (T místo normálně přítomného G v pozici 47).

Renin je normálně syntetizován v juxtaglomerulárním aparátu jako preprorenin o 406 aminokyselinách s N-terminální signální sekvencí tvořenou 23 aminokyselinami, následovanou 43 aminokyselinami, které jsou součástí proreninu, ale jsou enzymaticky odštěpeny při vzniku aktivního reninu. Delece nukleotidů 45–47 vyvolává náhradu leucinu argininem v pozici 16 (v signální sekvenci), snižuje hydrofobicitu signální sekvence, ale neovlivňuje odštěpení signální sekvence a vznik proreninu. Pomocí exprese mutované varianty v HEK293 buňkách autoři ukázali, že mutovaná varianta reninu má ve srovnání s divokou variantou sníženou translokaci na membránu

endoplazmatického retikula. V buněčných liniích stabilně exprimujících divokou nebo mutovanou variantu genu pro renin bylo možno ukázat, že mutovaná varianta genu byla spojena s významně porušenou syntézou, sekrecí a aktivitou proreninu i reninu. Buňky exprimující mutovanou variantu rovněž jevíly známky stresu endoplazmatického retikula a odpovědi na nesprávně konformované proteiny (unfolded protein response). U tří pacientů, u nichž byl k dispozici materiál z renální biopsie, bylo možno prokázat v časných fázích onemocnění výrazně menší obsah reninu v buňkách juxtaglomerulárního aparátu a nepřítomnost reninu v tubulárních buňkách. V pokročilých fázích onemocnění nebylo možno prokázat přítomnost reninu ani v tubulárních buňkách, ani v juxtaglomerulárním aparátu. Naproti tomu bylo možno u nemocných demonstrovat abnormální přítomnost reninu v cévní stěně několika arteriol a malých tepen. Podobně byla v příslušných lokalizacích u pacientů ve srovnání s kontrolami významně (v závislosti na pokročilosti onemocnění) snížena přítomnost dalších komponent systému renin-angiotensin, tj. angiotensinogenu, angiotensinu II a receptoru pro prorenin/renin.

### ■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Autoři tedy prokázali ve třech nepřibuzných rodinách s klinicko-laboratorním syndromem hyperurikémie, anémie a pomalu se rozvíjející progresivní renální insuficience dvě různé mutace v signální sekvenci genu pro renin spojené (s určitými rozdíly mezi oběma mutacemi) se sníženou aktivací preproreninu na prorenin, poruchou intracelulárního transportu preproreninu na úrovni endoplazmatického retikula a akumulací preproreninu v cytoplazmě buněk juxtaglomerulárního aparátu. Akumulace abnormálně svinutého proreninu (u pacientů s delecí v signální sekvenci) aktivuje v endoplazmatickém retikulu stresovou reakci, jejímž důsledkem může být postupná destrukce renin syntetizujících buněk juxtaglomerulárního aparátu a abnormálně (kompenzatorně?) zvýšená syntéza reninu v cévní stěně arteriol a malých tepen. Postižení jedinci přitom měli prakticky normální koncentrace reninu v plazmě (pro relativní deficienci aktivity reninu ale svědčí sklon k hypotenzii a hyperkalcémii).

I když etiologie hyperurikémie u pacientů s deficiencí reninu není zcela jasná, hypourikosurie svědčí pro zvýšenou zpětnou resorpci kyseliny močové a může souviset s mírnou hypovolémií spojenou s mírně sníženou systémovou aktivitou systému renin-angiotensin-aldosteron. I anémie může být důsledkem snížené aktivity systému renin-angiotensin. Anémie (eventuálně její zhoršení) je známou komplikací léčby inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu (Hubert et al., 2006). Tíže anémie byla u postižených jedinců větší, než by odpovídalo závažnosti renální insuficience, a u dětí zjevně vývoji progresivní chronické renální insuficience předcházela. Anémie dobře odpovídala na léčbu erytropoetinem.

Progresivní chronická renální insuficience s histologickým obrazem progredující tubulointericiální léze s intericiální fibrózou a sekundární fokální a segmentální glomerulosklerózou je zřejmě také důsledkem mírného, ale dlouhodobého nedostatku reninu, který způsobuje jak poruchu vývoje ledvin (dominující u těžké poruchy syntézy reninu – Gribouval et al., 2005), tak zřejmě, podobně jako u myši s destrukcí juxtaglomerulárního aparátu (Pentz et al., 2004), poruchu renální autoregulace a postupnou ztrátu nefronů a destrukce glomerulů i tubulointericia.

Jaký je význam tohoto pozorování pro pacienty s mnohem častějším chronickým onemocněním ledvin? Postupný vývoj chronického selhání ledvin u pacientů s dlouhodobou mírnou poruchou syntézy reninu ukazuje, že příliš výrazná inhibice systému renin-angiotensin-aldosteron nemusí být výhodná, a může být dokonce nebezpečná.

Jednoznačný přínos inhibice systému renin-angiotensin-aldosteron u pacientů, u nichž je tento systém aktivován, např. u pacientů s diabetickou nefropatií (Brenner et al., 2001) nebo u pacientů s proteinurickou chronickou nediabetickou nefropatií (GISEN Group, 1997), nebyl přesvědčivě dokumentován u pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem, ale bez proteinurie a pokročilé renální insuficience, kdy podávání telmisartanu samotného (Mann et al., 2009, sekundární analýza studie TRANSCEND) nebo kombinace telmisartanu a ramiprilu (Mann et al., 2008, sekundární analýza studie ONTARGET) byly spojeny s větší rychlostí ztráty glomerulární filtrace než podávání placebo (studie TRANSCEND), resp. monoterapie ramiprelem či telmisartanem (studie ONTARGET). Podobně, zatímco u hypertenzních pacientů s diabetem 2. typu bylo možno léčbou trandolaprelem snížit riziko mikroalbuminurie (Ruggenti et al., 2004, studie BENEDICT), u normotenzních pacientů s diabetem 1. typu losartan riziko vývoje mikroalbuminurie zvýšil (Mauer et al., 2009).

Vývoj renální insuficience u pacientů s mutací genu pro renin a sníženou syntézou reninu tedy ve shodě s výsledky nedávných studií (Mann et al., 2008 a 2009 a Mauer et al., 2009) jednoznačně ukazuje, že systém renin-angiotensin-aldosteron má být inhibován jenom tam, kde je aktivován, jeho bazální funkce je pro zachování normální renální funkce nezbytná. Příliš výrazná dlouhodobá inhibice systému renin-angiotensin-aldosteron u normotenzních normoalbuminurických pacientů může tedy zřejmě nikoli snižovat, ale zvyšovat riziko vývoje chronické renální insuficience. Tato zásadní změna pohledu na inhibici systému renin-angiotensin-aldosteron jistě významným způsobem ovlivní terapeutická doporučení i uspořádání dalších studií s kombinací více látek inhibujících systém renin-angiotensin-aldosteron zejména u pacientů s nízkým renálním rizikem.

#### Literatura

- Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:861–869.
- GISEN Group. Randomised placebo-controlled trial of effect of ramipril on decline in glomerular filtration rate and risk of terminal renal failure in proteinuric, non-diabetic nephropathy. *Lancet* 1997;349:1857–1863.
- Gribouval O, Gonzales M, Neuhaus T, et al. Mutations in genes in the renin-angiotensin system are associated with autosomal recessive renal tubular dysgenesis. *Nat Genet* 2005;37:964–968.
- Hodanová K, Majewski J, Kublova M, et al. Mapping of a new candidate locus for uromodulin-associated kidney disease (UAKD) to chromosome 1q41. *Kidney Int* 2005;68:1472–1482.
- Hubert C, Savary K, Gasc JM, et al. The hemopoietic system: A new niche for the renin-angiotensin system. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:80–85.
- Mann JF, Schmieder RE, Dyal L, et al. Effect of telmisartan on renal outcomes: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2009;151:1–10.
- Mann JF, Schmieder RE, McQueen M, et al. Renal outcomes with telmisartan, ramipril, or both, in people at high vascular risk (the ONTARGET study): a multicentre, randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet* 2008;372:547–553.
- Mauer M, Zinman B, Gardiner R, et al. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2009;361:40–51.
- Pentz ES, Moyano MA, Thornhill BA, et al. Ablation of renin-expressing juxtaglomerular cells results in a distinct kidney phenotype. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;286:R474–R483.
- Ruggenti P, Fassi A, Ilieva AP, et al. Preventing microalbuminuria in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2004;351:1941–1951.

## Embryonální kmenové buňky se množí a diferencují v ledvinách zbavených vlastních buněk – cesta k získání imunologicky shodných štěpů pro transplantaci ledviny?

Ross EA, Williams MJ, Hamazaki T, et al. Embryonic stem cells proliferate and differentiate when seeded into kidney scaffolds. *J Am Soc Nephrol* 2009, doi:10.1681/ASN.2008111196.

Trvalý nedostatek kadaverózních štěpů a přetrvávající problémy s inkompatibilitou a infekčními riziky xenotransplantace vzbudily v poslední době velký zájem o možnost stimulace renálních kmenových buněk nebo podání kmenových buněk z kostní dřeně (eventuálně mesenchymálních kmenových buněk) nejen k dosažení lepší reparace poškozené ledviny, ale (nepochybně v podstatně delší časové perspektivě) i k potenciální regeneraci renálního parenchymu *in vitro*.

Studie s využitím kmenových buněk pro regeneraci ledvin jsou ale v samém počátku a stále není jasné, zda se kmenové buňky z kostní dřeně mohou diferencovat do různých typů renálních buněk (např. tubulárních buněk v modelech ischemické akutní tubulární nekrózy), nebo zda, jak ukazuje většina studií, tyto extra-renální kmenové buňky mají na reparaci ledvin jen relativně malý vliv a působí spíše uvolňováním solubilních faktorů, které mohou stimulovat proliferaci či diferenciaci renálních buněk (Romagnani a Kalluri, 2009). Větší pozornost je proto věnována identifikaci renálních kmenových buněk (Romagnani, 2009). Zatímco existence kmenových buněk v oblasti Bowmanova pouzdra, jež se zřejmě mohou diferencovat nejen do parietálních epitelů, a dokonce i podocytů, ale i buněk proximálního tubulu, se zdá být již poměrně dobře prokázána, přítomnost renálních kmenových buněk ve dření ledvin (se schopností proliferovat do tubulárních buněk distálního nefronu) se sice předpokládá, nebyla však dosud přesvědčivě dokumentována (Little a Bertram, 2009).

V komentované práci využili autoři poprvé zcela nový způsob možného *ex vivo* vytvoření „vlastních“ ledvin s využitím autologních kmenových buněk. Odebrané ledviny potkana byly postupně perfundovány neiontovými (Triton X-100) a iontovými detergenty (kalcium chloridem a magnesium sulfátem – aktivují endogenní nukleázy s následným natrávením jaderného materiálu), hyperosmolárním roztokem chloridu sodného s cílem osmoticky rozrušit jaderné membrány, deionizovanou vodou s cílem dále osmoticky poškodit přítomné buňky a vypláchnout podané detergenty a deoxyribonukleázou (k enzymatické degradaci jaderného materiálu). Ke všem použitým roztokům byl použit azid sodný jako antimikrobiální agens. Tímto způsobem byly vytvořeny bezbuněčné houbovitě kostry zachovávající při histologickém vyšetření (vzhledem k nepoškozené extracelulární matrix a buněčným membránám) tvar původních ledvin a mikroskopicky struktury glomerulů i tubulů. Do této bezbuněčné ledvinové „kostry“ (lešení – „scaffold“) bylo poté intraarteriálně podáno  $2 \times 10^6$  myších embryonálních kmenových buněk. Jejich lokalizace v bezbuněčné ledvinové kostře byla kontrolována fluorescenčním mikroskopem (buňky byla značeny zeleným fluorescenčním proteinem) a celý tento preparát byl kultivován při teplotě 37 °C v mediu obsahujícím 5% CO<sub>2</sub> bez růstových faktorů a proces proliferace a diferenciaci



podaných kmenových buněk v aceluární ledvinové kostře byl v pravidelných intervalech sledován mikroskopicky. Kultivace delší než 48 hodin ale vyžadovala pro další kultivaci vytvoření tkáňových řezů. V další fázi experimentů byla ledvinová kostra po podání embryonálních kmenových buněk promývána automatickým perfuzním systémem s kolísajícím perfuzním tlakem a kontrolou teploty a obsahu krevních plynů. Získané tkáňové řezy pak byly vyšetřovány mikroskopicky se současným studiem proteinů aktivovaných při diferenciaci (Pax-2 a Ksp-cadherinu), epitelizaci (cytokeratinu) a proliferaci (Ki-67).

Výše popsanou metodou se autorům podařilo opakovaně vytvořit aceluární ledviny (houbovitě, komprimovatelné, ale opět se vracející do původního tvaru), které si ale zachovaly díky přítomnosti bazálních membrán a extraceluární matrix základní architekturu normálních ledvin, včetně aceluárních glomerulů, tubulů a vaskulárních struktur. Aceluární ledviny neobsahovaly ani buňky, ani jejich drť, naproti tomu v nich bylo možno imunohistochemicky prokázat v normální lokalizaci základní proteiny bazálních membrán kolagen IV a laminin. V původně aceluárních ledvinách zůstalo retinováno 95,1% intraarteriálně podaných embryonálních kmenových buněk (značených zeleným fluorescencem), a to ve vaskulárních strukturách a glomerulech. Postupně bylo možno pozorovat migraci podaných buněk i do peritubulárních cévních sítí, lepší výsledek poskytovaly aceluární ledviny promývané automatickým perfuzním systémem. V tkáňových řezech bylo možno prokázat nejen migraci, ale i proliferaci injikovaných embryonálních kmenových buněk. Do deseti dnů vyplnily migrující a proliferující embryonální kmenové buňky téměř kompletně glomeruly i peritubulární kapiláry, jejich dělení bylo možno prokázat barvením na proliferační marker Ki-67.

Intraarteriálně podané kmenové buňky ale až na vzácné výjimky nepronikaly do tubulárních struktur. K buněčné repopulaci distálního nefronu (počínaje kortikálním sběrným kanálkem) bylo třeba podat embryonální kmenové buňky cestou ureteru. Podání embryonálních kmenových buněk do kalichů aceluární ledviny vedlo k jejich postupné migraci do sběrných kanálků. Na rozdíl od velmi efektivní retence po arteriálním podání se ale při intraureterálním podání udrželo v aceluární ledvině jen asi 50 % podaných buněk a migrace do sběrných kanálků byla poněkud nehomogenní, což ale (dle autorů) může být způsobeno odlišnostmi v papilární struktuře mezi hlodavci a vyššími savci, jako jsou prasa nebo člověk, kde by teoreticky intraureterální podání embryonálních buněk mohlo být z hlediska retence účinnější.

Embryonální kmenové buňky se ve vaskulárních strukturách diferencovaly do typických endotelových buněk a také do tubulárních struktur, v obou případech s apoptózou centrálně lokalizovaných buněk a vytvářením dutých vaskulárních a tubulárních struktur. Diferenciaci embryonálních buněk bylo možno prokázat i imunohistochemicky, např. objevením cytokeratinu v oblastech, kde docházelo k reepitelizaci, Pax-2 v buňkách adherujících jak k tubulárním, tak vaskulárním bazálním membránám, nebo Ksp-cadherinu (markeru diferenciaci buněk distálního nefronu) v tubulárních buňkách.

## ■ KOMENTÁŘ

**Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.**

*Nepostradatelnost extraceluární matrix jak pro reparaci (in vivo), tak pro regeneraci orgánu (ex vivo) je dobře známa. První pokusy s využitím extraceluární matrix ukázaly její možné použití pro překrytí hernií, ale v experimentu také pro rekonstrukci tenkého střeva, a dokonce i srdce (Ott et al., 2008).*

Regenerace aceluárních orgánů ex vivo vyžaduje podání kmenových buněk, které musejí být (zejména u komplexních orgánů, jako jsou ledviny) dostatečně pluripotentní, aby byly schopny diferenciaci do všech buněčných subtypů nezbytných pro normální strukturu a funkci orgánu. V tomto směru mohou být zejména v začátečních fázích výzkumu výhodnější embryonální kmenové buňky, i když je jasné, že pokud by měla být repopulace aceluárních orgánů cestou k náhradě orgánů u lidí, bylo by i z etických důvodů podstatně výhodnější používat kmenové buňky získané od dospělých jedinců (optimálně přímo od příjemců připravovaných orgánů). Nedávné první úspěchy s přeprogramováním fibroblastů do pluripotentních embryonálních kmenových buněk (Wernig et al., 2007) dávají naději, že to v budoucnu bude možné.

Tkáňové (a orgánové) inženýrství bude v případě ledvin pravděpodobně narážet vzhledem ke komplexnosti orgánu na ještě větší potíže než např. u střeva či srdce. Regenerace ledvin je komplikovanější i vzhledem ke vzniku ledvin jednak z metanefrického blastému, jednak z ureterálního pupenu (zejména struktury distálního nefronu a papil). Jak bylo demonstrováno i v této práci, pro efektivní repopulaci aceluárních ledvin bude navíc asi potřeba volit kombinaci intraarteriálního a intraureterálního podání kmenových buněk. Velkou pozornost bude nepochybně nutno ještě věnovat i optimálním metodám decelularizace ledvin. Nedokonalé odstranění buněk či celulární debris by výrazně zvýšilo riziko imunitní reakce na ex vivo připravené orgány. I když nelze vyloučit ani reakci proti aceluárním xenotransplantátům, zdá se, že by aceluární xenotransplantáty mohly být imunologicky tolerovány a neaktivují buněčnou imunitu (Allman et al., 2001).

Komentovaná práce je první prací ukazující možnost efektivní repopulace aceluární ledviny potkana. Autoři demonstrovali nejen vysokou (po intraarteriálním podání, resp. relativně vysokou po intraureterálním podání) retenci podaných embryonálních kmenových buněk v aceluární ledvině, ale také migraci kmenových buněk do vaskulárních, glomerulárních i tubulárních struktur a jejich diferenciaci do endotelových i tubulárních buněk.

Další kroky navazující na tuto první studii budou nepochybně muset řešit otázku optimální perfuze aceluární ledviny s dostatečnou dodávkou kyslíku i nezbytných živin a rovněž podání řady diferenciačních faktorů v optimálním pořadí a čase. Diferenciaci embryonálních kmenových buněk do renálních epitelových buněk bylo možno dosáhnout podáním kombinace kyseliny retinové, aktivinu-A a BMP-7 (Kim et al., 2005), eventuálně kombinací BMP-4, BMP-2 a BMP-7 (Bruce et al., 2007). Vývoj tubulů může být podpořen podáním kyseliny hyaluronové a vývoj cév podáním vaskulárního endotelového růstového faktoru (vascular endothelial growth factor, VEGF – Badylak, 2005).

Podání embryonálních kmenových buněk má jistě i závažná potenciální rizika, např. vznik teratomu, tomu však pravděpodobně bude u aceluárních ledvin účinně bránit zachovaná struktura extraceluární matrix a bazálních membrán. Důležitým problémem může být přenos virových infekcí z dárce orgánu, i když příprava aceluárního orgánu (s využitím detergentu a nukleáz) by jistě měla toto riziko výrazně snížit.

Použití aceluárních xenotransplantátů osídlených vlastními kmenovými buňkami připravených ex vivo k náhradě funkce ledvin u dialyzovaných pacientů s terminálním selháním ledvin představuje velmi atraktivní perspektivu, i když eventuální klinické využití takto ex vivo připravených transplantátů si lze jistě představit jen v poměrně vzdálené budoucnosti.

## Literatura

- Allman AJ, McPherson TB, Badylak SF, et al. Xenogeneic extracellular matrix grafts elicit a Th2-restricted immune response. *Transplantation* 2001;71:1631–1640.
- Badylak SF. Regenerative medicine and developmental biology: the role of extracellular matrix. *Anat Rec B New Anat* 2005;287:36–41.
- Bruce SJ, Rea RW, Steptoe AL, et al. In vitro differentiation of murine embryonic stem cells toward a renal lineage. *Differentiation* 2007;75:337–349.
- Kim D, Dressler GR. Nephrogenic factors promote differentiation of mouse embryonic stem cells into renal epithelia. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3527–3534.
- Little MH, Bertram JF. Is there such a thing as a renal stem cell? *J Am Soc Nephrol* 2009;20(10):2112–2117, doi: 10.1681/ASN.2009010066.
- Ott HC, Matthiesen TS, Goh S, et al. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nature Med* 2008;14:213–221.
- Romagnani P, Kalluri R. Possible mechanisms of kidney repair. *Fibrogenesis Tiss Rep* 2009;2(1):3, doi: 10.1186/1755-1536-2-3.
- Romagnani P. Toward the identification of a „renopoietic system“? *Stem Cells* 2009;27:2247–2253.
- Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 2007;448:318–324.

## Tekutinová bilance a akutní poškození ledvin: důvod k zamyšlení

Bouchard J, Soroko SB, Chertow GM, Himmelfarb J, Ikizler TA, Paganini EP, Mehta RL; Program to Improve Care in Acute Renal Disease (PICARD) Study Group. Fluid accumulation, survival and recovery of kidney function in critically ill patients with acute kidney injury. *Kidney Int* 2009;76:422–427.

**N**avzdory zvyšující se kvalitě intenzivní péče zůstává mortalita kriticky nemocných s akutním poškozením ledvin (acute kidney injury, AKI) vysoká (40–65 %). Stále chybí konsensus k řadě rutinních léčebných opatření, která mohou osud těchto nemocných ovlivnit. Patří mezi ně taktika náhrady funkce ledvin (načasování, dávka, modalita), podávání diuretik, volba a cíle léčby vasopresory či strategie vedení tekutinové léčby. Právě posledně zmíněný aspekt se v poslední době dostává do popředí zájmu. Důvodem jsou výsledky studií, které poukazují na vztah mezi kumulativní bilancí tekutin a mortalitou u kriticky nemocných (Sakr et al., 2005; Payen et al., 2008). Významné periodikum *Kidney International* nyní přináší výsledky observační studie 618 kriticky nemocných pacientů s AKI, kteří jsou dlouhodobě prospektivně sledováni v pěti akademických centrech v Severní Americe v rámci programu PICARD (Program to Improve Care in Acute Renal Disease) (Mehta et al., 2004). V komentované studii autoři tohoto programu testovali hypotézu, zda je tekutinové přetížení spojeno s mortalitou a zhoršenou reparací renálních funkcí u kriticky nemocných s AKI. Akutní poškození ledvin bylo definováno jako vzestup sérové koncentrace kreatininu  $\geq 44 \mu\text{mol/l}$ , pokud vstupní hodnota kreatininu nebyla vyšší než  $133 \mu\text{mol/l}$ , nebo jako vzestup koncentrace kreatininu  $\geq 88 \mu\text{mol/l}$ , pokud vstupní hodnota byla v rozmezí  $133\text{--}442 \mu\text{mol/l}$ . Tekutinové přetížení bylo definováno jako vzestup tělesné hmotnosti nad 10 % výchozí hodnoty v době přijetí.

Po přihlédnutí k závažnosti onemocnění byla mortalita pacientů s dokumentovaným tekutinovým přetížením signifikantně vyšší 30. den ( $p = 0,02$ ) i 60. den ( $p = 0,006$ ) od zařazení do studie. Přeživší pacienti, kteří vyžadovali náhradu funkce ledvin, měli významně nižší kumulativní bilanci tekutin než nepřeživší v době zahájení dialýzy. Relativní riziko úmrtí (tj. pravděpodobnost, kolikrát častěji zemrou nemocní s tekutinovým přetížením než pacienti bez přetížení) v době zahájení dialýzy a po adjustaci na závažnost onemocnění a modalitu náhrady funkce ledvin bylo 2,07. Podobně u nedialyzovaných nemocných byla míra tekutinové kumulace v době dosažené vrcholové sérové koncentrace

kreatininu nižší u přeživších. Tekutinové přetížení registrované u pacientů s AKI v době nejvyšší dosažené sérové koncentrace kreatininu bylo rovněž spojeno s menší pravděpodobností zotavení renálních funkcí. Navíc, čím více dní byli nemocní s AKI v tekutinovém přetížení a čím závažnější byla jeho míra, tím horší byla jejich mortalita. Pacienti léčení kontinuálními metodami snáze dosáhli redukce kumulativní pozitivní bilance než nemocní léčení intermitentními metodami. Autoři dospěli k závěru, že tekutinové přetížení, jeho trvání i závažnost jsou nezávisle spojeny s mortalitou kriticky nemocných s AKI. Zda je tekutinové přetížení výsledkem závažnějšího renálního selhání, nebo zda samo o sobě přispívá k jeho příčině, vyžaduje dle autorů klinickou studii, která bude úlohu kumulativní tekutinové bilance přímo testovat.

## KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Martin Matějovič, Ph.D.

Ještě před diskusí o vlastních výsledcích komentované studie je zcela nezbytné odlišit problematiku pozitivní kumulativní tekutinové bilance od významu akutní hemodynamické resuscitace hypovolemických kriticky nemocných. Včasná a na konkrétní fyziologické cíle orientovaná úvodní tekutinová léčba vedená k obnově cirkulujícího krevního objemu a tkáňové perfuze je opatřením, které i podle přísného měřítka medicíny založené na důkazech zlepšuje mortalitu kriticky nemocných (Rivers et al., 2001; Lin et al., 2006). Jakmile je však dosaženo euvolemie a hemodynamické stabilizace, je více než žádoucí zaměřit pozornost na denní vyhodnocení bilance tekutinové léčby. Komentovaná studie je dalším významným signálem, který tuto strategii podporuje. Její výsledky dokumentují nejen vztah tekutinového přetížení k mortalitě kriticky nemocných s AKI, ale poukazují i na skutečnost, že kumulace tekutin a výsledná pozitivní tekutinová bilance je velmi častým fenoménem u této populace pacientů, který může mj. přispívat i k horšímu zotavení renálních funkcí při akutním poškození ledvin. Pravděpodobnost, že pacient vyžadující náhradu funkce ledvin zemře, byla ve studii vyšší u těch nemocných, u nichž pokračovala denní pozitivní bilance tekutin, a čím byla tato bilance výraznější, tím horší byla prognóza. Naopak mortalita byla nižší, pokud se dialýzou podařilo bilanci korigovat. Zda toto pozorování odráží terapeutický účinek ultrafiltrace či příznivější vývoj pacientů, kteří ultrafiltraci jednoduše tolerují, nelze na podkladě studie určit. Výsledky komentované studie vyvolávají i další důležité otázky. Je tekutinové přetížení ukazatelem závažnosti akutního onemocnění či AKI, nebo skutečným kauzálním „mediátorem“ nepříznivého klinického výsledku? Povede časnější intervence u pacientů s tekutinovým přetížením ke zlepšení jejich prognózy? Observační charakter komentované studie vylučuje na tyto otázky odpovědět. Přestože autoři prokázali spojitost mezi kumulativní bilancí a mortalitou i po adjustaci na závažnost onemocnění (ve studii APACHE III), nelze vyloučit vliv jiných nepodchycených proměnných. Nicméně stávající studie je svými výsledky zcela v souladu s dalšími studiemi, které poukazují na nepříznivý vliv pozitivní kumulativní bilance tekutin u dalších skupin kriticky nemocných. ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trial) Network uspořádal velkou randomizovanou multicentrickou kontrolovanou studii srovnávající konzervativní a liberální tekutinový management u pacientů s akutním plicním postižením (2006). Konzervativní přístup, spojený s vyrovnanou tekutinovou bilancí ( $-0,13 \text{ l vs. } 6,99 \text{ l}$  v liberální skupině,  $p < 0,0001$ ) zlepšil výměnu plynů, zkrátit dny na umělé plicní ventilaci s trendem k menší potřebě ná-



hrady funkce ledvin ( $p = 0,06$ ). Jiná analýza 3 147 pacientů z jednotek intenzivní péče rovněž prokázala, že tekutinové přetížení je spojeno s 21 % zvýšeným rizikem úmrtí ve srovnání s negativní tekutinovou bilancí (Payen et al., 2008). I v této analýze měli nepřezívní nemocní s AKI větší kumulativní bilanci tekutin než přeživší. Průkaz kauzálního vztahu jistě vyžaduje prospektivní randomizované studie srovnávající výsledky různých strategií tekutinového managementu u kriticky nemocných s AKI. Do té doby je však nutné považovat dosavadní důkazy za dostatečně závažné pro to, abychom vnímali denní i kumulativní bilanci u kriticky nemocných jako parametr, který zasluhuje zásadní pozornost a jenž by měl ovlivňovat i strategii našich léčebných přístupů.

#### Literatura

- Lin SM, Huang CD, Lin HC, et al. A modified goal-directed protocol improves clinical outcomes in intensive care unit patients with septic shock: a randomized controlled trial. *Shock* 2006;26(6):551–557.
- Mehta RL, Pascual MT, Soroko S, et al. Program to Improve Care in Acute Renal Disease. Spectrum of acute renal failure in the intensive care unit: the PICARD experience. *Kidney Int* 2004;66(4):1613–1621.
- National Heart, Lung, and Blood Institute Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) Clinical Trials Network. Pulmonary-artery versus central venous catheter to guide treatment of acute lung injury. *N Engl J Med* 2006;354(21):2213–2224.
- Payen D, de Pont AC, Sakr Y, et al. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients (SOAP) Investigators. A positive fluid balance is associated with a worse outcome in patients with acute renal failure. *Crit Care* 2008;12(3):R74.
- Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med* 2001;345:1368–1377.
- Sakr Y, Vincent JL, Reinhart K, et al. Sepsis Occurrence in Acutely Ill Patients Investigators. High tidal volume and positive fluid balance are associated with worse outcome in acute lung injury. *Chest* 2005;128(5):3098–3108.

## Neutropenie po transplantaci: laboratorní odchylka, nebo klinický problém?

Zafrani L, Truffault L, Kreis H, et al. Incidence, risk factors and clinical consequences of neutropenia following kidney transplantation: a retrospective study. *Am J Transplant* 2009;9:1816–1825.

**S** leukopenií a neutropenií se v klinické praxi u pacientů po transplantaci ledviny setkáváme velmi často. Incidence leukopenie se pohybuje mezi 10–55 %, u neutropenie je popisována v rozmezí 5–38 % (Rerolle et al., 2007). Příčina neutropenie je multifaktoriální s významným podílem myelotoxické medikace, která se po transplantaci běžně používá. Mezi nejdůležitější léky způsobující neutropenii patří mykofenolát mofetil, (val)ganciclovir, (val)aciclovir, sirolimus, antithymocytární globulin a co-trimoxazol. Přestože je neutropenie velmi častá, existuje minimum studií o jejím skutečném klinickém dopadu. Postupy, kterými na neutropenii reagují v různých transplantačních centrech, nejsou jednotné.

Autoři komentované retrospektivní monocentrické studie si dali za cíl zjistit incidenci a rizikové faktory neutropenie v prvním roce po transplantaci. Dále byly sledovány klinické dopady neutropenie a efekt léčebných zásahů, kterými byla neutropenie řešena. Do studie bylo zahrnuto 395 pacientů, kteří postoupili transplantaci v letech 2005–2007. Neutropenie byla definována absolutním počtem neutrofilů  $< 2\,000/\mu\text{l}$ . Ve shodě s klasifikací WHO byla její tíže rozdělena do čtyř stupňů:  $< 2\,000/\mu\text{l}$  (stupeň 1),  $< 1\,500/\mu\text{l}$  (stupeň 2),  $< 1\,000/\mu\text{l}$  (stupeň 3) a  $< 500/\mu\text{l}$  (stupeň 4).

Alespoň jedna epizoda neutropenie se vyskytla u 28 % pacientů. Těžká forma neutropenie (stupeň 4) byla zaznamenána u 5 %. V mnohorozměrové analýze byl nalezen jediný významný rizikový faktor pro neutropenii: léčba tacrolimem (v porovnání s ciclosporinem) se zhruba 3,5násobně zvýšeným rizikem. Je

třeba zdůraznit, že všichni pacienti dostávali mykofenolát mofetil. Výsledky proto dokládají vyšší riziko neutropenie u kombinace tacrolimus + mykofenolát v porovnání s režimem ciclosporin + mykofenolát. V jednorozměrové analýze byla s neutropenií asociována i léčba thymoglobulinem v porovnání s basiliximabem a trend byl i u valgancicloviru (vs. valaciclovir). Neutropenie nebyla spojena se zhoršeným přežíváním štěpů, vyšším výskytem akutní rejekce ani s poklesem renální funkce. U neutropenických pacientů byl však signifikantně vyšší výskyt bakteriálních infekcí (43 % vs. 32 %) a CMV nemoci (7 % vs. 3 %). Závažnost neutropenie korelovala s výskytem bakteriálních infekcí.

Nejčastější reakcí na neutropenii bylo snížení dávek (55 %) nebo přerušení podávání (47 %) mykofenolátu následované vysazením co-trimoxazolu (35 %) a valgancicloviru (20 %). Čím později od vzniku neutropenie byl mykofenolát vysazen, tím déle neutropenie trvala. Růstový faktor stimulující granulocyty (G-CSF) byl užit pouze u 15 (4 %) pacientů s rychlým dosažením (průměr 1,5 dne) absolutního počtu neutrofilů  $> 1\,000/\mu\text{l}$ . Zatímco užití G-CSF nebylo spojeno s výskytem akutní rejekce, vysazení mykofenolátu na dobu delší než šest dní vedlo k téměř čtyřnásobnému zvýšení rizika vzniku následné akutní rejekce.

#### ■ KOMENTÁŘ MUDr. Tomáš Reischig

Přes rozsáhlé zkušenosti s leukopenií a neutropenií u pacientů s malignitami je nutné konstatovat, že postupy při této běžné komplikaci jsou po transplantaci ledviny založeny na empirii bez znalosti skutečného dopadu leukopenie i případných terapeutických zásahů. V tomto ohledu přináší komentovaná studie přes její retrospektivní charakter řadu užitečných poznatků pro klinickou praxi. Kromě potvrzení faktu, že při imunosupresi odpovídající současnému standardu (mykofenolát v kombinaci s kalci-neurinovým inhibítorem, antithymocytární globulin u rizikové populace) a při rutinních profylaktických režimech (anti-CMV, co-trimoxazol v prevenci pneumocysty a uroinfekce) je neutropenie častým nálezem, dokládá asociaci neutropenie se zvýšeným rizikem infekcí. Kauzální souvislost mezi neutropenií a CMV nemocí je možné zpochybnit vzhledem k tomu, že leukopenie je typický projev CMV nemoci (Preiksaitis et al., 2005). Naopak, asociace mezi neutropenií a bakteriálními infekcemi je plně v souladu se zkušenostmi u onkologických pacientů. Vysoký výskyt neutropenie při užití tacrolimu nelze interpretovat jako jeho myelotoxický účinek. Vysvětlení je třeba hledat v odlišném metabolismu kyseliny mykofenolové (MPA). Ciclosporin inhibuje enterohepatální recirkulaci MPA, a proto je její expozice a potenciální myelotoxicita vyšší při kombinaci mykofenolátu s tacrolimem (Arns et al., 2006). Omezením studie je absence měření hodnot MPA. Neschopnost autorů doložit riziko neutropenie u valgancicloviru je vysvětlitelná volbou referenční skupiny, která dostávala profylaxi valaciclovirem. Leukopenii může vyvolat rovněž valaciclovir (Reischig et al., 2008).

Léčba neutropenie zůstává nejasná. Autoři ukázali, že přerušování mykofenolátu na dobu delší než šest dní je spojeno s rizikem rejekce. Již dříve bylo doloženo, že redukce či vysazení mykofenolátu z důvodu gastrointestinálních nežádoucích účinků vede ke zhoršenému přežívání štěpů (Pelletier et al., 2003). Naopak léčba G-CSF se zdá bezpečná a účinná. Prospektivní data jsou však zcela nezbytná.

V souhrnu lze konstatovat, že neutropenie je po transplantaci ledviny významný klinický problém a správný léčebný postup při

neutropenii není dosud stanoven. Postup spočívající v přerušení myelotoxické medikace (včetně mykofenolátu) na velmi krátkou dobu a v častějším využití G-CSF musí být ověřen kontrolovanou studií.

#### Literatura

- Arns W, Cibrik DM, Walker RG, et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolate acid in solid organ transplant patients treated with mycophenolate mofetil: review of the literature. *Transplantation* 2006;82:1004–1012.
- Pelletier RP, Akin B, Henry ML, et al. The impact of mycophenolate mofetil dosing patterns on clinical outcome after renal transplantation. *Clin Transplant* 2003;17:200–205.
- Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian Society of Transplantation Consensus Workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant* 2005;5:216–227.
- Reischig T, Jindra P, Hes O, et al. Valacyclovir prophylaxis vs. preemptive valganciclovir therapy to prevent cytomegalovirus disease after renal transplantation. *Am J Transplant* 2008;8:69–77.
- Rerolle JP, Szlag JC, Le Meur Y. Unexpected rate of severe leucopenia with the association of mycophenolate mofetil and valganciclovir in kidney transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:671–672.

## Oxfordská klasifikace – krok ke sjednocení diagnostiky a zlepšení odhadu prognózy IgA nefropatie

Cattran DC, Coppo R, Cook HT, et al., and Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society: The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Int* 2009;76:534–545.

IgA nefropatie (IgAN) představuje celosvětově nejčastější primární glomerulonefritidu (GN), a tak není divu, že se jí věnuje větší pozornost než jiným GN. I přes tento fakt stále neexistuje obecná shoda ohledně patologické a klinické klasifikace tohoto onemocnění. Z literatury jsou známa data ukazující, že proteinurie, hypertenze a snížená glomerulární filtrace jsou významnými rizikovými faktory progresu onemocnění, zatímco snížení proteinurie během léčby je důležitým faktorem zpomalujícím progresi. Řada dosud používaných patologických klasifikací IgAN byla založena pouze na názorech jednotlivců, patologické nálezy nebyly korelovány s laboratorními výsledky a značně tím byla limitována možnost odhadu prognózy onemocnění. Tato nejednotná klasifikace také znemožňovala organizaci větších studií u IgAN.

Proto se sešla skupina významných nefrologů a patoložů, aby formovala jednotnou klasifikaci zahrnující důležité patologické rysy IgAN, které jsou zároveň i nejdůležitějšími prediktory progresu onemocnění. Cílem bylo i odhalit některé specifické rysy v renálních biopsiích (RB), které by napomohly v predikci odpovědi na imunosupresivní léčbu a odhadu rychlosti progresu

se onemocnění (což by usnadnilo i zařazování nemocných do studií).

Klasifikace byla vytvořena na základě retrospektivního hodnocení vzorků od 265 dospělých a dětí s IgAN, kteří byli sledováni v průměru pět let. Asi 30 % z celkového počtu vzorků bylo od dětských pacientů. Zastoupeny byly všechny rasy. Celkem se studie zúčastnilo osm zemí ze čtyř kontinentů. Vzorky RB od všech nemocných byly nezávisle hodnoceny několika patologi, aniž by tito znali klinická a laboratorní data od nemocných.

Vstupní data na začátku sledování: medián věku 30 let, žen bylo 28 %. Střední arteriální tlak byl  $98 \pm 17$  mm Hg, 31 % nemocných užívalo antihypertenziva, přičemž 20 % z celkového počtu pacientů bylo léčeno látkami ovlivňujícími systém renin-angiotensin-aldosteron (RAAS) – inhibitory ACE či sartany. Stadia chronických onemocnění ledvin 1, 2 a 3 se vyskytovala v 36, 38 a 26 %, resp. průměrná hodnota proteinurie byla 1,7 g/den (0,5–17,5), anamnézu makroskopické hematurie mělo 34 % nemocných.

Na konci sledování (medián 5 let; 12–268 měsíců) byly některé sledované parametry následující: blokátory RAAS bylo léčeno 74 % nemocných, 50% pokles v GF se vyskytl u 22 % pacientů, přičemž průměrný pokles GF byl  $-3,5 \pm 8,4$  ml/min/rok. Konečné stadium renálního selhání vyvinulo během sledování 13 % nemocných. Proteinurie poklesla na 1,1 g/den. Imunosupresi bylo léčeno 29 % pacientů.

V renálních biopsiích bylo průměrně zastiženo 18 glomerulů (8–24). Endokapilární proliferace byla nalezena u 42 % nemocných, srpky u 45 %. Medián počtu takto postižených glomerulů u jednotlivých nemocných pak byl 12 % v případě endokapilární proliferace a 9 % v případě srpků. Nekróza kapilárního trsu byla zastižena jen u šesti pacientů, zatímco zdvojení bazální membrány glomerulů ve 30 případech. Většina nemocných neměla žádné větší změny na arteriích, což mohlo být do značné míry dáno nízkým věkem pacientů.

Vstupně se hodnotila následující kritéria: mesangiální hypercelularita, segmentální glomeruloskleróza či adheze, endokapilární hypercelularita, celulární nebo fibrocelulární srpky, tubulární atrofie/intersticiální fibróza a cévní postižení. Při posuzování, které ze sledovaných parametrů měly zásadní vliv na výslednou renální funkci (definováno jako vzestup kreatininu, přežívání bez ESRD nebo pokles GF o  $\geq 50$  oproti vstupním hodnotám), bylo prokázáno, že to jsou: mesangiální hypercelularita se skóre  $> 0,5$  (M1), přítomnost segmentální glomerulosklerózy (S1) a přítomnost tubulární atrofie/intersticiální fibrózy (přičemž HR u 26–50% fibrózy bylo 5, zatímco u  $> 50\%$  fibrózy bylo HR 8). Všechny tyto tři parametry také velmi těsně korelovaly s vývojem proteinurie u nemocných v průběhu sledování.

**Tabulka** Definice patologických lézí užívaných v klasifikaci IgA nefropatie

Typ poškození	Definice	Skóre
Mesangiální hypercelularita	$< 4$ mesangiální buňky/plochu mesangia = 0 4–5 mesangiálních buněk/plochu mesangia = 1 6–7 mesangiálních buněk/plochu mesangia = 2 $> 8$ mesangiálních buněk/plochu mesangia = 3 (Skóre se kalkuluje jako průměrné skóre ze všech glomerulů)	M0 $\leq 0,5$ M1 $> 0,5$
Segmentální glomeruloskleróza	Jákovli počet glomerulů postižených segmentální sklerotizací či přítomnost adheze	S0 – nepřítomna S1 – přítomna
Endokapilární hypercelularita	Zvýšený počet buněk v glomerulárním kapilárním lumen způsobující jeho zúžení	E0 – nepřítomna E1 – přítomna
Tubulární atrofie/ intersticiální fibróza	% kůry postižené tubulární atrofií nebo intersticiální fibrózou	T0 – 0–25 % T1 – 26–50 % T2 – $> 50$ %

Sledování vlivu podávané léčby na progresi renálních parametrů v závislosti na histologických změnách bylo uzavřeno s tím, že podávání blokátorů RAAS neovlivňovalo v žádném ohledu vývoj histologických lézí, a tudíž ani jejich vliv na pokles funkce. V případě podávání imunosupresivní léčby se ukázalo, že významně snižuje pokles glomerulární filtrace (GF) u nemocných s endokapilární hypercelularitou ( $-2,6 \pm 5,1$  ml/min/rok u léčených vs.  $-5,4 \pm 11,1$  ml/min/rok u neléčených,  $p = 0,02$ ), zatímco jiné léze (včetně extrakapilární proliferace) nebyly imunosupresí ovlivněny.

Při vyhodnocování mnohorozměrové analýzy a hledání rizikových faktorů spojených s progresí IgAN se ukázalo, že je nutné jednotlivé rizikové faktory hodnotit samostatně a určit si diskriminační hodnotu pro odhad rizika. Řada výše sledovaných parametrů byla vztažena ke klinickým datům nemocných a posouzen jejich vliv na progresi. Výsledný konsensus obsahuje výčet parametrů, které by měly být sledovány spolu s jednoduchým skórovacím systémem, který je uveden v tabulce. Kromě parametrů uvedených v tabulce by závěr RB měl ještě obsahovat celkový počet glomerulů s endokapilární hypercelularitou, endokapilární proliferací, globální a segmentální glomerulosklerózou. Pro možnost takového stanovení je nutné vyšetřit vzorek nejen světelnou mikroskopií a imunofluorescencí, ale také elektronovým mikroskopem. Tak například IgAN s mesangiózní proliferací, segmentální sklerotizací a tubulární atrofií/intersticiální fibrózou v 40 % se bude označovat jako M1 E0 S1 T1.

## KOMENTÁŘ

**Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.**

*Cílem komentované práce bylo odhalit patologické rysy v renálních biopsiích u IgAN, které by nezávisle na laboratorních výsledcích byly prediktorem prognózy renální funkce u těchto nemocných. Dosud užívané klasifikace se soustředily pouze na histologické změny, anebo naopak zohledňovaly výsledky laboratorních testů a klinických veličin (D'Amigo, 2004; Lee, 1982; Haas, 1997; Wakai, 2006).*

Vytvoření tohoto skórovacího systému předcházelo vyšetřování všech vzorků několika zkušenými patologi. Histologické změny, které byly hodnoceny patologi nekonzistentně a vykazovaly špatnou reproducibilitu mezi patologi, byly z histologické klasifikace vyřazeny (např. procento normálních glomerulů a glomerulů s adhezemi, zdvojení glomerulárních bazálních membrán, intersticiální zánět v nefibrotické části kůry). Velká diference byla mezi patologi například v posouzení, zda jde o segmentální sklerotizaci či o adhezi k Bowmanovu pouzdru. Z těchto důvodů byly tyto dvě léze spojeny do jednoho klasifikačního kritéria. Podrobným vyhodnocováním histologických nálezů z předcházející studie se zabývá následující článek v *Kidney International* (Roberts, 2009), který dopodrobna hodnotí jednotlivé sledované veličiny a srovnává je s klinicko-laboratorními nálezy. Patologové vyplňovali u každé renální biopsie speciálně připravený dotazník a hodnotili jednotlivé léze podle podrobně definovaných kritérií (celkem sledováno 25 možných lézí). Ty veličiny, které vykazovaly pozitivní korelaci se změnou renálních parametrů v průběhu sledování, se pak staly základními kritérii pro vytvoření klasifikace IgAN (viz tabulku). Do hodnocení byly zařazeny RB, které obsahovaly minimálně osm hodnotitelných glomerulů. Byla snaha posoudit i vliv velikosti RB na celkové skóre. Ukázalo se, že není rozdíl mezi vzorky s počtem glomerulů 8–12 či 13–17 (zde byl rozsah postižení jednotlivými lézemi stejný). Ve vzorcích RB s více než 18 glomeruly byl zaznamenán větší výskyt středně

těžké mesangiózní a mírně až středně těžké endokapilární hypercelularity (nálezy nejspíše souvisí s tím, že čím více glomerulů zastihneme, tím větší je pravděpodobnost jejich postižení, jelikož léze mohou mít fokální charakter).

Překvapivý z našeho pohledu může být fakt, že do výsledné klasifikace nebyly zahrnuty léze typu celulárních srpků či nekrotizace, které jsou obecně považovány za významné rizikové faktory progresu IgAN. Důvodem nezařazení nekrotizace byla skutečnost, že se vyskytovaly velmi zřídka (jen u šesti pacientů). Pokud jde o přítomnost srpků, byla celkově zaznamenána až u 45 % nemocných. U jednotlivých pacientů bylo však při biopsii nalezeno jen 9 % glomerulů postižených srpkou, což je příliš malé množství z hlediska ovlivnění celkové prognózy. Zařazení této léze do výsledné klasifikace by bylo opodstatněné tehdy, kdyby soubor obsahoval více rychle progredujících forem onemocnění a výskyt srpků při biopsii byl vyšší než 10 %.

Nesporný význam této klasifikace tkví v tom, že na jejím základě lze odhadnout celkovou prognózu onemocnění a i odpovět na léčbu, aniž by obojí bylo závislé na klinicko-laboratorních údajích. Důležitý je také fakt, že tato klasifikace (na rozdíl od předcházejících) zohlednila i věk a etnikum nemocných.

## Literatura

- D'Amigo. Natural history of idiopathic IgA nephropathy and factors predictive of disease outcome. *Semin Nephrol* 2004;24:179–196.  
Hass M. Histologic subclassification of IgA nephropathy: a clinicopathologic study of 244 cases. *Am J Kidney Dis* 1997;29:829–842.  
Lee SM, Rao VM, Franklin WA, et al. IgA nephropathy: morphologic predictors of progressive renal disease. *Hum Pathol* 1982;13:314–322.  
Roberts ISD, Cook HT, Troyanov S, et al., and Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society: The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int* 2009;76:546–556.  
Wakai K, Kawamura T, Endoh M, et al. A scoring system to predict renal outcome in IgA nephropathy: from a nationwide prospective study. *NDT* 2006;21:2800–2808.

## Vliv vrozených anomálií ledvin a močových cest na výslednou renální funkci

Sanna-Cherchi S, Ravani P, Corbani V, Parodi S, Haupt R, Piaggio G, Innocenti ML, Somenzi D, Trivelli A, Caridi G, Izzi C, Scolari F, Mattioli G, Allegri L, Ghiggeri GM. Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney Int* 2009;76:528–533.

Vrozené anomálie ledvin a močového traktu jsou významnou příčinou chronických onemocnění ledvin (chronic kidney disease, CKD) u dětí a mladistvých (Miklovicova, 2005). Redukce počtu nefronů v dětském věku může navíc predisponovat ke vzniku arteriální hypertenze a chronického selhání ledvin (CHSL) v dospělosti (Moritz, 2009). Výskyt těchto vrozených defektů lze na podkladě různých registrů odhadnout na 3–6 na 1 000 živých porodů. Zatímco výskyt vrozených defektů ledvin a močového traktu prokazatelně ovlivňuje průměrnou délku života, není jejich dopad na renální přežívání znám. To je způsobeno jednak tím, že z hlediska metodologického není snadné porovnávat vrozené anomálie s různě vyjádřeným fenotypem a/nebo penetrancí, a jednak tím, že funkční dopad vrozených anomálií na ledviny se může uplatnit v poměrně dlouhém časovém odstupu, nežádka desítek let. Jedno z používaných klasifikačních schémat vrozených vývojových vad (VVV) ledvin je založeno na tom, zda je vývojovou vadou postižena ledvina, vývodný systém ledvin či obojí. Nejistota v klinické klasifikaci VVV ledvin vedla k agregaci různých nosologických jednotek pod společnou nálepku označenou akrony-



mem CAKUT (congenital anomalies of the kidney and urinary tract) (Pope, 1999).

Cílem práce bylo vyhodnotit dlouhodobé údaje do věku 30 let u 312 dětí postižených některou VVV ledvin či močového traktu. Do studie byli zařazeni pacienti dispenzárně sledovaní na dětském nefrologickém pracovišti Gaslini Children Hospital v letech 1980 až 2000, u nichž byla diagnostikována VVV spadající do kategorie CAKUT, s defektem v parenchymu ledviny zjištěným na podkladě renálního ultrazvuku či izotopového vyšetření (dimerkapto-sukcinát, DMSA). Defekty v počtu či velikosti nejméně jedné ledviny, s vyloučením familiárních případů a izolovaných anomálií močovodu typu vezikoureterálního refluxu (VUR) či zdvojeného vývodného systému byly zařazeny do následujících kategorií:

- a) solitární ledvina s přidruženými anomáliemi močového traktu či bez nich;
- b) unilaterální renální hypodysplazie s přidruženými anomáliemi močového traktu či bez nich;
- c) bilaterální renální hypodysplazie s poruchami močového traktu či bez nich;
- d) renální hypodysplazie spojená se stenózou močové trubice;
- e) podkovovitá ledvina.

U každého pacienta byly získány demografické údaje, údaje o typu VVV, údaje o době stanovení diagnózy a údaje o vzniku chronického selhání ledvin. Dále byly získány údaje o vývoji funkce ledvin (hodnoceno clearance kreatininu), přítomnosti arteriální hypertenze, proteinurie a o poskytnuté léčbě počínaje prvním rokem věku dítěte.

U většiny kategorií CAKUT byli častěji postiženi muži než ženy (v poměru 3 : 1). Diagnóza byla stanovena v neonatálním období v 56 % při značném rozptylu mezi jednotlivými kategoriemi. Některé unilaterální defekty byly diagnostikovány poměrně pozdě, např. průměrný věk stanovení diagnózy u solitární ledviny byl 15 let. Operační zákroky byly provedeny u všech jedinců se zadními uretrálními chlopněmi a u 53 % dětí se solitární ledvinou a VUR. Do věku 30 let zahájilo pravidelnou dialyzační léčbu 58 osob. Sledované období představovalo 2 474 patientských let v riziku, s každoroční incidencí 0,023 (95% interval spolehlivosti, při rozmezí 0,018–0,030). U kategorií CAKUT A, C a D (tj. solitární ledviny, bilaterální hypodysplazie a renální hypodysplazie se stenózou uretry) bylo neadjustované riziko dialyzační léčby významně vyšší než u ostatních kategorií CAKUT. Riziko dialyzační léčby se významně zvyšovalo v závislosti na dvou laboratorních veličinách, tj. na hodnotách sérového kreatininu a výši proteinurie. Dalším faktorem, který významně ovlivnil renální prognózu, byla přítomnost/absence VUR. Po úpravě Coxova modelu renálního přežívání na přítomnost VUR, na hodnoty sérového kreatininu, proteinurie a na referenční periodu (před rokem 1990 a po roce 1990) se prognóza jednotlivých kategorií CAKUT změnila. Pravděpodobnost vzniku dialyzační léčby byla nižší u kategorií F (0 případů), E (2 případy) a B (4 případy) ve srovnání s kategoriemi C (5 případů), A (21 případů) a D (26 případů).

Spolehlivé údaje o dlouhodobé prognóze většiny vrozených anomálií ledvin týkajících se počtu či velikosti ledvin chybějí. Do komentované studie byl zahrnut poměrně rozsáhlý homogení soubor pacientů, dlouhodobě sledovaný a léčený standardizovaným způsobem na stejném pracovišti. Výsledky studie dle očekávání potvrdily, že přítomnost VUR, proteinurie a zvýšené hodnoty sérového kreatininu představují nezávislé rizikové faktory pro prognózu všech kategorií CAKUT. Výsledky studie také

potvrdily známou skutečnost, že u pacientů se zadními chlopněmi v uretře je riziko dialyzační léčby vysoké. Naopak poněkud překvapivým nálezem bylo zjištění, že solitární ledvina představuje kategorii CAKUT spojenou se závažnější prognózou (proti jiným anomáliím ledvin). Uvedené výsledky je nepochybně třeba ověřit v rámci dalších studií a je třeba věnovat pozornost faktorům, kterými by bylo možno vysvětlit postupné zhoršování funkce solitární ledviny.

## ■ KOMENTÁŘ

**Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.**

*Hlavním přínosem komentované studie je skutečnost, že práce shrnuje výsledky analýzy dlouhodobého klinického průběhu a prognózy vybraných anomálií ledvin a močového traktu u reprezentativního souboru jedinců s VVV. To je důležité zvláště ve světle skutečnosti, že stále vyšší počet mladých jedinců s VVV ledvin a močového traktu přežívá do dospělosti. U řady z nich se mohou VVV projevit klinicky a funkčně až se značným odstupem od narození a chronické selhání ledvin může vzniknout až v dospělém věku. Značná pozornost je v posledních letech věnována vztahu mezi sníženým počtem nefronů u některých jedinců (zvláště u předčasně narozených dětí a dětí s nízkou porodní vahou) a zvýšeným rizikem progresu CKD (Chevalier, 2009). Na rozdíl od dospělé populace je většina případů chronického selhání ledvin v dětském věku způsobena vrozenými anomáliemi ledvin a močového traktu. V převážné většině případů jde o sporadické a izolované vývojové anomálie, pouze u menší části lze prokázat postižení dalších orgánů či dědičnou složku. Projevy CAKUT bývají v současné době diagnostikovány velmi často ultrazvukem již ve fetálním období.*

*S. Sanna-Cherchi a spol. realizovali studii, ve které 58 z 312 (19 %) jedinců dospělo do stadia chronického selhání ledvin s nutností pravidelné dialyzační léčby. Některé kategorie CAKUT byly vznikem CHSL ve vyšší míře ohroženy. Poněkud proti očekávání dospělo do stadia CHSL až 21 ze 71 (29,6 %) jedinců se solitární ledvinou při unilaterální agenezi. Průměrná doba stanovení diagnózy u této kategorie CAKUT byla 15 let a průměrná sérová koncentrace kreatininu byla 59,8  $\mu\text{mol/l}$ , obojí ovšem s velkým rozptylem hodnot. Při hodnocení prognózy pacientů se solitární ledvinou se setkáváme s určitými rozpory. U pacientů s agenezí jedné ledviny léčených na Mayo Clinic v období 1960–1975 byl prokázán vývoj arteriální hypertenze u 47 %, proteinurie u 19 % a pokles glomerulární filtrace u 13 % pacientů (Argueso, 1992). Naopak, z hodnocení dalšího osudu 3 698 jedinců, kteří podstoupili nefrektomii pro dárčovství ledviny v USA v letech 2003–2007, vyplynulo, že pravděpodobnost vzniku CHSL není u dárců ledviny proti běžné populaci zvýšena (Ibrahim, 2009). Jakkoli lze spekulovat o příčinách a mechanismech, které se na těchto rozdílech uplatňují, je vysoce pravděpodobné, že prognóza skupiny pacientů s vrozenou agenezí jedné ledviny je odlišná a méně příznivá než prognóza dospělých pacientů se solitární ledvinou po nefrektomii jedné ledviny. Tento závěr by jistě měl být určitou pobídkou k tomu, aby jedincům s unilaterální agenezí ledviny byla trvale věnována zvýšená odborná péče s cílem snížit nebezpečí vzniku chronického selhání ledvin na minimum.*

*Výsledky a závěry studie je třeba hodnotit s vědomím, že některé kategorie VVV nebylo možno z důvodů metodologických zcela přesně vymezit. Spolehlivě odlišit hypoplazii od dysplazie ledvin by bylo možné pouze prostřednictvím histologického vyšetření. Provedení renální biopsie v malých ledvinách bylo spoje-*

no se zvýšeným rizikem krvácení, a renální biopsie proto nebyla indikována. Pacienti s renální hypoplazií a dysplazií tak byli hodnoceni ve stejné kategorii (kategorie hypodysplazie), ačkoli prognóza obou nosologických jednotek se může významně lišit.

#### Literatura

- Argueso LR, Ritchey ML, Boyle ET Jr, et al. Prognosis of patients with unilateral renal agenesis. *Pediatr Nephrol* 1992;6:412–416.
- Chevalier RL. When is one kidney not enough? *Kidney Int* 2009;76:475–477.
- Ibrahim HN, Foley R, Tan L, et al. Long-term consequences of kidney donation. *N Engl J Med* 2009;360:459–469.
- Miklovicova D, Cornelissen M, Cransberg K, et al. Etiology and epidemiology of end-stage renal disease in Dutch children 1987–2001. *Pediatr Nephrol* 2005;20:1136–1142.
- Moritz KM, Singh RR, Probyn ME, Denton KM. Developmental programming of a reduced nephron endowment: more than just a baby's birth weight. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F1–F9.
- Pope JC 4th, Brock JW 3rd, Adams MC, et al. How they begin and how they end: classic and new theories for the development and deterioration of congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10:2018–2028.

## Fosfokalciový metabolismus v prvních měsících po transplantaci ledviny

Evenepoel P, van den Bergh B, Naesens M, de Jonge H, Mammens B, Claes K, Kuypers D, Vanrenterghem Y. Calcium metabolism in the early posttransplantation period. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:665–672.

Úspěšná transplantace ledviny znamená zásadní a pozitivní změnu. Vnitřní prostředí se upraví, resp. podstatně více přiblíží fyziologickému stavu a léčba předchozího selhání ledvin některou z eliminačních metod může být skokově ukončena. Skutečnost, že určité doprovodné projevy selhání ledvin nejsou transplantací vyřešeny v krátké době a trvají (byť se mohou zmírnit, avšak takovéto zlepšení zdaleka není jisté), zůstává přinejmenším v časném potransplantačním období v pozadí zájmu kliniků.

Tématem práce je vývoj fosfokalciového metabolismu v prvních třech měsících po transplantaci ledviny. Studie je koncipována jako prospektivní a observační (neintervenci) a byla provedena u 201 pacientů transplantovaných v letech 2004–2006 v jednom centru. Délka sledování byla 13 týdnů.

Předchozí dialyzační léčba trvala v průměru téměř tři roky (33,6 měsíců), přibližně 80 % pacientů bylo léčeno hemodialýzou, 20 % peritoneální dialýzou, preemptivní transplantace byla výjimkou. Průměrný věk příjemců byl 54,5 let (zastoupení mužů 62 %). Diabetici představovali necelých 8 %.

Bezprostředně před transplantací byly stanoveny sérové koncentrace kalcia, fosforu, PTH (metodika 3. generace, „whole“ PTH, kompletní molekula 1-84PTH; referenční rozmezí 3–40 pg/ml) a koncentrace kalcitriolu a kalcidiolu. Po třech měsících byly k těmto parametrům navíc přidány i odpady kalcia a fosforu do moči (včetně výpočtů exkrečních frakcí).

Koncentrace kalcia a fosforu v krvi byly monitorovány v rámci ambulantních pravidelných kontrol nejméně jedenkrát týdně a byly analyzovány jejich trendy. Vybraná data byla porovnána s údaji osob transplantovaných v letech 2001–2002, tj. v období, kdy strategie léčby hyperparathyreózy a fosfokalciového metabolismu byla odlišná (historická kontrolní skupina).

Sedmdesát procent pacientů přicházejících k transplantaci bylo léčeno kalciovými vazači fosfátů. Část z nich pravděpodobně měla léčbu kombinovanou, neboť nekalciové vazače užívalo 40 % osob. Aktivní metabolity vitamínu D byly indikovány v 34 %. Terapie

metabolity či analogy vitamínu D, stejně jako vazači fosfátů, byla v okamžiku transplantace přerušena. Pacienti, kteří byli kdykoli v předtransplantačním období léčeni kalcimimetiky, nebyli do studie cíleně zařazeni.

Vstupní koncentrace PTH byla v průměru 104 pg/ml. U 35 % osob byla vyšší než horní mez doporučeného rozmezí (tj. v případě wPTH > 160 pg/ml). Po třech měsících byl zaznamenán významný pokles PTH – průměrná koncentrace PTH byla 36 pg/ml. Přesto měla velká část (více než 40 % pacientů) koncentraci wPTH po třech měsících vyšší než 160 pg/ml. Snížil se však podíl hyperparathyreózy v souboru, tj. celkovým trendem byla normalizace PTH (34 % pacientů se ocitlo v pásmu doporučeného rozmezí, oproti původním 25 %).

Koncentrace kalcia v krvi stoupla (po přechodném významném poklesu bezprostředně po transplantaci, viz dále) a průměrná koncentrace fosforu velmi významně klesla (z 1,55 mmol/l na 0,87 mmol/l,  $p < 0,0001$ ).

Zajímavý byl vývoj koncentrace vitamínu D. Byly stanoveny oba metabolity, kalcidiol (25D) i kalcitriol (1,25D). Zatímco zásobní forma vitamínu D, tj. hodnota 25D, se snížila z průměrných 30 ng/ml na průměrných 22 ng/ml (koncentrace 30 ng/ml se konsensuálně považuje za dolní doporučenou mez), průměrná koncentrace kalcitriolu se zvýšila z 20 na 35 ng/l a výchozí zastoupení pacientů s deficitem této aktivní formy vitamínu D kleslo ze 44 % na méně než 10 %.

Vzestup koncentrace kalcitriolu podle výsledků mnohorozměrné analýzy souvisel s lepší funkcí ledvin, s vyšší vstupní koncentrací kalcidiolu a s vyšší koncentrací PTH. Všechny tyto tři determinanty jsou v souladu s teoretickým očekáváním: parathormon v ledvinách zvyšuje konverzi 25D na 1,25D, ke stejnému výsledku přispívá i dobrá funkce ledvin (funkční renální parenchym konvertuje 25D na 1,25D), a stejně tak i vyšší nabídka prekursoru, tj. 25D.

Bezprostředně po transplantačním výkonu byl nápadný pokles kalcémie (o 0,4 mmol/l, což představuje 16 %, a to již v prvním pooperačním dni). Pokles byl markantní i po korekci na sérový albumin (snížení korigované kalcémie o 9 % první pooperační den). Tento pokles byl více vyjádřen u pacientů s nízkou vstupní koncentrací PTH. Ve více než 40 % byl zaznamenán pokles naměřené koncentrace kalcia pod 2,1 mmol/l, nález však byl většinou přechodný. Časový průběh změřené koncentrace kalcia a korigované kalcémie se navzájem významně lišil – zatímco laboratorně stanovená kalcémie byla snížena po delší dobu, korigovaná kalcémie se brzy vrátila do referenčního pásma (a to bez specifické terapie). Celkově koncentrace kalcia v séru vykazovala paralelní změny jako koncentrace albuminu (prudký pokles s následnou postupnou, avšak setrvalou úpravou). Maximální laboratorně změřená průměrná kalcémie byla v devátém týdnu (2,52 mmol/l), zatímco kalcémie korigovaná na sérový albumin dosáhla maxima průměrně již v pátém týdnu a toto maximum bylo nižší (2,45 mmol/l).

U nezanedbatelné části pacientů se vyskytla i hyperkalcémie ( $\text{Ca} > 2,57 \text{ mmol/l}$ ). V jednotlivých týdnech kolísal výskyt v rozmezí 0–18 %, při korekci na albumin v rozmezí 3–9 %. Celkem byla hyperkalcémie zaznamenána u 27 % pacientů (záznamy z kteréhokoli období). Pacienti, kteří měli vyšší kalcémii, byli charakterizováni nižší fosfatémií, vyšší koncentrací PTH a vyšší kalcirií (absolutní hodnota i exkreční frakce), což ukazuje spojitost hyperkalcémie s hyperparathyreózou (v dané studii nebyla tato hyperparathyreóza v časném pooperačním období nijak léčena).

Výskyt hyperkalcémie byl i přes výše uvedené okolnosti méně častý než v historické skupině (27 % oproti 41 %;  $p = 0,0001$ ), stejně tak byly v historické skupině vyšší i průměrné koncentrace kalcia.

## ■ KOMENTÁŘ

**Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.**

*Z dat studie a jejich analýzy lze získat cennou představu o vývoji fosfokalciového metabolismu v časném potransplantačním období a podle toho zvážit, zda a jak terapeuticky intervenovat, ať již v časném, tak i v pozdějším (dlouhodobém) průběhu. Je však třeba vědět, že studie byla provedena u souboru o určitých charakteristikách, které je nutno při interpretaci dat vzít v úvahu. K nim patří poměrně dlouhá předchozí délka dialyzačního léčení; přerušení a neobnovení léčby vazači fosfátů i metabolity či analogy vitamínu D; nikdo z pacientů souboru neužíval před transplantací kalcimimetika; jen nevelké zastoupení diabetiků; zařazení jen pacientů s včasným nástupem funkce štěpu; a v neposlední řadě i poměrně rovnoměrné zastoupení hypoparathyreózy i hyperparathyreózy v souboru.*

Základní zjištěné trendy lze charakterizovat a komentovat následovně:

1. Po úspěšné transplantaci se významně sníží fosfatémie. Tímto aspektem se práce zabývá jen okrajově, podle uvedených dat však těžká hypofosfatémie nepředstavovala závažný problém (na rozdíl od některých jiných studií) (Bhan, 2006). Nebyl však sledován fosfatonin FGF-23 a bližší závěry v tomto ohledu práce nepřináší.
2. V časném potransplantačním období velmi významně klesá kalcémie, a to již v prvním pooperačním dnu. Avšak pozor, je třeba zohlednit i vývoj – obvykle pokles – sérových koncentrací albuminu. Každé snížení albuminu o 10 g/l (oproti koncentraci 40 g/l) znamená, že k naměřené koncentraci kalcia v séru je třeba připočítat 0,2 mmol/l. Tím získáme hodnotu označovanou jako korigované kalcium. Při sledování dynamiky kalcémie v situacích s měnlivou koncentrací albuminu je tato korekce zásadní.
3. Koncentrace kalcia v krvi se po prvním týdnu postupně upravuje (aniž by byla ovlivněna farmakoterapií); tento vývoj je příznivý, avšak nelze ho zcela zevšeobecnit, protože jiné studie varují před častou hyperkalcémií (v přehledu shrnujícím zkušenosti z roku 2008 uvádí Sprague vzestup kalcémie a obavu z hyperkalcémie prakticky ve všech studiích – dva roky po transplantaci se hyperkalcémie vyskytla u 1,4–47 % transplantovaných osob) (Sprague, 2008).
4. Koncentrace nativního vitamínu D u pacientů přicházejících k transplantaci byla akceptovatelná, avšak po třech měsících velmi významně klesla. Aktivní vitamin D se naopak zvyšuje neboli transplantovaná ledvina již záhy po úspěšné transplantaci konvertuje kalcidiol na kalcitriol. Tento očekávaný vývoj je modifikován dalšími okolnostmi, též očekávanými (stavem zásob prekursoru, mírou úpravy funkce ledvin a tíží hyperparathyreózy). Pro praxi tyto modifikace vývoje znamenají potřebu individualizovaného přístupu.
5. I přes vzestup koncentrace kalcitriolu měla stále velká část pacientů kalcitriol v pásmu deficitu, tj. není ho tvořeno dostatečné množství. Protože funkce ledvin je dostatečná a hodnota prekursoru klesla, je ke zvážení, zda cestou k úpravě je suplementace nativního vitamínu D. Navíc, nízké koncentrace 25D jsou podle literatury spojeny s rizikem pokračování hyperparathyreózy po transplantaci (Boudville, 2006).
6. Hyperkalcémie byla méně častá a méně markantní než v historické kontrolní skupině. To může souviset s příznivější úpravou

funkce příštích tělísek již před transplantací (protože hyperkalcémie jako taková souvisela s koncentrací PTH). Mechanismem této hyperkalcémie spojené s vyšší koncentrací PTH je podle autorů prezentované publikace i podle teoretického očekávání resorpce minerálů z kosti, nikoli vyšší vstřebávání kalcia v trávicím traktu či nižší zpětná resorpce v ledvinách. Po úspěšné transplantaci tak hyperparathyreóza významně přispívá k úbytku kostního minerálu (na rozdíl od období před transplantací, kde je ochranná „rezistence skeletu na PTH“).

7. Zastoupení pokročilých forem hyperparathyreózy bylo pravděpodobně ve sledovaném souboru malé. Tento interpretační odhad vychází z toho, že nebyli zařazení pacienti léčení kalcimimetiky, že výskyt hyperkalcémie byl malý a že koncentrace PTH v séru se významně snížila již záhy po transplantaci (v průměru dokonce o více než dvě třetiny).
8. Jedna třetina pacientů přichází k transplantaci s vyšší koncentrací PTH (tomu odpovídají i vlastní zkušenosti), a to i přes to, že jsou pro hyperparathyreózu léčeni. V časném potransplantačním období se koncentrace PTH upraví (a to dokonce bez léčby, viz výše uvedená charakteristika souboru). To znamená, že takovouto restituční kapacitu má samotná úprava funkce ledvin úspěšnou transplantací. U některých pacientů však vyšší koncentrace PTH přetrvávají a jsou spojeny s hyperkalcémií, tyto případy nelze považovat za okrajové (Evenepoel, 2007). Tito pacienti možná časem dospějí k nutnosti parathyreoidektomie. Nelze vyloučit, že včasná a titrovaná léčba (kalcimimetiky?) by měla být aplikována již časně po transplantaci, tímto aspektem se však práce nezabývá.

Lze shrnout, že studie ukazuje přirozený a spontánní vývoj fosfokalciového metabolismu po transplantaci ledviny. Zdá se, že tento vývoj byl příznivý, je však třeba mít na paměti nejen konkrétní studovanou situaci (úspěšně transplantovaní pacienti s charakteristikami uvedenými výše), ale zejména krátkou dobu trvání (tři měsíce), ve které nebyly všechny trendy laboratorních změn ukončeny.

## Literatura

- Bhan I, Shah A, Holme J, et al. Post-transplant hypophosphatemia: tertiary „hyper-phosphatonism“? *Kidney Int* 2006;70:1486–1494.
- Boudville NC, Hodsman AB. Renal function and 25-hydroxyvitamin D concentration predict parathyroid hormone levels in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2621–2624.
- Sprague SM, Belzeroff V, Danese M, et al. Abnormal bone and mineral metabolism in kidney transplant patients – a review. *Am J Nephrol* 2008;28:246–253.

## Snížení hmotnosti u osob s chronickým onemocněním ledvin

Navaneethan SD, Yehner H, Moustarah F, Schreiber MJ, Schauer PR, Beddhu S. Weight loss interventions in chronic kidney disease: a systemic review and meta-analysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; doi 10.2215/CJN.00250409.

V předchozím čísle *Postgraduální nefrologie* byl komentován příspěvek, ukazující, že obezita je rizikovým faktorem pro vznik i progresi chronického onemocnění ledvin, resp. že renální hemodynamika představuje zvýšené riziko při nadváze (Krikken, 2009). Nabízí se tedy otázka, zda redukce hmotnosti u obezných osob může být prospěšná i z hlediska zmírnění chronických nefropatií. Toto téma analyzuje zcela recentní metaanalýza, publikovaná zatím pouze v elektronické verzi, shrnující dosavadní odpovědi na otázku, zda řešením obezity zlepšíme souběžné postižení ledvin.



Původní vyhledávané literární zdroje, ze kterých byla metaanalýza sestavena, byly velmi široké (databáze Medline i databáze Scopus, dále i abstrakta z klíčových evropských a amerických kongresů, celkem více než 700 prací). Zaměření bylo výhradně na klinická data (nikoli tedy na experimentální studie u zvířat), a to u pacientů s již prokázaným onemocněním ledvin, avšak nikoli se selháním ledvin. Další podmínkou bylo sledování po intervenci, ať již konzervativní (dieta, cvičení, léky), chirurgické (bariatrická chirurgie) či kombinované. Intervence na bázi nízkobílkovinné diety nebyly do metaanalýzy zahrnuty. Přestože původní počet prací byl vysoký, zadání pro konečné zpracování vyhovělo jen 13 prací, z nich šest sledovalo vliv nechirurgické intervence (ostatních sedm sledovalo intervence chirurgické, například žaludeční bypass či jiné).

Sledovanými parametry byly postintervenční změny v glomerulární filtraci (či clearance kreatininu) a/nebo v proteinurii. Jako doplňující ukazatele byly sledovány změny tělesné hmotnosti (resp. BMI), krevního tlaku a dynamika hodnot glykovaného hemoglobinu (resp. hodnot glykemií) a lipidového profilu. Studie, které posuzovaly funkci ledvin, např. eGFR, tj. odhad z výpočtu sérové koncentrace kreatininu (k takovým „estimated“ GFR patří výpočet podle vzorce Cockcrofta-Gaulta a MDRD), nebyly zvažovány, neboť je známo, že u obézních pacientů je stanovení eGFR nepřesné.

K silným stránkám patří nezávislé zpracování podkladů dvěma nezávislými autory a standardizované sledování kvality zařazených studií podle tzv. Newcastle-Ottawa Scale, která boduje například kvalitu a spolehlivost výběru sledovaných subjektů v observační studii, profesionalitu při zahrnutí přidružených okolností do statistických zpracování apod. (podrobněji viz veřejný web [www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.htm](http://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.htm)).

Při nechirurgických intervencích poklesl BMI v průměru o 3,67. Nechirurgické intervence nebyly spojeny se změnou funkce ledvin. Pokud byla souběžně sledována kontrolní skupina, byl zaznamenán pozvolnější pokles úbytku glomerulární filtrace v čase v intervenované skupině ve srovnání s kontrolami, tj. redukce hmotnosti měla nefroprotektivní účinek. Konstantním zjištěním byl pokles proteinurie při redukci hmotnosti, u části pacientů vymizela mikroalbuminurie. Průměrná proteinurie před redukcí hmotnosti se pohybovala v jednotlivých studiích v rozmezí 1,28–3,27 g/den, po redukci hmotnosti v rozmezí 0,4–1,9 g/den).

Při chirurgické intervenci se upravila hyperfiltrace, tj. původně zvýšená glomerulární filtrace se normalizovala (vstupní hodnoty se pohybovaly v rozmezí 140–153 ml/min, po intervenci v rozmezí 110–123 ml/min, neboli v normě). Tento nálezn byl konstantní bez ohledu na detaily výsledků jednotlivých studií. Snížila se i velikost proteinurie (pokles poměru bílkovina/kreatinin v moči na jednu čtvrtinu výchozí hodnoty). Chirurgické intervence ukázaly přesvědčivé výsledky, a to i v delším trvání (délka sledování 1–2 roky).

## KOMENTÁŘ

**Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.**

*Redukce tělesné hmotnosti má podle všeho nefroprotektivní účinek, byť data jsou jen neúplná. Je překvapivé, jak málo spolehlivých informací z této oblasti je k dispozici. Z více než 700 zvažovaných prací jich nakonec autoři mohli použít jen třináct, což se jeví až neuvěřitelně vzhledem k tomu, že obezita je častá a její výskyt dokonce stoupá a zdravotníci i veřejní činitelé proti obezitě velmi aktivně vystupují.*

*Spojení obezity a nefrologického postižení, resp. poškození je prokázané. Podle současných znalostí není zcela dobře možné rozlišit, zda je zprostředkované nepřímě (důsledek hypertenze a inzulinové rezistence při obezitě a metabolickém syndromu), či zda je oprávněný názor některých autorů, že s obezitou je spojena určitá forma glomerulopatie („obezity-related glomerulopathy“) (Zoccali, 2009; Wahba, 2007; Kabham, 2001).*

*Ať je příčina primární či odvozená, je vysoce pravděpodobné, že pokles hmotnosti má nefroprotektivní rysy. Nechirurgická intervence snižuje proteinurii a pravděpodobně i zpomalí progresi poklesu glomerulární filtrace. Chirurgická intervence upraví hyperfiltraci.*

*Je nepochybné, že pro rozpoznání vztahu mezi intervenčním zákrokem u obezity a jeho vztahy k ledvinovému poškození a ledvinovým funkcím je potřeba nejen další klinický výzkum. Již na podkladě současných poznatků je však jisté, že osvěta veřejnosti o blahodárné účinky redukce hmotnosti by měla být doplněna i o informaci o ochraně ledvin.*

## Literatura

Kabham N, Markowitz GS, Valeri AM, et al. Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. *Kidney Int* 2001;59:1498–1509.

Krikken JA, Bakker JL, Navis GJ. Role of renal hemodynamics in the renal risk of overweight. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1708–1718.

Wahba IM, Mak RH. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: mechanistic links to chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:550–562.

Zoccali C. The obesity epidemics in ESRD: from wasting to what? *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:376–380.

## Úspěšná léčba potransplantačních lymfoproliferací

Trappe R, Hinrichs C, Appel U, Babel N, Reinke P, Neumayer HH, Budde K, Dreyling M, Dührsen U, Kliem V, Schüttrumpf S, Hauser IA, Mergenthaler HG, Schlattmann P, Anagnostopoulos I, Doerken B, Riess H. Treatment of PTLD with rituximab and CHOP reduces the risk of renal graft impairment after reduction of immunosuppression. *Am J Transplant* 2009;9:2331–2337.

Potransplantační lymfoproliferace (PTLD) představují celé spektrum onemocnění vyplývajících z imunosuprese po orgánových transplantacích a jsou nejčastějšími malignitami u těchto nemocných. Často jsou PTLD přítomny mimo uzliny a ne zřídka dochází i k poškození transplantovaného orgánu. Úvodní terapeutické opatření spočívá především v redukci podávané imunosuprese, což může vést k navození úplné remise onemocnění, avšak toho se dosáhne jen zřídka. Naopak, snížení imunosuprese může být spojeno s rizikem rejekcí a ztráty štěpů. Recentně publikovaná práce ukazuje na 37% výskyt rejekcí v případě takového snížení imunosuprese. Jako další léčba, která připadá v úvahu po snížení imunosuprese, je podání anti-CD20 monoklonální protilátky (rituximab) u PTLD s přítomnými CD20 pozitivními B lymfocyty, kombinace CHOP a nakonec i kombinace CHOP a rituximabu. Úspěšnost léčby rituximabem je kolem 40–60 % a úspěšnost sekvenční léčby čtyř dávek rituximabu následované čtyřmi cykly CHOP je do 90 %. Dosud neexistují práce, které by systematicky sledovaly funkci transplantované ledviny po redukci imunosuprese a při výše uvedené specifické terapii. Každopádně je z klinické praxe možné předpokládat, že samotné snížení imunosuprese bez chemoterapie bude představovat pro nemocné riziko rejekcí.

Tato retrospektivní studie měla za cíl u 58 nemocných, kteří byli léčeni rituximabem anebo chemoterapií CHOP, prokázat její bezpečnost pro štěp po úvodním snížení imunosuprese. Diagnóza PTLD byla vždy provedena histologicky a byla ověřena v centrální laboratoři jedním zkušeným patologem, kromě další rutin-

ní laboratoře včetně stanovení LDH nemocní podstoupili trepanobiopsii kostní dřeně a CT krku, hrudníku, břicha a pánve. Devět nemocných bylo léčeno pouze čtyřmi dávkami rituximabu, 38 nemocných bylo léčeno kombinací čtyř dávek rituximabu, po nichž následovaly čtyři cykly chemoterapie CHOP (cyklofosfamid, hydroxydaunorubicin, oncovin a steroidy). Dalších jedenáct nemocných bylo léčeno dalšími protokoly podle typu PTLT (kromě CHOP také kombinací ABVD anebo VAD). Kompletní remise v kohortě nemocných léčených kombinací rituximabu a CHOP byla 69 %. Mortalita spojená s touto léčbou byla 12 % (příčinou úmrtí byla seps). Dalších 13 % nemocných zemřelo pro terapeuticky neovlivnitelnou PTLT a další 3 % nemocných z jiných příčin.

V době diagnózy bylo 30 nemocných léčeno trojkombinací imunosupresiv většinou založenou na inhibitech kalcineurinu (CNI), ostatní byli léčeni dvojkombinací CNI a steroidů. Po diagnóze PTLT byla imunosuprese snížena u 57 z 58 nemocných. Podávání CNI bylo zastaveno u 14 nemocných, u dalších pěti nemocných byly dávky CNI významně sníženy (o 75 %), u dalších osmi nemocných byly dávky CNI sníženy o 50 %. Pokud byli nemocní léčeni inhibitory mTOR (sirolimem nebo everolimem), byly jejich dávky zvýšeny. Poté co selhalo samotné snížení imunosuprese, byli nemocní léčeni výše uvedenými schématy.

U tří z 46 nemocných, kteří přežili jeden rok od diagnózy PTLT, došlo ke zhroucení funkce transplantované ledviny a ti byli léčeni dialyzačními metodami. Jeden z nich obdržel rituximab a vyvinul se u něj hemolyticko-uremický syndrom. U dvou dalších nemocných byla úroveň funkce transplantované ledviny již před chemoterapií špatná (GFR 10, resp. 15 ml/min) a ti vyžadovali dialýzu brzy po začátku chemoterapie. Na druhou stranu u většiny nemocných došlo ke zlepšení funkce transplantované ledviny po léčbě v porovnání s výchozími hodnotami. Detailní analýza ale prokázala, že se funkce štěpů zlepšila jen u těch nemocných, kteří byli léčeni chemoterapií CHOP. Dále autoři porovnali vývoj funkce štěpu u kohorty nemocných s PTLT s kontrolním souborem nemocných (bez cytostatické léčby), protože je známo, že funkce transplantované ledviny ubývá s časem. U nemocných, kteří přežili rok od léčby PTLT, došlo překvapivě ke zlepšení funkce štěpu v porovnání s kontrolní skupinou.

Tato studie byla první, která detailně analyzovala vztah redukce imunosuprese a následné léčby PTLT na funkci transplantované ledviny. Její závěr byl, že snížení imunosuprese následované buď samotnou léčbou rituximabem, anebo i chemoterapií CHOP je pro štěp bezpečné, protože obě terapie představují imunosupresi. Nejlepších výsledků pak bylo dosaženo kombinací terapií.

## ■ KOMENTÁŘ

**Prof. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.**

*S délkou imunosupresivní léčby se riziko vzniku nádorů po transplantaci ledviny zvyšuje. Zdaleka nejvyšší je výskyt karcinomů kůže, lymfoproliferativních onemocnění a ledvin. Incidence karcinomu střeva, plic, prostaty, žaludku, ezofagu, pankreatu, ovaria a prsu je zhruba dvojnásobná proti běžné populaci v USA. Incidence karcinomu ledviny u nemocných po transplantacích je více než osminásobná v Austrálii, a dokonce více než patnáctinásobná v USA. Údaje z Evropy nejsou přesné vzhledem k absenci fungujících registrů. Mimo imunosupresivní medikaci představují známá rizika pro vznik nádorů po transplantaci vyšší věk, bělošská populace, mužské pohlaví, anamnéza tumoru a délka dialy-*

*zační léčby. Je zajímavé, že u nemocných s polycystózou ledvin anebo s cholestázou jater je až dvojnásobně vyšší výskyt karcinomů kůže. Naopak, diabetici po transplantaci orgánů mají nižší výskyt tumorů (Kauffman, 2006).*

*Bylo prokázáno, že udržovací imunosuprese s cyklosporinem je v porovnání s tacrolimem spojena s vyšší incidencí kožních karcinomů i solidních tumorů u nemocných po transplantaci ledviny. Data z registrů ale ukazují na oba kalcineurinové inhibitory, cyklosporin A i tacrolimus, jako na rizikové pro vznik potransplantačních tumorů. Podobně riziková je dlouhodobá léčba s azathioprinem v porovnání s mykofenolát mofetilem (Robson, 2005; Kauffman et al., 2006). Léčba inhibitory mTOR (sirolimem, everolimem) je spojena se zřetelně nižším výskytem potransplantačních malignit. Nejvyšší riziko pro vznik maligních onemocnění ovšem představují depleční antilymfocytární biologické preparáty (ATG, OKT3) používané jako indukční imunosuprese anebo jako antirejekční imunosuprese.*

*Nejčastější mimokožní malignity představují právě potransplantační lymfoproliferace. Je to skupina onemocnění, pro něž je typická proliferace B lymfocytů: od benigních lymfocytóz a mononukleózy až po non-hodgkinské lymfomy. U většiny z těchto proliferací je přítomna pozitivní replikace viru Epstein-Barr (EBV). EBV-séronegativní nemocní, kteří v době transplantace dostanou orgán od EBV-séropozitivního dárce a vyžadují indukční léčbu deplečními preparáty, jsou ve vysokém riziku vzniku potransplantačních lymfoproliferací. Proto jsou redukce imunosuprese a antivirová léčba jednou ze základních opatření v případě potransplantačních lymfoproliferací u dětí, u nichž jsou tato onemocnění častá a dobře reagují na léčbu (Mentzer, 2001). U dospělých se vedle snížení dávek imunosuprese jako chemoterapie používá kombinace CHOP (cyklofosfamid, hydroxydaunorubicin, vincristin, prednison). V poslední době se s velkým úspěchem k této léčbě přidává monoklonální protilátka anti-CD20 (rituximab), konečně jak je uvedeno v tomto komentovaném článku. Většina center nyní po úspěšné zvládnuté léčbě PTLT mění imunosupresi na sirolimus anebo everolimus. Tyto preparáty jsou svými antiproliferantními a také protinádorovými účinky vhodnou alternativou k inhibitorům kalcineurinu – cyklosporinu A a tacrolimu (Campistol, 2006).*

*Nejzajímavějším pozorováním v komentované studii bylo zlepšení funkce transplantované ledviny po úspěšné léčbě potransplantační lymfoproliferace. I když autoři vysvětlovali tento fenomén silnými imunosupresivními účinky chemoterapie, domnívám se, že hlavní vysvětlení spočívá v eliminaci nebo v podstatné redukci inhibitorů kalcineurinu. Ty jsou nefrotoxické a jejich eliminace vede ke zlepšení renální funkce. Využívá toho i celá řada klinických studií, jmenujme například studii 310 nebo CONVERT. Tyto studie prokázaly, že vyřazení cyklosporinu A z léčby anebo jeho nahrazení sirolimem je spojeno se zlepšením funkce transplantované ledviny (Kreis, 2004; Schena, 2009). Každopádně, tato byt' retrospektivní práce ukázala, že současné možnosti léčby potransplantačních lymfoproliferací jsou velké a že toto dříve smrtelné onemocnění je u většiny nemocných úspěšně zvládnuto včetně zachování funkce transplantované ledviny.*

## Literatura

Campistol JM, Eris J, Oberbauer R, et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:581–589.  
Kauffman HM. Malignancies in organ transplant recipients. *J Surg Oncol* 2006; 94:431–433.

Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, et al. Post-transplant de novo malignancies in renal transplant recipients: the past and present. *Transplant Int* 2006;19:607–620.

Kreis H, Oberbauer R, Campistol JM, et al.; Rapamune Maintenance Regimen Trial. Long-term benefits with sirolimus-based therapy after early cyclosporine withdrawal. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:809–817.

Mentzer SJ, Perrine SP, Faller DV. Epstein-Barr virus post-transplant lymphoproliferative disease and virus-specific therapy: pharmacological re-activation of viral target genes with arginine butyrate. *Transpl Infect Dis* 2001;3:177–85.

Robson R, Cecka JM, Opelz G, et al. Prospective registry-based observational cohort study of the long-term risk of malignancies in renal transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Am J Transplant* 2005;5:2954–2960.

Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, et al.; Sirolimus CONVERT Trial Study Group. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2009;87:233–242.

## Dlouhodobé zvýšení chuti k jídlu u malnutričních dialyzovaných pacientů při denním podávání ghrelinu

Ashby DR, Ford HE, Wynne KJ, et al. Sustained appetite improvement in malnourished dialysis patients by daily ghrelin treatment. *Kidney Int* 2009;76:199–206.

**M**alnutrice je častou komplikací u pacientů v dialyzačním programu a velmi významně ovlivňuje jejich dlouhodobou prognózu. Její účinná léčba by tak měla významně zlepšit morbiditu a mortalitu. Z recentní multicentrické studie však vyplývá, že enterální či parenterální výživa nemají dlouhodobý efekt, a jsou navíc často provázeny poklesem chuti k jídlu. Výsledný příjem energie je tak stejný, či dokonce nižší (Cano et al., 2007).

Ve dvojité slepé randomizované zkřížené (cross-over) komentované studii autoři analyzovali vliv subkutánně podávaného hormonu ghrelinu (regulujícího chuť k jídlu svým působením v hypothalamu) skupině 12 malnutričních dlouhodobě dialyzovaných pacientů. Vedle chuti k jídlu a kontrolovaného příjmu energie v potravě autoři sledovali i bezprostřední účinek na krevní tlak. Studie byla pozoruhodná tím, že účinek podávaného ghrelinu přetrvával delší dobu a nebyl vázán pouze na jednorázové denní podání. Výdej energie při monitoraci se nezměnil, a nemocní tak zůstávali v pozitivní energetické bilanci, což vede k přírůstku tělesné hmotnosti. K vyloučení placebo efektu byl každý pacient sám sobě kontrolou (cross-over). Nemocní byli vybráni z velkých dialyzačních center v Londýně a okolí, byli ve věku 18–75 let, bez závažných klinických problémů (těžká infekce, kardiální selhání, malignita apod.), avšak s prokazatelnými známkami malnutrice hodnocenými jako nejméně dvě pozitivní z celkově uvedených šesti hodnot: nejasný váhový úbytek větší než 5 % v posledních šesti měsících, koncentrace albuminu v séru < 35 g/l, koncentrace celkového cholesterolu (bez léčby) < 4,5 mmol/l, BMI < 20 kg/m<sup>2</sup>, nutričně-metabolické skóre (subjective global assesment score) < 6, celková vazebná kapacita Fe < 45 %.

Nejprve byli vybráni, ale dosud definitivně nezařazení pacienti (celkem 25) podrobeni periodě screeningu, ve které se měli naučit sami si aplikovat s.c. injekce a vést nutriční deník. To úspěšně zvládlo 12 nemocných, kteří byli následně zařazeni do vlastní studie a randomizovaně obdrželi kód, zda zahajují podáváním ghrelinu či fyziologického roztoku. Aplikace pokračovala po osm dnů, pak následovala týdenní perioda „wash-out“ a změna v podávání fyziologického roztoku či ghrelinu. Ghrelin byl podáván v dávce 12 µg/kg jednu hodinu před jídlem s vyloučením periody

bezprostředně před dialýzou. Ve studii bylo devět nemocných léčených hemodialýzou (HD) a tři pacienti na peritoneální dialýze (CAPD). Hemodialýza byla prováděna klasicky třikrát týdně 4 h při použití standardních dialyzátorů. Během studie nebyl měněn dialyzační režim ani suchá hmotnost. Kt/V se pohybovalo v rozmezí 1,41–2,73. U nemocných na peritoneální dialýze byl režim během studie též neměnný, objemy vyměňovaných roztoků činily 2 litry a sledované období trvalo 3 h po poslední výměně obsahující 1,36% glukózu či icodextrin. Krevní tlak byl měřen první hodinu po aplikaci ghrelinu či fyziologického roztoku. Složení stravy a další metabolické výpočty byly připraveny v programu Dietplan 5. Výdej energie byl sledován a měřen monitorací srdečního pulsu a pohybové aktivity (Actiheard pulse and Motion monitor).

Primárním cílem studie bylo sledování spontánního příjmu energie dle dietní sestavy 1.–8. den při podávání ghrelinu či fyziologického roztoku. Denní příjmy energie byly již v prvním dnu podávání významně vyšší po aplikaci ghrelinu, ve srovnání s fyziologickým roztokem ( $p < 0,001$ ). Spontánní příjem energie byl v celé skupině v průměru o 20,3 % vyšší (90% interval spolehlivosti). Na konci podávání, tj. osmý den, byl spontánní příjem energie po ghrelinu ještě vyšší a činil 24,6 % ( $p < 0,001$ ).

Po aplikaci ghrelinu se jeho plazmatické koncentrace zvýšila v průměru osmkrát, zatímco hodnota aktivního acyl ghrelinu až 80krát. Acyl ghrelin byl rychle metabolizován ve srovnání s koncentrací celkového ghrelinu, která zůstávala zvýšena během celého monitorovaného období. Současně se významně zvýšila plazmatická koncentrace růstového hormonu, a nebylo zaznamenáno jeho reaktivní snížení po denním podávání ghrelinu na konci studie. Nebyly zaznamenány změny v hodnotách IGF-1, TNF $\alpha$ , IL-3, CRP a albuminu. Bazální plazmatická koncentrace leptinu byla vyšší a během studie zůstala nezměněna.

Změny v příjmu energie jsou často kompenzovány i změnou v jejím výdeji, aby byla zachována energetická homeostáza. Během této studie však zvýšený příjem energie nebyl spojen s jejím zvýšeným výdejem.

Zajímavým vedlejším nálezem bylo zjištění poklesu systolického a diastolického krevního tlaku 60 min po aplikaci ghrelinu. Pokles činil v průměru 10,4 mm Hg u systolického TK a 4,7 mm Hg u diastolického TK ( $p < 0,03$ – $0,018$ ). Ve studii bylo významné i to, že byl zaznamenán minimální výskyt nežádoucích účinků (většinou GI symptomatologie) a žádný nemocný nemusel studii předčasně ukončit. Pokles TK byl přechodný a nemusela se upravovat předchozí léčba. Nebyl zaznamenán významný rozdíl v hodnotách glykémie na lačno a postprandiálně při aplikaci ghrelinu či fyziologického roztoku. Nebyly zaznamenány ani rozdíly v koncentracích glukózy a inzulinu v 30minutovém intervalu po podání ghrelinu. V závěru studie nebyly hodnoceny změny jednotlivých tělesných kompartmentů vzhledem k možnosti interference volumových změn při dialýze.

### ■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

*Anorexie je definována jako ztráta chuti k jídlu. Vede k redukcii příjmu energie a bílkovin, a významně se tak podílí na rozvoji časně kachexie u nemocných se selháním funkce ledvin (ESRD). Anorexie a kachexie jsou spojeny s častou hospitalizací, zhoršením kvality života a zvýšením rizika morbidita a mortality.*

*Není tedy pochyb o tom, že jde o velmi aktuální téma, zvláště při narůstající prevalenci starých a komplikovaných nemocných v chronickém dialyzačním léčení.*



Mechanismus kachexie u nemocných v ESRD je komplikovaný a nebyl dosud plně objasněn. Klinické a experimentální léčebné strategie léčby anorexie zahrnují chuťová stimulantia (např. megestrol acetát), intradialyzační parentální nutriční, významnou fyzickou aktivitu, inhibitory ubiquitin-proteosomové aktivity (např. bortezomid) a korekci metabolické acidózy.

V poslední době je pozornost soustředěna též na podávání ghrelinu a jeho analog. Ghrelin byl poprvé popsán Kojimou a spol. v roce 1999 jako peptid o 28 aminokyselinách, který stimuluje uvolňování růstového hormonu (GH) z hypofýzy. Ghrelin je primárně uvolňován především v žaludku a degradován v ledvinách. Uvolňování GH je závislé na dávce ghrelinu.

Ghrelin se vyskytuje v cirkulaci jako acyl ghrelin (cca 10 %), který stimuluje příjem potravy, a des-acyl ghrelin, který naopak indukuje negativní energetickou bilanci. Předchozí nálezy zvýšených hladin ghrelinu u nemocných s ESRD byly nepochybně dány zvýšenými hodnotami des-acyl ghrelinu, které tak paradoxně mohly přispět k rozvoji anorexie.

Ve studii bylo ukázáno, že s.c. podání ghrelinu vedoucí ke zvýšení acyl ghrelinu mělo pozitivní účinek na příjem energie v potravě. Pro nejednoduchost průkazu takového účinku v klinické studii se autoři snažili eliminovat malý počet jedinců metodikou dvojité slepé randomizované cross-over studie. Potvrdili i svoje předchozí publikované nálezy v experimentu, že regulace příjmu energie v potravě je dlouhodobě ovlivňována leptinem a inzulinem, zatímco ghrelin má bezprostřední a krátkodobý účinek. Leptin snižuje chuť k jídlu částečně ovlivněním neuropeptidu Y a dalších orexigenních peptidů, které stimulují area n. arcuatum hypothalamu, a ovlivňují tak produkci anorexigenních melanokortinů. Účinek ghrelinu v hypothalamu je antagonistický k leptinu. Je zřejmé, že ghrelin může hrát významnou roli v metabolické bilanci a zvýšení příjmu energie aktivací GH dependentních i independentních drah.

Otázkou zůstává, zda zvýšený příjem energie po podání ghrelinu zvyšuje tělesnou hmotnost ve formě depotního tuku, či zda dojde i ke zvýšení objemu svalové hmoty. MR studie in vitro prokazují v humánních studiích spíše stimulaci adipogeneze. Nelze však vyloučit, že při současném zvýšení svalové aktivity nemůže dojít i k nárůstu svalové hmoty. Tato otázka ve studii ani v současné literatuře zodpovězena dosud není.

Velmi významným výsledkem však bylo zjištění, že zvýšený příjem energie při zvýšené chuti k jídlu přetrvával i po ukončení studie a nebyl následován poklesem příjmu potravy, jak je často zjišťováno u nemocných substituovaných parenterální či enterální výživou při HD či PD léčbě.

Další významnou oblastí výzkumu jsou zjištěné ghrelinové polymorfismy, které mohou významně ovlivnit chuť k jídlu či anorexii. V naší studii u 68 nemocných po transplantaci ledviny bylo zjištěno, že varianta ghrelinu Arg51 > Gln byla častěji spojena s depozicí tuku ve srovnání s variantou Leu72 > Met.

#### Literatura

- Cano NJ, Fouque D, Roth H, et al. Intradialytic parenteral nutrition does not improve survival in malnourished hemodialysis patients: a 2 year multicenter, prospective, randomized study. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2583–2581.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999;402:656–660.
- Teplan V, Hubacek J, Stollová M. Metabolic syndrome after renal transplantation. *Ann Nutrition Metab* 2009;55(Suppl 1):580 (A).
- Wynne K, Giannitsopoulou K, Small C, et al. Subcutaneous ghrelin enhances acute food intake in malnourished patients who receive maintenance peritoneal dialysis: a randomized placebo-controlled trial. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2111–2118.

## Vliv metody použité k měření albuminémie na stanovení korigované kalcémie

Labriola L, Wallemacq P, Gulbis B, Jadoul M. The impact of the assay for measuring albumin on corrected ('adjusted') calcium concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1834–1838.

**A**si 40 % sérového kalcia je vázáno na albumin a jen volné a ionizované kalcium je biologicky aktivní. Jeho rutinní měření však není z řady důvodů jednoduché (např. závislost na pH, teplotě, prodlení při zpracování atd.) a z toho vyplývá i špatná reprodukovatelnost zjištěných hodnot. Guidelines K/DOQI proto doporučují používání hodnot celkové kalcémie korigované (resp. správněji adjustované) podle aktuální albuminémie. K výpočtu těchto korigovaných hodnot kalcia pak doporučují dvě rovnice – podle Orrela či podle Payna (K/DOQI guidelines, 2003).

Ke stanovení albuminémie se ve většině laboratoří používá automatizovaných, barvu vázících (kolorimetrických) metod, které jsou založeny na měření změny absorpčního spektra barev typu bromkresolové červeně (BCP) nebo bromkresolové zeleně (BCG) podle množství barvy navázané na přítomný albumin. Imunochemické metody, zejména imunoturbidimetrie a imunonefelometrie, jsou přesnější než tyto kolorimetrické metody, avšak jsou zároveň časově i finančně náročnější, a proto se v rutinním provozu příliš nepoužívají. Z klinické praxe je dobře a již dlouhodobě známo, že stanovení albuminémie metodou BCP dává nižší hodnoty než metodou BCG, a to jak u pacientů zdravých, tak s chronickou chorobou ledvin (CKD). Proto guidelines K/DOQI doporučují používání metody BCG, pokud je ve spolupracující biochemické laboratoři dostupná.

Autoři uvedené práce si stanovili jako cíl své studie vyšetřit, jak významný je vliv metody použité k měření albuminémie na stanovení hodnot korigované kalcémie, resp. součinu  $Ca \times P$  u hemodialyzovaných pacientů. Provedli měření albuminémie jak metodou BCG, tak metodou BCP u všech svých pacientů léčených chronickou dialýzou a poté provedli výpočet korigované („adjustované“) kalcémie podle doporučení K/DOQI. Do studie bylo zahrnuto celkem 89 pacientů, s průměrným věkem 71,2 roku, kteří byli průměrně 29 měsíců v chronické dialyzační léčbě. Albuminémie vyšetřená metodou BCG činila  $37,8 \pm 2,4$  g/l, resp.  $31,2 \pm 2,7$  g/l při použití metody BCP ( $p < 0,0001$ ). Po vypočtení korigované kalcémie pak bylo 12 pacientů hodnoceno jako „hypokalcemičtí“ ( $< 86$  mg/l, resp.  $< 2,15$  mmol/l), tři jako „hyperkalcemičtí“ ( $> 100$  mg/l, resp.  $> 2,5$  mmol/l) a 74 jako „normokalcemičtí“. Korespondující hodnoty albuminémie činily  $39 \pm 2$  g/l, resp.  $31 \pm 6$  a  $38 \pm 2$  g/l. Naproti tomu při použití metody BCP byl pouze jeden pacient hodnocen jako hypokalcemický, 21 bylo hodnoceno jako hyperkalcemičtí a 67 jako normokalcemičtí. Zjištěná diskrepance podle použité metody tedy byla zjištěna ve 29 případech (tj. 32,6 %): 18 pacientů bylo klasifikováno jako hyperkalcemičtí při použití metody BCP pro stanovení albuminémie, ačkoli byli hodnoceni jako normokalcemičtí při BCG. Naproti tomu 11 pacientů klasifikovaných jako hypokalcemičtí při metodě BCG mělo normální hodnoty korigované kalcémie při použití metody BCP. Pokud jde o součin  $Ca \times P$ , v sedmi případech byly zjištěny rozdílné hodnoty. Autoři svou práci uzavírají konstatováním, že výběr použité kolorimetrické metody má v obou případech BCG i BCP významný dopad na stanovení výsledné hodnoty kalcémie adjustované na hodnotu albuminémie, resp. na hodnocení výsledků léčby podle

doporučení K/DOQI pro cílové hodnoty kalcémie a součinu  $\text{Ca} \times \text{P}$ . Kliničtí lékaři by na tuto skutečnost měli brát zřetel při interpretaci výše uvedených laboratorních hodnot a při předepisování léků ovlivňujících fosfokalciový metabolismus. O typu metody použité ke stanovení albuminémie by proto mělo být referováno i v různých multicentrických studiích či v práci různých registrů.

## ■ KOMENTÁŘ

**Doc. MUDr. Ivan Rychlík, CSc., FASN**

Hodnota albuminémie se v řadě studií prokázala jako parametr predikující přežívání (Foley et al., 1996) a četnost hospitalizací (Blake et al., 1993) jak u dialyzovaných, tak u transplantovaných pacientů. Další význam hodnoty albuminémie je v hodnocení nutričního stavu pacientů s CKD či dialyzovaných (Ikizler et al., 1999). Z uvedených skutečností je tedy zřejmé, že stanovení albuminémie patří mezi významné biochemické hodnoty a jeho případné nepřesnosti mají široký dopad na hodnocení výsledků léčby nejen pacientů s chronickým onemocněním ledvin.

V běžné laboratorní praxi se používají ke stanovení albuminémie výše uvedené kolorimetrické metody, a to především pro jejich relativní finanční nenáročnost a pro vyhovující časovou dostupnost. Obě metody, BCG i BCP, však mají svá „choulostivá“ místa, a kdybychom transponovali problém známý ze stanovení mikroalbuminurie, otevřeme další řadu problémů (porovnání výsledků stanovení HPLC, kapilární elektroforézou, nefelometrií, kolorimetrickými metodami). Obecně lze říci, že rozdíl ve stanovení albuminémie metodou BCG a BCP je poměrně dramatický, nejvíce v řadě prací vychází na 5,0–6,0 g/l (v neprospěch BCP), tedy přepočteno jde o rozdíl dosahující cca 15 % normálních hodnot albuminémie (Clase et al., 2001)!

V dostupné literatuře najdeme poměrně hodně zpráv týkajících se technicko-metodologické stránky problému a již méně je referencí zabývajících se problémem z klinického hlediska. Přesto, že

se o této problematice v literatuře diskutuje již minimálně od 80. let minulého století, zůstává na poli nejenom nefrologicky nemocných řada otázek a někdy i rozporuplných údajů – příkladem budiž hodnocení odlišných výsledků BCP a BCG k nefelometrii u hemodialyzovaných vs. peritoneálně dialyzovaných pacientů atd. (Parikh et al., 2003). Dále je z obecného hlediska pozoruhodné, že prakticky žádná z prací zabírajících se hodnocením albuminémie ve vztahu k různým parametrům (např. přežívání dialyzovaných pacientů, ale i přepočítávání kalcémie při hypoalbuminémii atd.) se nezmiňuje, jakou metodikou byl albumin stanoven.

Konečně, dovoluji si vyslovit i názor, že naprostá většina klinických lékařů není o problému odlišných výsledků stanovení albuminémie podle zvolené kolorimetrické metody dostatečně informována, stejně jako o metodě, kterou se stanovuje albuminémie v jejich laboratoři.

Nelze než uzavřít, že výše popsaná situace ve svém důsledku představuje významný klinicko-laboratorní problém a je příkladem, jak v laboratoři někdy musíme volit technicky jednodušší, ale ne zcela správná řešení. Je nepochybné, že danou situaci by se měly zabývat odborné autority a jistě by stálo za to dané téma otevřít na mezioborové úrovni (biochemici, nefrologové, intenzivisté, nutričníisté) s cílem pokusit se dojít k určitému konsensu alespoň v českých podmínkách.

## Literatura

- Blake PG, et al. Serum albumin in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis – predictors and correlations with outcomes. *J Am Soc Nephrol* 1993;3:1501–1507.
- Clase CM, et al. Conversion between bromocresol green- and bromocresol purple-measured albumin in renal diseases. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1925–1929.
- Foley RN, et al. Hypoalbuminaemia, cardiac morbidity and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:728–736.
- Ikizler TA, et al. Association of morbidity with markers of nutrition and inflammation in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999;55:1945–1951.
- K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42 (4 Suppl 3):S1–S201.
- Parikh C, et al. Discrepancies in serum albumin measurements vary by dialysis modality. *Ren Fail* 2003;25:787–796.