

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
LÉKAŘSKÁ FAKULTA V PLZNI

**CÉVNÍ KALCIFIKACE A KOSTNÍ DEMINERALIZACE
U PACIENTŮ S CHRONICKÝM SELHÁNÍM LEDVIN**

MUDr. JAN MAREŠ
DIZERTAČNÍ PRÁCE

PLZEŇ 2009

OBSAH

1. OBECNÁ ČÁST

1.1. Úvod.....	3
1.2. Popis problému a epidemiologie	5
1.2.1 Prevalence, rizikové faktory a důsledky cévních kalcifikací	6
1.2.2. Prevalence, rizikové faktory a důsledky úbytku kostní hmoty.....	7
1.3. Patofyziologie	9
1.3.1. Mechanismy vzniku cévních kalcifikací	9
1.3.2. Klasifikace cévních kalcifikací.....	11
1.3.3. Mechanismy kostní (de)mineralizace.....	13
1.3.4. Klasifikace renální osteodystrofie.....	15
1.4. Diagnostické možnosti	17
1.4.1. Metody měření cévních kalcifikací:	17
1.4.2. Metody měření kostní denzity	19
1.4.3. Biochemické parametry kalcium-fosfátového metabolismu.....	20
1.4.4. Systémy pro skórování cévních kalcifikací.....	22
1.4.5. Parametry posouzení kostního minerálu.....	22
1.5. Klinické souvislosti	24
1.5.1. Obecná populace	24
1.5.2. Pacienti s chronickým selháním ledvin.....	26

2. ORIGINÁLNÍ PRÁCE

2.1. Cíle práce	27
2.2. Pacienti a metodika	28
2.2.1. Soubor pacientů léčených peritoneální dialýzou.....	28
2.2.2. Soubor pacientů léčených hemodialýzou	28

2.2.3. Kontrolní soubory	29
2.2.4. Etické a legální aspekty studií	29
2.2.5. Laboratorní metody	29
2.2.6. Kvantitativní CT (qct) denzitometrie	30
2.2.7. Hodnocení fraktur obratlů.....	30
2.2.8. Měření skóre kalcifikací koronárních cév a srdečních chlopní.....	31
2.2.9. Posouzení kalcifikací abdominální aorty a splachnických větví.....	31
2.2.10. Statistické hodnocení	31
2.3. Výsledky	32
2.3.1. Minerální kostní denzita u capd pacientů	32
2.3.2. Determinanty prevalentních fraktur obratlů a progresivního úbytku kostní hmoty u HD pacientů	32
2.3.3. Determinanty cévních kalcifikací u pacientů léčených chronickou HD	33
2.4. Diskuse	35
2.4.1. Minerální kostní denzita u pacientů léčených CAPD	35
2.4.2. Determinanty prevalentních fraktur obratlů a progresivního úbytku kostní hmoty u pacientů léčených chronickou HD.....	35
2.4.3. Determinanty cévních kalacifikací u pacientů léčených chronickou hemodialýzou ..	37
2.5. Závěry	41
3. PŘÍLOHY	
3.1. Tabulky	42
3.2. Grafy	54
3.3. Obrázky	59
3.4. Poděkování.....	61
3.5. Podpora práce.....	62
3.6. Literatura	63
3.7. Seznam zkratk.....	70
3.8. Práce publikované a připravené k publikaci.....	72

1. OBECNÁ ČÁST

1.1. ÚVOD

Výskyt kalcifikujících tkání (endoskeletu) na bázi fosforečnanu vápenatého je společným znakem vyšších živočichů z řádu obratlovců. Fylogeneticky se kalcifikované tkáně objevují před 540 miliony lety a označují tzv. kambrickou explozi, tj. téměř současný vznik rozsáhlé škály živých forem (v protikladu k uniformitě předcházející ediakarské fauny). Tento vývoj souvisel s globální změnou chemismu oceánské vody – tzv. fosfogenní událostí [1]. Zastoupení fosfátu v prostředí je limitujícím faktorem pro většinu živých organismů, jeho akumulace v nerozpustné podobě však přinesla ještě významný sekundární zisk. Zvýšená pevnost kalcifikovaných tkání umožnila lepší udržení tělního plánu, posloužila jako úpon výkonnějších svalů a poskytla i přímou ochranu vnitřním orgánům.

Kalcium a fosfor jsou ubikvitní makroelementy tvořící převážnou část anorganické složky lidského těla: 1.5kg vápníku (Ca) a 0.75kg fosforu (P). Vápník se účastní mnoha významných regulačních mechanismů, tvorby membránového potenciálu, jako dvojmocný kationt může vazbou na anionické skupiny makromolekul měnit jejich konformaci (strukturní změny, aktivace/deaktivace). Jeho intra- i extracelulární distribuce proto podléhá velmi důsledné regulaci: 99% je deponováno v kostech a zubech jako nerozpustný krystalický minerál, kalcium hydroxyapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), pouze 0.5‰ je přítomno v rozpustné (difuzibilní) formě. Fosfor je významný především schopností vytvářet makroergní vazby, tedy uchovávat energii v disponibilní formě, fosforylace dodává makromolekulám negativní náboj a snižuje hydrofobicitu, při pH kolem 7.4 funguje systém $\text{H}_2\text{PO}_4/\text{HPO}_4$ jako účinný pufr.

Schopnost ukládat kalcium a fosfor v nerozpustné podobě mají tkáně mezenchymálního původu, především chrupavka a vazivo. Kromě fyziologické osifikace dochází ke kalcifikaci cév, šlach, svalů, starých jizev, hematomů apod. Biologický význam této reakce není jasný, v některých situacích se zřejmě jedná o adaptivní mechanismus (odpověď na dráždění, zejména mechanické), jindy jsou však důsledky jednoznačně negativní. Klinicky nejzávažnější jsou bezpochyby kalcifikace stěny tepen. Ateroskleróza a cévní kalcifikace bývají považovány za civilizační onemocnění, nicméně masivní kalcifikace aorty a karotid byly nalezeny i při CT vyšetření mumie (stáří 5300 let) 45letého muže z doby ledové, nalezené v Tyrolských Alpách v roce 1991 [2]. Podobné nálezy jsou běžné i u egyptských aj. mumií a bývají vysvětlovány chronickým systémovým zánětem. Extenzivní mediokalcinóza

aorty a velkých cév je pravidelným nálezem při sekci velkých savců (žirafy, sloni), u nichž je intravitálně přítomen systolický tlak kolem 300 torrů [3].

Historicky podává první popis tzv. "cévní osifikace" A. Benivieni v roce 1507, rovněž Virchow si povšiml (1863) nápadné podobnosti mezi mikroskopickým obrazem cévní kalcifikace a strukturou kostní tkáně. V posledních dvou desetiletích jsme pak svědky zásadního posunu v pohledu na cévní kalcifikace. Původní představa čistě fyzikálně podmíněné precipitace při překročení produktu rozpustnosti kalcium-fosfátových solí byla nahrazena modelem aktivního, regulovaného procesu. V současnosti máme k dispozici řadu epidemiologických, histopatologických a molekulárních dokladů o společných regulačních a metabolických mechanismech, které se uplatňují v kostní tkáni i kalcifikující cévní stěně.

Nemocní s renálním selháním představují z důvodu vysoké prevalence cévních kalcifikací a kostní demineralizace vhodný soubor pro studium interakcí mezi těmito procesy. Zároveň se zde však uplatňuje řada komplikujících faktorů, takže jednoznačná data nejsou k dispozici. V první, obecné, části této práce je podán přehled klinických a experimentálních prací dokumentujících souvislosti mezi kalcifikací cév a mineralizací skeletu v obecné populaci a u pacientů s chronickým selháním ledvin. V další části jsou předloženy výsledky vlastních studií zabývajících se oběma procesy a vztahy mezi nimi v souboru dialyzovaných nemocných.

1.2. POPIS PROBLÉMU A EPIDEMIOLOGIE

V posledních 20 letech zažívá většina ekonomicky vyspělých zemí výrazný nárůst počtu pacientů s chronickým onemocněním ledvin [4]. Přes značný pokrok v poznání patofyziologie chronického selhání ledvin (ESRD) a rozvoj technologií náhrady funkce ledvin, zůstává mortalita dialyzovaných nemocných velmi vysoká. Kardiovaskulární onemocnění jsou u pacientů léčených dialýzou vedoucí příčinou smrti, podobně jako v obecné populaci. V porovnání s osobami bez onemocnění ledvin je však kardiovaskulární mortalita v různých věkových kategoriích 10-30krát vyšší, a to i po stratifikaci podle pohlaví, rasy a přítomnosti diabetu [5]. Je tedy zřejmé, že choroby ledvin představují silný rizikový faktor, takže podle American Heart Association se nemocní s chronickým onemocněním ledvin nacházejí v kategorii s nejvyšším rizikem a měla by se u nich uplatňovat nejintenzivnější preventivní opatření [6]. Celková roční mortalita dialyzovaných nemocných se blíží 20%, očekávaná doba života pacienta vstupujícího do dialyzační léčby se pohybuje na úrovni nemocných s maligním tumorem nebo rozvinutým AIDS [4, 7]. Až u 50% nemocných léčených hemodialýzou je příčinou smrti postižení kardiovaskulárního systému. Je evidentní, že tato situace vytváří významný socioekonomický problém, jehož dopady mohou v budoucnosti dále narůstat. Hledání příčin vysoké kardiovaskulární mortality nemocných s pokročilou dysfunkcí ledvin, stejně jako vhodných diagnostických nástrojů a léčebných postupů proto představuje asi největší výzvu současné dialyzační nefrologie.

Dalším závažným problémem v populaci pacientů s chronickým onemocněním ledvin je kostní choroba, jejímž důsledkem je kromě fraktur s přímým vlivem na mortalitu, především invalidizace a snížená kvalita života [8, 9]. V posledních 20 letech došlo v souvislosti s pokrokem v technologii náhrady funkce ledvin a zejména v důsledku detailního poznání patofyziologie renální osteodystrofie k zásadní změně především ve spektru kostních změn [10]. Přesto je poškození skeletu přítomno prakticky u všech nemocných s chronickým selháním ledvin. Nejdůležitějším rizikovým faktorem zůstává vysoká hladina parathormonu (sekundární hyperparathyreóza), nevyjasněné jsou naopak dopady velmi nízkých koncentrací parathormonu (adynamická kostní nemoc) na pevnost kosti [11]. Kromě těchto vlivů, specifických pro urémii, se na demineralizaci skeletu u nemocných s nezvratným selháním ledvin významně podílí i osteoporóza. Pacienti léčení dialýzou představují z hlediska věku, hormonálního stavu, dietního režimu a pohybové aktivity mimořádně rizikovou subpopulaci pro rozvoj těžké osteoporózy.

1.2.1 PREVALENCE, RIZIKOVÉ FAKTORY A DŮSLEDKY CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ

Z epidemiologických studií analyzujících rozvoj aterosklerózy, kardiovaskulární a celkovou mortalitu lze pro populaci nemocných s chronickým selháním ledvin odvodit několik netradičních rizikových faktorů. Kromě věku a délky dialyzační léčby je nejsilnější vztah kardiovaskulárních komplikací k přítomnosti a rozsahu cévních kalcifikací [5, 12]. Ty jsou potvrzeny jako nezávislý prediktor i po korekci na ostatní rizikové faktory. Cévní kalcifikace mají u nemocných se selháním ledvin odlišný charakter – aterosklerotické pláty nejsou rozsáhlejší, ale intenzivněji kalcifikované, jiná je i povaha komplikací – spíše než k akutním koronárním syndromům dochází k rozvoji hypertrofie a fibrózní degenerace svaloviny levé komory srdeční se selháním nebo náhlou smrtí [13]. Naproti tomu klasické rizikové faktory jako hladina cholesterolu nebo body mass index vykazují u nemocných se selháním ledvin opačný vztah k mortalitě než v obecné populaci (reverzní epidemiologie) [14, 15].

Koronární kalcifikace jsou nacházeny (v závislosti na věku) u 54-100% dialyzovaných nemocných, přítomny jsou běžně už ve věku 20-30 let [16]. Bohužel nejsou k dispozici rozsáhlejší studie přímo srovnávající výskyt a charakter kalcifikací s obecnou populací – pomocí electron beam CT (EBCT) zjistil Braun až 5násobně vyšší stupeň koronárních kalcifikací v souboru 49-letých hemodialyzovaných pacientů ve srovnání s osobami bez onemocnění ledvin, ale s angiograficky prokázaným koronárním postižením [17]. Srovnáním sekčního materiálu koronárních cév od zemřelých se selháním ledvin a bez něj byl zjištěn stejný objem a plocha aterosklerotických plátů, ale výrazně vyšší stupeň kalcifikace [18]. Tloušťka intimy se nelišila, zatímco tloušťka média byla větší u nemocných se selháním ledvin. Ve studii posuzující stupeň kalcifikace pomocí IVUS byly u culprit lézí koronárních cév zjištěny menší kalcifikace, zatímco rozsáhlejší kalcifikace byly přítomny u stabilní angíny pectoris [19]. Tato data svědčí proti teorii akcelerované aterosklerózy u nemocných s renální dysfunkcí a ukazují na koronární kalcifikace jako hlavní přídatný rizikový faktor. Jiným potenciálním rizikovým faktorem je postižení velkých cév, které se podílí na zvýšení afterloadu, spotřeby kyslíku v myokardu a zhoršuje subendokardiální ischemii [20]. Je možné demonstrovat souvislost mezi zvýšením rychlosti pulzní vlny, poklesem distenzibility aorty, karotid a femorálních tepen a mortalitou nemocných se selháním ledvin (tabulka 1). Zvýšení rychlosti pulzní vlny přitom těsně koreluje se stupněm kalcifikace měřeným sonograficky [21].

Nejasné zůstávají příčiny vzniku masivních kalcifikací, za hlavní faktory jsou na základě epidemiologických a mechanistických studií označovány poruchy regulace metabolismu kalcia a fosfátů (hyper a hypoparathyreóza), chronické poškozování cévní stěny hypertenzí a uremickými toxiny a porušená bilance kalcia [22-24]. Teoreticky lze dobře zdůvodnit souvislost mezi vznikem, resp. progresí cévních kalcifikací a léčbou kalciovými vazači fosfátů (uhličitan nebo octan vápenatý). U pacientů s chronickým selháním ledvin je často zcela vyřazena regulace kalciové bilance – zvýšená nabídka kalcia v podobě vazačů vede při současné léčbě aktivními analogy vitamínu D k jeho excesivní resorpci. Renální eliminace je nefunkční a rovněž schopnost kostní tkáně puřovat hyperkalcémii je zejména při nízkooobratové kostní nemoci výrazně omezená. Může tak docházet k přechodným nárůstům

kalcium-fosfátového součinu a akceleraci cévních kalcifikací.

Výsledky klinických studií však nejsou v tomto směru jednoznačné. Block [25] zjistil u pacientů nově vstupujících do hemodialýzy a léčených kalciovým vazačem významně rychlejší progresi koronárních kalcifikací v porovnání se skupinou léčenou sevelamerem. Přitom však u třetiny pacientů nebyly při vstupním vyšetření přítomny žádné kalcifikace a v této podskupině se při dalším sledování kalcifikace nevytvářely, a to nezávisle na typu léčby. K podobnému výsledku dospěl Asmus [26], který navíc ve skupině léčené kalciovým blokátorem prokázal nižší hladinu parathormonu a pokles trabekulární kostní denzity obratlů měřené CT. Nejasnosti panují i v otázce vlivu podávání aktivních metabolitů vitamínu D, některé studie prokazují výhody analogů D s potlačenými hyperkalcemizujícími účinky [27]. Naproti tomu závěry studie CARE (Calcium Acetate Renagel Evaluation) [28] sledující úspěšnost v kontrole kalcémie a fosfatémie u hemodialyzovaných pacientů léčených kalciovým vazačem v porovnání se sevelamerem, vyznívají ve prospěch kalciových vazačů. V rameni léčeném kalcium acetátem bylo dosaženo lepší kontroly fosfatémie a především nižšího kalcium-fosfátového součinu. Pacienti, kteří současně užívali vitamin D měli častější epizody hyperkalcémie

1.2.2. PREVALENCE, RIZIKOVÉ FAKTORY A DŮSLEDKY ÚBYTKU KOSTNÍ HMOTY

Závěry studií zjišťujících výskyt snížené kostní denzity v populaci dialyzovaných nemocných jsou kontroverzní – výsledky výrazně závisí na zvoleném místě a metodě měření. Např. Urena zjistil v souboru 70 pacientů léčených hemodialýzou osteoporózu (T skóre < -2.5, metoda měření DXA) bederní páteře v 17%, krčku femuru v 47% a rádia v 80% [29]. Pouze v oblasti rádia byl rozdíl statisticky významný ve srovnání s obecnou populací. Většina prací se však shoduje v nálezů snížené kostní denzity apendikulárního i axiálního skeletu oproti obecné populaci odpovídající věkem a pohlavím. Úbytek kostní hmoty nejčastěji koreluje s věkem, ženským pohlavím, body mass indexem, délkou náhrady funkce ledvin, hladinou alkalické fosfatázy a parathormonu [29-31]. Žádný z uvedených rizikových faktorů však není prokazován konzistentně [32, 33].

Incidence symptomatických patologických kostních fraktur (tzn. především proximální femur a distální radius) je u dialyzovaných nemocných výrazně větší než v odpovídajícím souboru zdravých osob adjustovaném na věk, pohlaví a body mass index (Tabulka 2). Fraktury jsou zde navíc spojeny s vyšší mortalitou (OR 1.99, 95%CI 1.91-2.07, p<0.001) [8]. Poněkud opomíjeným problémem jsou prevalentní, „oligosymptomatické“ fraktury (zejména obratlů), které však mohou vyvolávat výrazné bolesti (dorzalgie, artralgie) a myopatie, resp. vliv těchto faktorů na mobilitu, soběstačnost a celkovou kvalitu života pacientů s nezvratným selháním ledvin. Třebaže studie zpracovávající tuto oblast jsou jen ojedinelé [34], rutinní praxe a denní kontakt s nemocnými svědčí o tom, že tyto obtíže jsou běžné a pacienti je vnímají jako závažné.

Procesy vedoucí k úbytku kostní hmoty probíhají dlouhou dobu asymptomaticky a prvním projevem tak většinou bývá až patologická fraktura – typicky kompresivní fraktury obratlů, fraktura distálního rádia (Colesova fraktura) a fraktura proximálního femuru. V přístupu k patologickým frakturám je proto zcela zásadní prevence, jejím předpokladem je však možnost selektovat rizikovou subpopulaci. Rutinní vyšetřování minerální kostní denzity není zatím součástí doporučení pro léčbu pacientů s ESRD, takže nejsou k dispozici rozsáhlejší retrospektivní studie analyzující vztahy mezi stupněm demineralizace skeletu a rizikem fraktur. Vzhledem k relativně nízké incidenci symptomatických fraktur je navíc problematické i sledování v rámci prospektivních klinických studií. Dostupná data proto pochází především z vyšetření prevalence fraktur obratlů – většina studií však nezjistila žádnou nebo jen slabou korelaci mezi kostní denzitou a frakturami obratlů (Tabulka 3).

1.3. PATOFYZIOLOGIE

Vzestup zájmu o problematiku cévních kalcifikací je patrný z počtu publikací na toto téma – databáze Pubmed vrací při zadání hesla „vascular calcification“ v období 1991-1995 pouze 245 prací (tj. 0.01%, z toho 39 review), zatímco za stejné období 2000-2004 je to už 587 článků a za posledních 5 let již 1293 prací (tj. 0.04%, z toho 350 přehledných).

1.3.1. MECHANISMY VZNIKU CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ

Koncentrace kalcia a fosfátu v extracelulární tekutině se i za fyziologických podmínek pohybuje několik řádů nad součinem rozpustnosti. Spontánní precipitaci kalcium-fosfátu brání komplex inhibitorů. Porušení této rovnováhy v důsledku deficitu inhibitorů, překročení kapacity systému a přítomnosti nukleačních jader krystalizace představuje obecné mechanismy tvorby extraoseálních kalcifikací. Při vzniku cévních kalcifikací hraje zásadní roli diferenciaci mezenchymálních prekursorů (zejména buněk hladké svaloviny cévní stěny, VSMC) do elementů podobných osteoblastům. Tyto buňky produkují kolagen I i další, nekolagenní, proteiny organické kostní matrix.

PŘIROZENÉ INHIBITORY KALCIFIKACE

FETUIN A (α 2-Schmid Hereman glykoprotein, AHSG) je glykoprotein s molekulovou hmotností 56kD syntetizovaný v játrech. Dosahuje vysoké plazmatické koncentrace (0,5-1 g/l) a představuje hlavní cirkulující inhibitor kalcifikace. Fetuin zodpovídá za 50% antiprecipitační aktivity lidského séra, tento efekt je prokazatelný i in vitro (s kalcium a fosfátem zde vytváří koloidní částice). Má charakter negativního reaktantu akutní fáze (jeho hladina klesá při zánětu) [35]. Deficit fetuinu u transgenních myší (fetuin A knock-out model) je spojena s masivní kalcifikací parenchymatózních orgánů a měkkých tkání, nepostihuje však artérie [36]. Důvodem je zřejmě kompenzatorní hyperexprese MGP v cévní stěně. U pokusných zvířat je dále zjišťována snížená elasticita myokardu podmíněná jeho fibrózou, diastolická dysfunkce a snížená tolerance ischemie. Dialyzovaní pacienti mají sníženou hladinu fetuinu A, zřejmě především v důsledku chronické inflamace a malnutrice. Snížení koncentrace fetuinu u nich přitom koreluje s kardiovaskulární mortalitou [35].

Dalším potentním inhibitorem kalcifikace je zmíněný MATRIX GLA PROTEIN (MGP). Ve zvířecím knock-out modelu byly prokázány extenzivní kalcifikace aorty u myší s delecí genu pro MGP, zvířata uhynou ve 2. měsíci života na krvácení v důsledku ruptury („fraktury“) aorty [37]. Protein obsahuje 5 skupin karboxyglutamové aminokyseliny (Gla, vzniká vitamin K-dependentní karboxylací zbytků kyseliny glutamové). Účinnost MGP závisí na přítomnosti Gla skupin, v experimentu na tkáňových kulturách i ve zvířecím modelu warfarin vede k progresi kalcifikací cévní stěny resp. VSMC nodulů [38, 39]. Užívání warfarinu predisponuje nemocné s dysfunkcí ledvin ke vzniku kalcifylaxe [40]. Gla propůjčuje proteinu schopnost vázat kalcium, efekt na kalcifikace však zřejmě není

zprostředkován přímou inhibicí růstu krystalů, MGP blokuje osteogenní diferenciaci VSMC inhibicí signalizace cestou bone morphogenic protein-2 (BMP2). Systémová koncentrace MGP u nemocných se selháním ledvin je zvýšená v důsledku retence (molekulová hmotnost 10kDa).

PYROFOSFÁTY jsou jednoduché organické sloučeniny (jejich syntetickým analogem jsou bisfosfonáty) produkované intracelulárně lokalizovaným enzymem ektonukleotid pyrofosfatázou (ENPP1) a transportované z buněk membránovým proteinem kódovaným genem ANK (progressive ankylosis locus). Jeho deficit u transgenních myši vede ke vzniku periartikulárních kalcifikací a kalcifikací aorty. Ztrátová mutace ENPP1 způsobuje u dětí tvorbu rozsáhlých mediálních kalcifikací velkých a středních tepen (IIAC) a smrt v prvním půl roce života [41]. Plazmatická hladina pyrofosfátů u pacientů léčených hemodialýzou je snížena [42].

OSTEOPROTEGERIN (OPG) je protein z rodiny tumor necrosis factor (TNF), který se účastní lokální regulace kostního metabolismu (osteoklastogeneze). Osteoprotegerin je však syntetizován i v cévní stěně a ve zvířecím knock-out modelu vede deficit OPG k rozvoji těžké osteoporózy a cévních kalcifikací [43]. Mechanismus jeho účinku spočívá zřejmě zčásti ve zvýšené nabídce kalcia a fosfátu uvolněného resorpcí kosti, jednak v přímém inhibičním účinku na cévní kalcifikaci. Nevysvětleným paradoxem však zůstává nález zvýšené koncentrace osteoprotegerinu v populaci dialyzovaných nemocných a pozitivní korelace jeho hladiny s kalcifikacemi aorty [44]. Vzestup OPG může být projevem kompenzatorního mechanismu, ale i kauzální faktor vzniku kalcifikací.

NUKLEAČNÍ JÁDRA KRYSTALIZACE

Elektronovým mikroskopem lze prokázat časná stadium kalcifikací uvnitř a v okolí buněk hladké svaloviny, ve vztahu k apoptotickým tělíškům a specializovaným membránovým organelám (matrix vesicles). Tyto struktury se běžně vyskytují v kostní tkáni a chrupavce, tvoří se pučením z chondrocytů a osteoblastů a slouží jako nukleační jádra pro růst krystalů kalcium hydroxyapatitu. Jejich produkce v cévní stěně souvisí s apoptózou a diferenciací VSMC do elementů podobných osteoblastům a schopnost spustit kalcifikaci byla ověřena in vitro [45].

HYPERFOSFATÉMIE, HYPERKALCÉMIE

Kauzální vliv hyperfosfatémie a hyperkalcémie na rozvoj cévních kalcifikací není v klinických studiích a metaanalýzách jednoznačný [46], třebaže pro něj svědčí řada teoretických předpokladů. Naproti tomu vztah hyperkalcémie a hyperfosfatémie ke kardiovaskulární mortalitě je opakovaně prokazován v rozsáhlých retrospektivních analýzách. Pro negativní vliv hyperkalcémie svědčí i předběžné výsledky použití analogů vitamínu D s potlačenými hyperkalcemizujícími účinky a nekalciových vazačů fosfátů [27]. Nejednoznačnost klinických dat může být způsobena obtížemi při popisu parametrů, které vykazují značnou intraindividuální variabilitu i v krátkém časovém rozmezí. Z in vitro studií vyplývá, že vliv hyperfosfatémie je komplikovanější než pouhé překročení součinu rozpustnosti, resp. překročení kapacity antiprecipitačních systémů. Inkubace VSMC

s glycerolfosfátem, jako donorem fosforu, vede k diferenciaci do osteoblastů, masivní produkci membránových vezikulů a expresi osteopontinu a ALP, a mineralizaci. Tento proces je inhibován v přítomnosti foskarnetu (phosphonoformic acid), kompetitivního blokátoru Na/Pi kotransporteru. Tento experiment svědčí pro to, že se jedná o aktivní, regulovaný proces [47]. Podobné výsledky byly dosaženy v prostředí s vysokou koncentrací kalcia [48].

PRODUKCE ORGANICKÉ KOSTNÍ MATRIX

VSMC jsou odvozeny od stejného mezenchymálního prekursoru jako osteoblasty, vlivem různých stimulů může dojít k jejich diferenciaci do elementů podobných osteoblastům. Tyto buňky vykazují výrazné antigenní (imunohistochemické) i funkční analogie s buňkami kostní tkáně. Přepínačem na úrovni DNA je transkripční faktor cbfa-1, detekovaný v intimě i medii v kalcifikovaných, ale nikoli v nekalcifikovaných, částech a. epigastrica inferior získané od pacientů podstupujících transplantaci ledviny pomocí in situ hybridizace, imunohistochemicky a RT-PCR. Zároveň byla zjištěna exprese osteopontinu a kolagenu I ve stejných oblastech [49]. Osteogenní diferenciaci mohou podstoupit i pericyty a adventiciální myofibroblasty.

1.3.2. KLASIFIKACE CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ

Cévní kalcifikace je možné klasifikovat do 4 typů podle etiopatogeneze a klinického obrazu:

INTIMÁLNÍ (ATEROSKLEROTICKÁ, FIBRÓZNÍ) KALCIFIKACE

Intimální kalcifikace se tvoří v aterosklerotických plátech již od 2. dekády života, mají charakter dystrofie – vznikají v poškozené cévě, jsou spojeny s buněčnou smrtí, zánětlivou reakcí a akumulací lipoproteinů. Vazivově degenerovaná tkáň propadá kalcifikaci, s následnou remodelací typu enchondrální osifikace (kartilaginozní metaplázie), v pokročilém stádiu zde může probíhat i krvetvorba. Apoptóza buněk hladké svaloviny a makrofágů může cestou produkce nukleačních jader (apoptotic bodies) iniciovat kalcifikaci zejména v prostředí oxidovaných lipidů v centru aterosklerotických plátů, kde chybí fagocytující buňky schopné je efektivně odstranit. Jakmile je proces kalcifikace v přítomnosti nukleačního jádra zahájen, pokračuje již dále nezávisle [50].

Dalším nezbytným předpokladem kalcifikace jsou regulační proteiny, zejména osteopontin, matrix Gla protein, osteokalcin, osteonektin, kolagen I a II, alkalická fosfatáza, kostní sialoprotein resp. kostní morfogenní proteiny. Tyto faktory se běžně účastní řízení mineralizace kostní tkáně a mohou být exprimovány i buňkami hladké svaloviny cév. Signalizace probíhá přes BMP2 a transkripční faktor Cbfa1 (Runx2) [51]. Zatímco buňky hladké svaloviny získávají osteogenní fenotyp, subpopulace makrofágů podléhají diferenciaci do elementů charakteru osteoklastů a mohou se pravděpodobně podílet na resorpci kalcifikací.

Vysoká lokální koncentrace kalcia a fosfátů byla v minulosti považována za nutnou podmínku kalcifikace na základě čistě fyzikálně-chemické reakce (precipitace). Na

buněčných kulturách však bylo prokázáno, že VSMC reagují na vzestup extracelulárního kalcia expresí MGP mRNA stimulovanou přes kalciové receptory v membráně [52], zvýšená koncentrace fosfátů vyvolává osteogenní diferenciaci VSMC [53]. Významným zdrojem kalcia a fosfátu je právě zánik a rozpad buněk – tento mechanismus je typický i během vývoje kosti.

Kalcifikace aterosklerotických plátů je běžným jevem, podstatnou otázkou je, zda se podílí na progresi plátu nebo jeho ruptuře. Klinická data i biomechanické studie naznačují, že kalcifikace mohou přispívat naopak ke stabilizaci plátu [54]. Depozice kalcium fosfátových krystalů např. v kloubním pouzdru vyvolává zánětlivou odpověď, není však jasné, zda se obdobný mechanismus uplatňuje i v cévní stěně (v kloubu se může jednat především o důsledek mechanického dráždění)

MEDIÁLNÍ KALCIFIKACE

Mediální kalcifikace vznikají nezávisle na kalcifikacích intimálních, jako lineární depozita podél elastické vrstvy média. Ve vystupňované podobě vytváří souvislou cirkulární vrstvu obklopenou z obou stran hladkou svalovinou. Typicky se vyskytuje v tepnách velkého kalibru, zejm. dolních končetin u starších osob, v mladším věku u pacientů s diabetem a selháním ledvin. Na rozdíl od intimálních kalcifikací se mediální kalcifikace rozvíjí v nepřítomnosti lipidů a zánětlivých buněk, jako vodící substrát pro růst krystalů hydroxyapatitu slouží vlákna elastinu [50]. Depozice kalcia má charakter endostální osifikace připomínající vznik kostí kalvy, chrupavčitá tkáň se neobjevuje. Diferenciace osteoblastů probíhá pod vlivem transkripčního faktoru Msx2, jeho zapnutí provádí bone morphogenic protein-2. Exprese obou faktorů probíhá v myofibroblastech (pericytech). Průkaz exprese BMP2 v kalcifikované cévní tkáni je na molekulární úrovni dokladem aktivní, regulované osteogeneze [55]. Další mediátory rozhodují o typu osifikace – při aktivaci cbfa1 se mezenchymální prekursor diferencuje do chondrocytů a dochází k enchondrální osifikaci, při aktivaci Msx2 diferencuje do osteoblastů a probíhá endostální osifikace [50]. Silným stimulem pro expresi BMP2 je TNF-a, tedy proinflamační signalizace.

KALCIFIKACE SRDEČNÍCH CHLOPNÍ

Vzniká v důsledku mechanického namáhání a související zánětlivé reakce, má tedy charakter dystrofické kalcifikace (typu endostální kalcifikace), nesouvisí však přímo s procesem aterosklerózy.

KALCIFYLAXE

Kalcifylaxe je relativně vzácné onemocnění s vysokou mortalitou, spojené s rozsáhlými kalcifikacemi měkkých tkání a průvodními kožními nekrózami (typicky plošné kožní léze), které postihují především periferní části končetin, trup ale i další lokalizace. Na jejím vzniku se podílí zejména vysoký kalcium-fosfátový součin, z dalších rizikových faktorů se uplatňuje diabetes a léčba kumarinovými deriváty [40].

1.3.3. MECHANISMY KOSTNÍ (DE)MINERALIZACE

Zdravá kost se nachází ve stavu dynamické rovnováhy, remodelace – činností osteoblastů dochází v alkalickém prostředí k novotvorbě kosti, zatímco osteoklasty a kyselé pH jsou zapotřebí k odbourávání kostní tkáně. Tyto procesy nabývají maximální intenzity v době růstu a při opravě poškození, určitý stupeň aktivity je však nezbytný k udržení funkční mineralizované tkáně i v klidovém stadiu. Zásadním faktorem, rozhodujícím o ukládání anorganické komponenty, je tvorba organické kostní matrix, složené z kolagenu I a nekolagenní složky, tvořené řadou specializovaných proteinů. Regulace je zajištěna komplikovanou souhrou systémových i lokálně působících faktorů.

ANORGANICKÁ SLOŽKA KOSTI

Dodává kosti především schopnost odolávat tlakům. V podmínkách lidského organismu představuje krystalický kalcium hydroxyapatit (CaHA) termodynamicky nejstabilnější formu fosforečnanu vápenatého, nejprve se však tvoří v podobě amorfního kalcium fosfátu ACP, který je stálý při pH nad 8. Markerem jeho vzniku je aktivita alkalické fosfatázy. Mechanismus vzniku ACP a jeho přeměny na hydroxyapatit není detailně prozkoumán – spouštěcím momentem precipitace ACP je přítomnost nukleárních jader. Tuto funkci mají membránové měchýřky (matrix vesicles), které se při enchondrální osifikaci tvoří pučením z chondrocytů, a dále specializované proteiny, zejm. osteonektin, osteopontin aj. Transformace ACP do CaHA a další růst krystalů probíhá v alkalickém pH a v nadbytku kalcia a fosfátu nejspíše spontánně (autokatalytický proces) [56]. Osteoklasty se orientují kartáčovým lemem k povrchu kostěných lamel a vytvářejí tak izolovaný mikrokompartiment, v němž je činností karboanhydrázy udržováno kyselé pH. Za těchto podmínek dochází k narušení integrity krystalů CaHA, vzniklé fragmenty jsou pohlceny osteoklastem a po další degradaci vylučovány do cirkulace [57].

KOLAGEN I

Představuje 90% organické kostní matrix, má helikální strukturu tvořenou třemi řetězci (2 řetězce typu $\alpha 1$ a 1 řetězec typu $\alpha 2$). Převládajícími aminokyselinami jsou glycin a prolin, kolagen I však po syntéze prochází řadou enzymatických úprav – zejména hydroxylyací prolinu. Tato modifikace je pro kostní tkáň natolik specifická, že stanovení odpadu hydroxyprolinu lze použít pro měření kostní resorpce. Před začleněním do vláknité struktury kostní matrix dochází k enzymatickému odštěpení koncových částí řetězců – oba propeptidy (N-terminální a C-terminální, PINP a PICP) mohou sloužit jako markery novotvoření kosti. Syntéza kolagenu je dokončena tvorbou kolagenních můstků (cross-links) mezi jednotlivými molekulami kolagenu i v rámci triplexů. Tyto finální úpravy dodávají kolagenu maximální pevnost v tahu [58].

NEKOLAGENNÍ SLOŽKY ORGANICKÉ KOSTNÍ MATRIX

OSTEONEKTIN a FIBRONEKTIN tvoří významnou složku nekolagenní kostní matrix, jejich exprese je však patrná ve většině mezenchymálních tkání a jejich funkce se tedy neomezuje na tvorbu kosti. Fibronektin je významný regulátor buněčné proliferace a diferenciaci,

v myším modelu jeho nedostatek vede k porušení časného vývoje [59]. Osteonektin vykazuje silnou afinitu ke kostnímu minerálu a kolagenu I, podílí se zřejmě na spuštění (nukleaci) mineralizace – transgenní myši s deficitem produkce osteonektinu mají silně osteoporotický skelet [60].

Významnou roli v regulaci mineralizace hrají proteiny obsahující zbytky kyseliny karboxyglutamové (Gla), zejména OSTEOKALCIN (OCN) a MATRIX GLA PROTEIN (MGP), jejichž funkce závisí na vitamínu K. Zatímco MGP je důležitým inhibítozem kalcifikace (jeho deficit ve zvířecím modelu nebrání mineralizaci, vede však k extenzivním cévním kalcifikacím), osteokalcin zajišťuje optimální mikroarchitekturu kostního minerálu – v myším knock-out modelu je možné prokázat sníženou kvalitu kosti při normální mineralizaci [61].

OSTEOPONTIN (OPN) a BONE SIALOPROTEIN (BSP) patří mezi tzv. siblings (small integrin-binding ligand, N-linked glycoproteins), proteiny příbuzné struktury s typickou vazbou kyselých, bohatě fosforylovaných cukerných řetězců obsahujících sialovou kyselinu. Myši s deficitem těchto proteinů mají dobře mineralizovaný skelet, který je však rezistentní k resorpci indukované inaktivitou, PTH a poklesem estrogenní stimulace. Předpokládá se proto, že jsou spojujícím článkem mezi tvorbou a resorpcí kosti, nutným pro remodelaci [62].

REGULACE AKTIVITY OSTEOLASTŮ A OSTEOKLASTŮ

Diferenciace mezenchymálních prekursorů do OSTEOLASTŮ, tedy buněk exprimujících kolagen I a nekolagenní kostní proteiny je spouštěna transkripčním faktorem Cbfa/Runx2. Transgenní myši s deficitem tohoto proteinu se rodí zcela bez kostí [63].

OSTEOKLASTY jsou vícejaderní buňky monocyto-makrofágní linie zajišťující resorpci kosti a spouštějící remodelaci, tedy obnovu již vytvořené kostní tkáně v dospělosti. Činností osteoklastů za fyziologických podmínek dochází k erozi kostních trámčů pouze do hloubky cca 60 μm . Vzniklé defekty jsou vzápětí pokryty vrstvou osteoblastů, které na zachovanou vrstvu kosti migrují z okolí a začíná depozice nové kosti. Nedochozí tedy k úplné destrukci kostních trabekul – ta však nastává v rámci patologických stavů, zejména při akutním a chronickém zánětu nebo osteoporóze [64].

Regulace osteoklastogeneze je zajištěna systémem OSTEOPROTEGERIN (OPG) – RANKL (receptor activator NF- κ B ligand). Diferenciace osteoklastů z buněk monocytární řady je zahájena působením M-CSF (macrophage-colony stimulating factor), pod jehož vlivem buňky exprimují membránový receptor RANK. Další maturaci a aktivitu osteoklastů stimuluje RANKL, protein z rodiny TNF. Zralé osteoklasty vytvářejí na pólu přiléhajícím ke kostnímu trámcí kartáčový lem a do vzniklého mikrokompartmentu vylučují kyselinu chlorovodíkovou, metaloproteinázy a další enzymy [65]. OPG funguje jako solubilní (decoy) receptor, který vyváže osteoblasty secernovaný RANKL a blokuje tak osteoklastogenezi.

Na hormonální regulaci systému OPG/RANKL se podílí PARATHORMON (PTH), který indukuje sekreci RANKL. Parathormon však má na kost rovněž významný anabolický efekt. Ten je přítomen zejména při pulzní sekreci PTH, zatímco při trvale zvýšené hladině převládá stimulace resorpce. Uvolňování PTH z příštítných tělísek vykazuje kolísání sezónní,

cirkadiánní a ultradiánní. Mechanismus a biologický význam této variability není plně objasněn, anabolické působení intermitentně podávaného rekombinantního PTH (teriparatide) se však využívá terapeuticky (léčba osteoporózy) [66].

1.3.4. KLASIFIKACE RENÁLNÍ OSTEODYSTROFIE

Poškození skeletu u pacientů s terminálním selháním ledvin má tedy komplexní charakter, kromě typických změn vyvolaných vysokým obratem (hyperparathyreóza) se významně podílí i atrofie (nízký obrat) v důsledku hormonální dysfunkce, analogicky k běžné populaci. Postižení kosti v důsledku hyperparathyreózy je však významně nehomogenní – kromě dekalifikace dochází i k rozvoji sklerózy, především trabekulární [67]. V porovnání s klasickou koncepcí difúzní demineralizace při osteoporóze (kterou lze postihnout měřením celkového obsahu minerální komponenty) zde tedy hraje významnou roli i distribuce hydroxyapatitu a změny mikroarchitektury kosti. Identifikovat přesně podíl jednotlivých mechanismů nelze ani pomocí kostní biopsie se značením tetracyklinem a standardní denzitometrie může být zcela zavádějící.

VYSOKOBRATOVÁ KOSTNÍ CHOROBA (HTBD)

Je spojena se sekundárním hyperparatyreoidismem, který se rozvíjí v důsledku retence fosfátu a poklesu hydroxylace vitamínu D v proximálním tubulu. Ke ztrátě kostního minerálu dochází především v oblasti lamelární kosti, nejvíce postižené jsou proto kosti s převládající kompaktní, tzn. apendikulární skelet (subperiostální usurace falang jsou patrné na prostých snímcích a sloužily dříve k diagnostice). Výskyt extrémních forem vysokoobratové kostní choroby klesá s dostupností účinné léčby, zejména substituce aktivních metabolitů vitamínu D, vazačů fosfátů a kalcimimetik.

ADYNAMICKÁ KOSTNÍ CHOROBA (ABD)

V klasické formě je spojena s chronickou intoxikací aluminím, zejména v důsledku léčby preparáty obsahujícími hliník (antacida, vazače fosfátů). Současně s poklesem výskytu HTBD dochází k nárůstu prevalence této jednotky, ovšem bez nálezů depozit aluminia v biopsii resp. bez průkazu desferalovým testem. Rizikovým faktorem pro vznik této formy je starší věk, diabetes, léčba peritoneální dialýzou resp. vysoká kumulativní dávka analogů vitamínu D. Důsledky ABD pro pevnost kostí nejsou jednoznačně prokázány, podle převládajícího názoru se jedná o benigní onemocnění, v podstatě žádoucí výsledek léčby HTBD [68]. Diagnóza ABD je obtížná – pozitivní predikční hodnota hladiny PTH je relativně nízká zejména ve smyslu diskriminace mezi ABD a smíšenou osteodystrofií (tabulka 4). Významným důsledkem ABD je však nízká pufrovací kapacita kosti v situaci zvýšeného kalcium-fosfátového součinu. Proto jsou pacienti s ABD predisponováni k rozvoji cévních kalcifikací [69].

OSTEOMALÁCIE (OM) A SMÍŠENÁ OSTEODYSTROFIE (MOD)

Osteomalácie je dalším typem nízkoobratové kostní choroby, vzniká především v důsledku deficitu vitamínu D, zčásti vlivem acidózy. Vzhledem k dostupnosti analogů vitamínu D se dnes v čisté formě prakticky nevyskytuje – většinou se kombinuje s HTBD. Výsledný efekt na skelet se označuje jako smíšená osteodystrofie.

1.4. DIAGNOSTICKÉ MOŽNOSTI

Při posuzování stupně kalcifikace se nejčastěji využívá schopnost kalcium hydroxyapatitu pohlcovat resp. odrážet ionizující záření. Je možné zjišťovat přítomnost a rozsah kalcifikace nebo měřit relativní hustotu (denzitu) tkáně na základě zeslabení procházejícího paprsku. Pro absolutní kvantifikaci obsahu kalcium hydroxyapatitu (v mg na objemovou jednotku) je třeba současně exponovat standard se známým obsahem hydroxyapatitu.

1.4.1. METODY MĚŘENÍ CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ:

MĚŘENÍ IN VIVO

Z LATERÁLNÍHO RADIOGRAMU aorty lze s použitím semikvantitativní škály odečítat stupeň kalcifikací v jednotlivých segmentech. Vyšetření je jednoduché, minimálně zatěžující a přitom dostatečně reprodukovatelné a poskytuje snadno dostupnou informaci o rozsahu subklinické aterosklerozy [70].

ULTRASONOGRAFIE (B-mode) je dobře dostupná, neinvazivní metoda, dovolující hrubé rozlišení lipidových (nízká echogenita) a kalcifikovaných (vysoká echogenita, akustický stín) aterosklerotických plátů. Nicméně tento přístup nedovoluje spolehlivě měřit velikost plátů a stupeň kalcifikace a neumožňuje jednoznačně odlišit intimální a mediální kalcifikace. Kvantitativním parametrem je poměr tloušťky intimy a média měřený v oblasti velkých cév (karotidy) [71].

Tyto nevýhody odstraňuje (za cenu invazivity a sofistikovaného instrumentaria) INTRAVASKULÁRNÍ SONOGRAFIE (IVUS). Díky vysokému rozlišení, dosaženému umístěním sondy přímo v cévním lumen, umožňuje velmi přesně posoudit distribuci a množství CaHA v cévní stěně, resp. klasifikovat typy aterosklerotických plátů [71].

Při klasické VÝPOČETNÍ TOMOGRAFII (CT) neprobíhá skenování tak rychle, aby bylo možné pořídit snímky pohybujících se objektů, např. koronárního řečiště, tato nevýhoda je odstraněna u electron beam CT (EBCT). Tato technologie dovoluje pomocí pole RTG paprsků s rotujícím vektorem, indukovaných svazkem elektronů, velice rychlé snímání obrazu bijícího srdce. Přesto je současně nutné synchronizovat skenování se srdečním cyklem pomocí EKG (ECG-triggering). Vzhledem k nákladnosti zařízení pro EBCT (které není navíc vhodné pro standardní tomografie) byly hledány alternativní postupy měření stupně kalcifikace – optimálním řešením je multidetektorový spirální CT s možností EKG synchronizace (ECG-gating). Kalcifikace velkých cév je možné detekovat a kvantifikovat i běžným CT, při snímání koronárního řečiště je skenování prováděno pouze v jedné fázi srdečního cyklu a výsledný obraz se skládá z dílčích snímků pořízených v průběhu několika cyklů (obrázek 2B). Nevýhodou je vyšší radiační zátěž pro pacienta v porovnání s EBCT. Výsledek lze v obou případech vyjádřit různým způsobem: skóre kalcifikace, Agatstonovo skóre, objem a masa kalcifikací [72].

MAGNETICKÁ REZONANCE je vhodná k rozlišení plaků různého složení – např. komponenty fibrózní, lipidové nebo trombu. Kalcifikace se jeví v klasických MR obrazech jako černá, takže je obtížně odlišitelná od lumen cévy [71].

MĚŘENÍ EX VIVO

je čistě vědecká aplikace, nicméně, protože žádná doporučení na úpravu léčby podle stupně kalcifikací neexistují, je in vivo diagnostika v současnosti rovněž pouze předmětem výzkumu.

MIKRO-CT pracuje na stejném principu jako klasická CT, nabízí však v redukováném prostoru mnohonásobně lepší rozlišení (20 μ m), takže pořizuje 3-rozměrné obrazy na mikroskopické úrovni. Kalibrace pomocí standardu dovoluje přesnou a absolutní kvantifikaci kalcium hydroxyapatitu [71].

Rovněž MAGNETICKÁ REZONANCE aplikovaná na vypreparované cévy dosahuje za použití kovových prstenců (cívek) přiložených k cévě výrazně lepšího rozlišení.

³¹P MR SPEKTROSKOPIE je založena na odlišných fyzikálních vlastnostech anorganického fosforu v molekule hydroxyapatitu a fosforylovaných organických metabolitů v měkkých tkáních. Po kalibraci umožňuje tato metoda velmi přesně změřit množství hydroxyapatitu v kostní nebo cévní tkáni[71].

CHEMICKÁ ANALÝZA pomocí atomové adsorpční spektrometrie je velmi přesná a citlivá (v řádu ppm), je však spojena s destrukcí vzorku – emisní spektra atomů jsou získána po jejich excitaci v plameni.

1.4.2. METODY MĚŘENÍ KOSTNÍ DENZITY

DVOUFOTONOVÁ ABSORPCE (Dual photon absorptiometry, DPA) využívá jako zdroje záření radioaktivní izotop a měří absorpci při průchodu tkáněmi. Aplikace dvou vlnových délek je nezbytná, aby bylo možné eliminovat vliv různé tloušťky měkkých tkání (rozdílná absorpce v závislosti na vlnové délce záření). Kromě obecných nevýhod projekčních metod je nutné brát v úvahu klesající aktivitu zářiče [73].

DUÁLNÍ RENTGENOVÁ ABSORPCE (Dual X-ray absorptiometry, DXA) – na rozdíl od předchozí metody je měřena adsorpce rentgenového záření o dvou různých energiích. DXA je v současnosti převládajícím způsobem měření pevnosti kostí. Výsledná hodnota minerální kostní denzity (BMD) je dána sumací hustoty lamelární a spongiózní kosti (projekční metoda), resp. závisí na poměru obou typů kostní tkáně v místě měření [73].

KVANTITATIVNÍ CT (qCT) měří přímo denzitu vybraného objemu kostní tkáně (volumetrická metoda). Současně se skenováním pacienta se provádí snímání fantomu obsahujícího vzorky hydroxyapatitu o standardní hustotě, takže je možné převést výslednou hodnotu z Hounsfieldových jednotek (HU) na koncentraci hydroxyapatitu v mg/ml [74].

Periferní části končetin, lze zobrazit MAGNETICKOU REZONANCÍ S VYSOKÝM ROZLIŠENÍM (HRMR) – příznivý poměr signálu a šumu (signal to noise ratio) zde dovoluje zobrazit jednotlivé trabekuly a posoudit mikroarchitekturu kosti [75].

V oblasti kosti patní je možné měřit denzitu ULTRASONOGRAFICKY, výhodou je především nulová radiační zátěž a snadná dostupnost metody, do jisté míry odráží i funkční vlastnosti kosti (elasticitu) [73].

1.4.3. BIOCHEMICKÉ PARAMETRY KALCIUM-FOSFÁTOVÉHO METABOLISMU

Ideální marker remodelace kosti v terénu renální dysfunkce není znám – hodnota mnohých laboratorních metod, používaných s úspěchem v obecné populaci, je při selhání ledvin omezena v důsledku kumulace stanovované látky nebo jejích metabolitů. Podle současného stavu poznání by hladina parathormonu (PTH) měla být považována za parametr funkce příštítných tělísek, nikoli kostního obratu [76]. Slabá korelace mezi sérovou koncentrací PTH v relativně široké šedé zóně a typem renální osteodystrofie byla dobře dokumentována srovnáním s histomorfometrickými parametry (tabulka 4). Nejlepší senzitivity při posuzování remodelace (především novotvorby) kosti je dosahováno pomocí kostního izoenzymu alkalické fosfatázy [77]. Původní předpoklad o těsném spřažení resorpce a novotvorby kosti u renální osteodystrofie byl v posledních letech zpochybněn, narůstá tedy potřeba měřit nezávisle rovněž rychlost resorpce. Nadějným markerem kostní resorpce je sérová koncentrace deoxypyridinolinu, vzhledem k nízkým hladinám (v porovnání se standardním měřením v moči) je však nutné vyvinout dostatečně přesné metody jeho stanovení [76].

TVORBA KOSTI

Celková ALKALICKÁ FOSFATÁZA (ALP) a její kostní izoenzym (BAP) jsou velmi spolehlivým markerem novotvorby kosti. Vzhledem k molekulové hmotnosti 80kDa nejsou eliminovány renálně a lze je tedy bez omezení použít i při selhání ledvin. BAP je produkována pouze osteoblasty a její hladina závisí na celkovém množství osteoblastů a rychlosti jejich degradace. BAP katalyzuje hydrolýzu esterů kyseliny fosforečné a podporuje mineralizaci štěpením pyrofosfátů a tkáňových inhibitorů kalcifikace [78].

Hlavním nekolagenním proteinem kostní matrix je OSTEOKALCIN (OC) patřící do rodiny Gla proteinů, tzn. obsahuje zbytky kyseliny γ -karboxyglutamové. Produkce funkčního osteokalcinu je proto dependentní na vitamínu K. Jediným zdrojem OC jsou osteoblasty a jeho produkce je kontrolována vitamínem D. Použitelnost OC při selhání ledvin je omezena v důsledku retence řady fragmentů a nejasnému významu dekarboxylovaných forem [79].

Štěpením prekurzoru kolagenu I, tj. prokolagenu I, se v okamžiku inkorporace do kostní matrix uvolňuje C-TERMINÁLNÍ PROPETID PROKOLAGENU I (PICP). Vzhledem k vysoké molekulární hmotnosti kolem 100kDa je eliminován výhradně extrarenálně (jaterním metabolismem), přesto mají pacienti s terminálním selháním ledvin významně zvýšenou sérovou hladinu. Použitelnost PICP pro posouzení kostního obratu při renální osteodystrofii nebyla zatím ověřena [80].

RESORPCE KOSTI

TARTARÁT-REZISTENTNÍ KYSELÁ FOSFATÁZA (TRAP) je lyzozomální enzym produkový osteoklasty, který defosforyluje řadu nekolagenních proteinů kostní matrix, např. osteopontin nebo kostní sialoprotein. Její sérová hladina koreluje s počtem osteoklastů a

plochou erodovaného kostního povrchu. Její význam u pacientů se selháním ledvin je však nejasný [81].

Pevnost kosti v tahu je zajištěna propojením řetězců kolagenu I (cross-links), prostřednictvím metamorfovaných zbytků lyzinu. Jejich hydroxylací, deaminací a kondenzací vzniká PYRIDINOLIN (PYD) a DEOXYPYRIDINOLIN (DPD). Tyto molekuly nemohou být po štěpení kolagenu recyklovány a nejsou vstřebávány ve střevě, takže jejich produkce charakterizuje resorpci kosti, resp. metabolismus kolagenní složky organické kostní matrix. Vzhledem k malé molekule jsou PYD i DPD volně filtrovány v glomerulech a jejich hodnota u pacientů s renální dysfunkcí je pravděpodobně limitována [82].

C-TERMINÁLNÍ TELOPEPTID KOLAGENU I (ICTP) je malá molekula (9kDa) tvořená několika aminokyselinami (včetně DYP a DPD), vznikající při štěpení zralého kolagenu I v průběhu resorpce kosti. Jako molekula volně procházející glomerulární membránou se ICTP kumuluje při poruše funkce ledvin a pro diagnostiku renální osteodystrofie není v současnosti používán [83].

OSTATNÍ

Třebaže je INTAKTNÍ PARATHORMON často užíván jako jediné kritérium kostního obratu, jedná se především o parametr sekreční aktivity příštítných tělísek a nevypovídá přímo o metabolismu kosti. Uremická kost vykazuje významnou rezistenci k parathormonu, navíc většina kitů pro měření hladiny intaktního parathormonu stanovuje současně i některé jeho metabolity. Nejvýznamnější je 7-84 fragment PTH, který funguje jako kompetitivní inhibitor receptoru pro PTH [84].

OSTEOPROTEGERIN (OPG) je solubilní „decoy“ receptor, který vyvázáním ligandu (receptor activator of nuclear factor κ B, RANKL) blokuje diferenciaci a zrání osteoklastů a tím resorpci kosti. Produkce OPG osteoblasty závisí na stimulaci estrogenu, vitaminem D a PTH. U pacientů se selháním ledvin je sérová hladina OPG zvýšená a koreluje negativně s hladinou PTH a histomorfometrickými parametry kostní resorpce. V kombinaci se sníženým PTH zpřesňuje diagnózu adynamické kostní choroby [85].

1.4.4. SYSTÉMY PRO SKÓROVÁNÍ CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ

Klinický význam měření cévních kalcifikací je předmětem diskuzí, vzhledem k nevyjasněnému vztahu mezi vznikem kalcifikací a komplikací aterosklerózy, je v současnosti detekce kalcifikací přijímána pouze jako „surrogate marker“ aterosklerózy.

AGATSTONOVO SKÓRE (AS) je rovno součinu plochy kalcifikace a vážené intenzity signálu (SIS) odvozené od maximální atenuace signálu v Hounsfieldových jednotkách (HU_{max}). Agatstonovo skóre má aditivní charakter, tj. lze sčítat např. skóre jednotlivých plátů v rámci studované cévy.

$$AS = SIS \times A \text{ [AU]}$$

$$SIS = 1 \text{ je-li } 130HU < HU_{max} < 200HU$$

$$SIS = 2 \text{ je-li } 200HU < HU_{max} < 300HU$$

$$SIS = 3 \text{ je-li } 300HU < HU_{max} < 400HU$$

$$SIS = 4 \text{ je-li } 400HU < HU_{max}$$

SKÓRE OBJEMU KALCIFIKACÍ (VS) je rovno součinu počtu (VX_n) objemových jednotek (voxel) s atenuací větší než 90HU (prahová atenuace kalcifikované tkáně) a objemu (VX_v) jednotky.

$$VS = VX_n \times VX_v$$

MODIFIKOVANÉ AGATSTONOVO SKÓRE (AS_m) je rovno součinu průměrné atenuace všech pixelů s atenuací větší než 90 HU (CT_{mean}) a objemu kalcifikované léze (V).

$$AS_m = CT_{mean} \times V \text{ [AU]}$$

HMOTNOST HYDROXYAPATITU (mineral mass, MM) je odvozena z objemového skóre pomocí změřené atenuace ($HU_{mean \text{ HA}}$) standardu (fantomu) se známou denzitou (δ_{HA}) hydroxyapatitu.

$$MM = \frac{\delta_{HA} \times HU_{mean}}{HU_{meanHA} \times V} \text{ [mg CaHA]}$$

1.4.5. PARAMETRY POSOUZENÍ KOSTNÍHO MINERÁLU

Měření obsahu kostního minerálu (bone mineral content, BMC) je v současnosti hlavním diagnostickým kritériem osteoporózy – podle definice WHO z roku 1994 je osteopénie v souboru kavkazských žen vymezena rozsahem BMD 1.0 až 2.5 směrodatných odchylek (SD) a osteoporóza BMC více než 2.5 SD pod průměrem mladé populace [86]. Definice vychází z premisy, že se jedná o systémové postižení skeletu a předpokládá, že výsledek bude nezávislý na místě měření (nejčastěji se provádí v oblasti bederní páteře a krčku femuru). Rovněž není jednoznačně určena metoda měření, ve vztahu k riziku patologických fraktur je nejspolehlivěji ověřena predikce pomocí DXA. Metodika posuzování rizika fraktur pomocí BMC byla vyvinuta pro relativně homogenní populaci, ve které se jako hlavní

etiologický faktor uplatňuje nízký kostní obrat v důsledku poklesu estrogenní stimulace. Přenositelnost závěrů na soubor pacientů s renální osteodystrofií je proto diskutabilní a skutečně také v praxi selhává.

T-SKÓRE je definováno jako poměr rozdílu kostní denzity vyšetřované osoby (BMD_{actual}) a průměrné denzity souboru mladých osob téhož pohlaví (BMD_{max} , vrcholová kostní denzita v populaci), a standardní odchylky v souboru mladých osob (SD_{max}).

$$T - score = \frac{BMD_{actual} - BMD_{max}}{SD_{max}}$$

Z-SKÓRE je definováno jako poměr rozdílu kostní denzity vyšetřované osoby (BMD_{actual}) a průměrné denzity souboru osob téhož věku pohlaví ($BMD_{average}$) a standardní odchylky v souboru osob téhož věku a pohlaví ($SD_{average}$).

$$Z - score = \frac{BMD_{actual} - BMD_{average}}{SD_{average}}$$

V případě měření qCT má fyzikální smysl i přímé vyjádření pomocí MINERÁLNÍ KOSTNÍ DENZITY v miligramech hydroxyapatitu na objemovou jednotku kostní tkáně, resp. separátní denzita kortikální a trabekulární kosti [87].

1.5. KLINICKÉ SOUVISLOSTI

Rovněž v obecné populaci jsou cévní kalcifikace a kostní demineralizace významným zdrojem morbidit a mortality. Výskyt obou komplikací narůstá s věkem a jsou někdy považovány za nevyhnutelné průvodní jevy stárnutí. Z analýz epidemiologických dat však vyplývá, že vztah přetrvává i po korekci na potenciální kauzální faktory. Zdá se proto, že mezi oběma stavy existuje souvislost, nikoli pouze koincidence [88].

1.5.1. OBECNÁ POPULACE

Většina studií nachází negativní korelaci mezi kostní denzitou a kalcifikacemi aorty a velkých cév dolních končetin v populaci postmenopauzálních žen.

V rámci Rotterdamské studie hodnotil VAN DER KLIFT [89] vztah mezi BMD v oblasti bederní páteře a krčku femuru (DXA) a ischemickou chorobou dolních končetin (hodnoceno jako poměr kotníkového tlaku a tlaku na paži) v souboru 5268 osob. Po korekci na věk zjistil zvýšené riziko ischemické choroby u žen s nízkou BMD krčku femuru (OR 1.49, CI 95% 1.16-1.91). Korelace nebyla přítomna mezi muži a v oblasti bederní páteře. I po korekci na další faktory (body mass index, systolický tlak, historii kouření, hladinu cholesterolu a stupeň mobility), tento vztah přetrvával (OR 1.35). Autoři spekulují o vlivu poklesu estrogenní stimulace na obě choroby, jakoukoli kauzální souvislost považují za nepravděpodobnou, nicméně stratifikace souboru podle délky menopauzy nepřinesla další informace. Chybění vztahu v případě BMD páteře vysvětlují interferencí kalcifikací aorty při projekční metodě měření BMD.

TANKO [90] vyšetřil u 963 postmenopauzálních žen BMD v různých lokalizacích (rádius, bederní páteř, krček femuru) pomocí DXA a koreloval výsledky s kalcifikacemi aorty odečtenými z laterálního radiogramu. Zjistil, že po korekci na věk souvisí kostní denzita krčku femuru se stupněm aortálních kalcifikací ($r = -0.12$ až -0.17 , $p < 0.001$). Z dalších faktorů se u kalcifikací i poklesu BMD uplatnila délka menopauzy, body mass index, historie kouření a fyzická aktivita. V multivariační analýze se však potvrdil nezávislý vztah aortálních kalcifikací a osteopénie krčku femuru ($\beta = -0.1$, $p = 0.004$). Anamnéza klaudikací (a tedy možné poruchy krevního zásobení) rovněž nebyla významná. Autoři navíc zjistili zvláště výrazný pokles BMD u osob se symptomatickou koronární ischemií a domnívají se, že cévní kalcifikace a úbytek kostní hmoty sdílejí některé patofyziologické mechanismy.

SCHULZ [91] zkoumal vztah mezi kalcifikacemi aorty (měřeno v transverzálních projekcích CT snímků) a BMD (CT metoda, bez použití kalibračního standardu) v souboru 2348 postmenopauzálních žen. Zjistil, že stupeň kalcifikací aorty negativně koreluje s BMD – po adjustaci na věk a další faktory (délka menopauzy, body mass index, systolický tlak a fyzickou aktivitu) bylo 26% ($p < 0.001$) variability kostní denzity predikováno stupněm aortálních kalcifikací. Kromě toho, ženy s kalcifikacemi aorty měly 4.8krát vyšší riziko prevalentních fraktur obratlů (95% CI 3.6 – 6.5). V podskupině 228 žen byla provedena ještě

longitudinální analýza, která prokázala pokles BMD predikovaný z 47% ($p < 0.001$) nárůstem kalcifikací aorty.

PENNISI [92] našel u 36 pacientů s pokročilou aterosklerózou končetinových tepen a/nebo karotid významné snížení BMD bederní páteře a krčku femuru. Tento rozdíl v multivariační analýze nesouvisel s věkem, pohlavím ani přítomností diabetu. Oproti kontrolám měli pacienti s aterosklerózou nižší sérovou koncentraci kostního izoenzymu alkalické fosfatázy a osteokalcinu, nelišili se však v hladině osteoprotegerinu a RANKL. Autoři na základě výsledků předpokládají, že pokles kostní denzity v subpopulaci pacientů se symptomatickou aterosklerózou je důsledkem nedostatečné novotvorby kosti, nikoli zvýšené resorpce.

BAGGER [93] vyšetřil prospektivně v souboru 2662 postmenopauzálních žen aortální kalcifikace (odečteno z laterálních radiogramů bederní oblasti) a BMD bederní páteře a krčku femuru (DXA). Již na počátku studie měly osoby s kalcifikacemi aorty nezávisle na věku a body mass indexu nižší BMD femuru i bederní páteře. V průběhu sledování (7.5 roku) došlo v oblasti krčku femuru k dalšímu poklesu BMD provázenému nárůstem aortálních kalcifikací, zatímco v oblasti bederní páteře byl zaznamenán přírůstek BMD. Multivariační analýzou výskytu fraktur krčku femuru byl jako nezávislý prediktor identifikován věk (RR 0.9, 95% CI 0.8-1.0, $p=0.03$), body mass index (RR 1.1, 95% CI 1.0-1.2, $p=0.02$) a zejména kalcifikace aorty (RR 2.3, OR 1.1-4.8, $p=0.3$). Jako nevýznamné se ukázaly tyto faktory: délka menopauzy, fyzická aktivita, hyperlipidémie, diabetes, kouření a hypertenze.

FARHAT [94] provedl podrobnou analýzu kostní mineralizace u 1489 mužů a žen – měřena byla denzita krčku femuru projekční metodou (DXA) a separátně denzita kortikální a trabekulární kosti bederních obratlů. Zároveň byla odebrána anamnéza kardiovaskulárních onemocnění a měřením kotníkových tlaků zjištěna diagnóza subklinické ischemické choroby dolních končetin. BMD páteře souvisela u mužů i žen s přítomností kardiovaskulárního onemocnění (OR 1.34, 95% CI 1.1-1.63). U žen byla navíc přítomna i korelace s denzitou krčku femuru. Ischemická choroba dolních končetin pak souvisela s BMD krčku femuru pouze u mužů. Všechny výsledky byly nezávislé na věku a společných rizikových faktorech aterosklerózy a osteoporózy (včetně hladiny prozánětlivých cytokinů TNF- α a IL-6).

Naproti tomu AOYAGI [95] neprokázal v souboru 524 žen japonské národnosti významnou souvislost mezi aortálními kalcifikacemi (odečteno z laterálního radiogramu) a kostní denzitou kalkanea, distální a proximální třetinou rádia (měřeno DPA). Neadjustované BMD ve všech lokalizacích bylo sice u žen s aterosklerózou nižší, po kalkulaci věku však tento rozdíl vymizel. V multivariační analýze se jako významné faktory predikující kalcifikace ukázaly věk, systolický tlak, kouření a fyzická aktivita. Autoři se domnívají, že vztah mezi osteoporózou a cévními kalcifikacemi není dostatečně doložen. Metodickým nedostatkem této práce je zejména volba nestandardních míst pro měření BMD (s převládající kortikální kostí) a použití obsoletní metody (DPA).

1.5.2. PACIENTI S CHRONICKÝM SELHÁNÍM LEDVIN

Počet studií zabývajících se tímto problémem je velmi omezený, výsledky kontroverzní, téma nebylo řešeno komplexně a s použitím optimální metodiky.

NAKASHIMA [96] zkoumal vztah kostní denzity (DXA v oblasti distální třetiny rádia) a aterosklerózy karotických tepen (poměr intima/médie, IMT) u 83 pacientů léčených hemodialýzou. Nálezem byla negativní korelace mezi IMT a BMD ($r=-0.25$, $p<0.01$), multivariační analýzou byly jako nezávislé faktory poklesu BMD potvrzeny ještě délka náhrady funkce ledvin a hladina PTH. Podle autorů proto souvisí oba procesy kauzálně se sekundární hyperparathyreózou

LONDON [69] vyšetřil korelace mezi přítomností kalcifikací karotid, femorálních tepen a aorty (vyšetřeno ultrasonograficky) a histomorfometrickým nálezem v kostní biopsii v souboru 58 nemocných léčených hemodialýzou. Zjistil inverzní vztah mezi skóre kalcifikací a parametry charakterizujícími kostní obrat, tj. iPTH, počtem osteoklastů a plochou osteoblastů. Pacienti s větším rozsahem kalcifikací měli častěji známky adynamické kostní choroby (včetně depozice alumina)

RAGGI [97] měřil v souboru 149 hemodialyzovaných pacientů rychlost pulzní vlny, skóre koronárních kalcifikací a hrudní aorty (electron-beam CT) a bederní aorty (laterální radiogram) a konečně BMD bederní páteře jak projekční metodou (DXA), tak trabekulární denzitu pomocí kvantitativního CT (qCT). Byla prokázána negativní korelace mezi kostní denzitou měřenou qCT a rychlostí pulzní vlny. Žádný vztah naproti tomu nebyl zjištěn mezi BMD měřenou pomocí DXA. Koronární kalcifikace nesouvisely se žádným z měřených parametrů, skóre aortální kalcifikace korelovalo pouze s qCT denzitou.

2. ORIGINÁLNÍ PRÁCE

2.1. CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem výzkumu bylo posouzení stupně kostní demineralizace a cévních kalcifikací, jejich vývoje, klinických konsekvencí a vzájemných souvislostí mezi oběma stavy v populaci pacientů s chronickým selháním ledvin.

Dílčí cíle byly následující:

1. posouzení minerální kostní denzity u pacientů léčených ambulantní peritoneální dialýzou, srovnání s obecnou populací, zjištění korelací s rutinně stanovovanými biochemickými parametry kostního metabolismu a sledování vývoje v čase
2. zhodnocení minerální kostní denzity u pacientů léčených pravidelnou hemodialýzou, srovnání s obecnou populací, zjištění korelací s dostupnými biochemickými parametry kostního a kalcium-fosfátového metabolismu a sledování vývoje v čase
3. zjištění prevalence fraktur obratlů u nemocných léčených pravidelnou hemodialýzou, analýza souvislostí s biochemickými parametry kostního metabolismu a kostní denzitou
4. analýza použitelnosti a eventuálních výhod kvantitativní CT denzitometrie (a měření kortikální a trabekulární denzity) u pacientů s chronickým selháním ledvin
5. posouzení výskytu, rozsahu a intenzity různých typů cévních kalcifikací u nemocných (mužů i žen) léčených pravidelnou hemodialýzou, srovnání s kontrolními skupinami, zjištění korelací s dostupnými biochemickými parametry a sledování v čase
6. zhodnocení významu měření skóre koronárních kalcifikací pro odhad rizika ischemické choroby srdeční v populaci hemodialyzovaných nemocných
7. analýza souvislostí mezi cévními kalcifikacemi a minerální kostní denzitou u pacientů léčených hemodialýzou

2.2. PACIENTI A METODIKA

V rámci výzkumu kostní mineralizace, cévních kalcifikací a vztahů mezi těmito patologickými procesy při chronickém selhání ledvin byl vyšetřen soubor pacientů léčených peritoneální dialýzou, soubor hemodialyzovaných nemocných a dále dva kontrolní soubory – pacienti s pozitivním nálezem při selektivní koronarografii a pacienti s diabetes mellitus 2. typu. Pacienti byli vybíráni na hemodialyzačním středisku a v centru peritoneální dialýzy při I. interní klinice Fakultní nemocnice Plzeň, kontrolní soubory tvořili pacienti vyšetření na Radiodiagnostické klinice Lochotín v průběhu jiných klinických studií. Rutinní laboratorní metody byly prováděny Ústavem klinické biochemie a hematologie FN Plzeň a Oddělením nukleární medicíny Bory. Všechna zobrazovací vyšetření byla provedena na Radiodiagnostické klinice Lochotín s použitím spirálního multidetektorového CT skeneru Somatom Sensation 64 (Siemens, Forchheim, Německo). Celková efektivní dávka ionizujícího záření byla 0.87 mSv u mužů a 1.18 mSv u žen. Hodnocení byla prováděno nezávisle 2 radiology.

2.2.1. SOUBOR PACIENTŮ LÉČENÝCH PERITONEÁLNÍ DIALÝZOU

Vyšetřeno bylo nejprve průřezovým způsobem 32 pacientů léčených ambulantní peritoneální dialýzou (CAPD) na I. interní klinice. Zařazeni byli všichni nemocní aktuálně léčení v centru kromě pacientů s anamnézou parathyreoidektomie. S odstupem 22.5 (21.1-25) měsíců bylo vyšetřeno znovu 13 pacientů (10 pacientů zemřelo, 7 převedeno na hemodialýzu, 2 podstoupili transplantaci ledviny). Charakteristiky souboru jsou uvedeny v tabulce 5. Všichni pacienti prováděli výměny dialyzačním roztokem s koncentrací kalcia 1.75 mmol/l a byli léčení kalciovými vazači fosfátu resp. vitamínem D s cílem dosáhnout fyziologické kalcémie, fosfatémie do 1.8 mmol/l a hladiny PTH 100-200 pg/ml.

2.2.2. SOUBOR PACIENTŮ LÉČENÝCH HEMODIALÝZOU

Na začátku sledování bylo vyšetřeno 72 pacientů léčených hemodialýzou na I interní klinice FN Plzeň. Kritériem pro zařazení byla hemodialyzační léčba po dobu delší než 3 měsíce a podepsání informovaného souhlasu, vylučovacím kritériem byla předchozí léčba glukokortikoidem, anamnéza patologické fraktury a přítomnost onemocnění limitující očekávanou dobu života na méně než jeden rok nebo jaterní choroby. U pacientů byla kromě obvyklých somatometrických parametrů a demografických údajů zjištěna anamnéza ischemické choroby srdeční (ICHS). Za pozitivní byla považována diagnóza ICHS, pokud byla dokumentována pozitivním koronarografickým nálezem nebo jednoznačným vývojem EKG a/nebo kardiocifické laboratoře. Tyto údaje byly zjištěny retrospektivně z klinické databáze.

Po jednom roce bylo znovu vyšetřeno 53 pacientů (13 pacientů zemřelo, 4 podstoupili transplantaci ledviny a 2 odmítli další vyšetření). Demografická data souboru jsou uvedena v tabulce 6. V průběhu sledování byli pacienti léčeni v souladu s doporučeními NKF-DOQI (National Kidney Foundation – Dialysis Outcome Quality Initiative). Podávání vazačů fosfátů (kalcium karbonát, sevelamer), analogů vitamínu D (kalcitriol, α -kalcidiol) a koncentrace kalcia v dialyzačním roztoku byla monitorována v průběhu celé studie. Všechny použité zobrazovací metody (měření minerální kostní denzity, skóre koronárních kalcifikací, kalcifikací aorty a splachnických tepen) byly provedeny v rámci jednoho CT vyšetření na počátku a na konci sledování.

2.2.3. KONTROLNÍ SOUBORY

Jako kontrolní soubor (A) se symptomatickou koronární aterosklerózou (akutní koronární syndrom, angina pectoris) bylo vyšetřeno 64 pacientů s pozitivním nálezem při selektivní koronarografii, kteří podstoupili koronární intervenci na I.IK. Jako soubor (B) s vysokým rizikem koronární aterosklerózy, ale dosud asymptomatickým průběhem bylo vyšetřeno 96 pacientů, kteří se účastnili studie sledující výskyt chlopenních kalcifikací u diabetiků 2. typu. Demografická data obou skupin jsou uvedena v tabulce 7. Jako populační průměry pro výpočet T a z -skóre byla použita retrospektivní data získaná v průběhu rutinního vyšetřování velkých souborů zdravých osob a doporučená pro středoevropskou populaci.

2.2.4. ETICKÉ A LEGÁLNÍ ASPEKTY STUDIÍ

Klinické studie byly schváleny etickou komisí při Fakultní nemocnici Plzeň.

2.2.5. LABORATORNÍ METODY

U všech pacientů bylo provedeno vyšetření krevního obrazu, sérového natria, kalia, chloridů, celkové bílkoviny, albuminu, celkové alkalické fosfatázy, C-reaktivního proteinu (CRP) a acidobázické rovnováhy (pH, bikarbonát aktuální a standardní) rutinními laboratorními metodami na počátku a na konci sledování a v měsíčních intervalech v průběhu studie. Hodnoty kalcia byly korigovány na aktuální hodnotu sérového albuminu podle následující přepočítávací formule:

$$Ca_{corr} [mmol/l] = Ca_{act} + \left(0.2 \times \left(4.5 - \frac{alb[g/l]}{10} \right) \right)$$

Intaktní parathormon byl stanoven imunometricky (ELISA-PTH, CisBio International), osteokalcin imunometricky (ELISA-OSTEO, CisBio International, Francie), kalcitonin imunometricky (ELISA-hCT kit CisBio International), kostní izoenzym alkalické fosfatázy

chemiluminiscenčně (OSTASE EIA, ImmunoDiagnostic Systems, UK), osteoprotegerin multiplexovým polem (Human Bone Panel, Millipore, USA) s detekcí Luminexem.

2.2.6. KVANTITATIVNÍ CT (qCT) DENZITOMETRIE

Výhody qCT denzitometrie v porovnání s klasickými projekčními metodami (duální fotonová absorpce, DPA; duální rentgenová absorpce, DXA) spočívají především v nezávislosti na tvarové variabilitě vyšetřované kosti (vrozené abnormality, přítomnost osteofytů apod.) a interferenci cévních kalcifikací. Ve studii srovnávající denzitu bederní páteře v rozsahu L2-4 měřenou qCT a DPA byla zjištěna jen relativně slabá korelace (Pearsonův korelační koeficient 0,51). Přitom u 31% pacientů byly zjištěny degenerativní změny páteře (osteofyty) a u 24% byly na prostých snímcích patrné kalcifikace aorty [74]. Při použití projekční metody nelze vliv osteofytů ani kalcifikací eliminovat a výsledná denzita může být významně nadhodnocena.

Volumetrická metoda (qCT) navíc umožňuje vyhodnotit skutečnou hustotu zvoleného objemu tkáně, takže lze samostatně měřit denzitu různých částí kosti, zejm. trabekulární a kompaktní. Proto je qCT spolehlivější než DXA v predikci fraktur v souboru postmenopauzálních žen s osteoporózou [87]. V populaci dialyzovaných nemocných byla opakovaně prokázána nízká korelace DXA denzity s rizikem fraktur [98, 99]. Jedinou nevýhodou qCT je (kromě vyšších pořizovacích nákladů) významně větší radiační zátěž pro pacienta. Především v populaci s vysokým výskytem interferujících faktorů (a přinejmenším pro výzkumné účely) by tato metoda měla mít přednost.

Kortikální a trabekulární kostní denzita byla vyšetřena separátně v oblasti těl prvních 3 bederních obratlů pomocí kalibračního fantomu (obrázek 1A, B). Parametry CT skenování byly následující: 80kV, 230 mAs, doba rotace 1.0s, akvizice 1x10mm, kolimace 10.0mm, šířka řezu 10mm, kernel S80s, CTDI 3mGy. Surová data byla zpracována softwarem Osteo firmy Siemens (Forchheim, Německo) s vyhodnocením absolutní hodnoty koncentrace hydroxyapatitu v mg/ml kostní tkáně. Celková kostní denzita (kortikální + trabekulární) byla dále přepočítána na T-skóre a z-skóre s použitím hodnot získaných z populace odpovídající věkem, pohlavím a etnicitou.

2.2.7. HODNOCENÍ FRAKTUR OBRATLŮ

Prevalence patologických fraktur obratlů byla zjištěna v rozsahu hrudní a bederní páteře ze sagitálních rekonstrukcí CT snímků (obrázek 1C). Obratle T4-L4 byly hodnoceny jako normální (stupeň 0), mírně deformované (stupeň 1: 20-25% redukce výšky obratle v přední, střední a/nebo zadní rovině), středně deformované (stupeň 2: 26-40% redukce výšky) a silně deformované (stupeň 3: více než 40% redukce výšky) [100].

2.2.8. MĚŘENÍ SKÓRE KALCIFIKACÍ KORONÁRNÍCH CÉV A SRDEČNÍCH CHLOPNÍ

Přesnost, robustnost a reprodukovatelnost multidetektorového spirálního CT při posuzování cévních kalcifikací byla validována srovnáním výsledků s ex-vivo analýzou materiálu získaného při endarterektomii karotid [101] a kalciovým skóre měřeným pomocí EBCT [102].

CT obraz koronárního řečiště byl pořízen pomocí prospektivní EKG-synchronizace se snímáním při 50-80% R-R intervalu v závislosti na tepové frekvenci (obrázek 2). Parametry skenování byly následující: 120 kV, 30-40 mA, doba rotace 0.33 s, akvizice 30x0.6 mm, kolimace 0.6 mm, šířka řezu 3 mm, kernel B 35f, CTDI 2.9 mGy. Surová data byla zpracována pomocí Calcium Scoring software (Siemens, Německo) a převedena do formátu Agatsonova skóre, objemového skóre a obsahu hydroxyapatitu [103].

2.2.9. POSOUZENÍ KALCIFIKACÍ ABDOMINÁLNÍ AORTY A SPLANCHNICKÝCH VĚTVÍ

Kalcifikace abdominální aorty byly odečteny z transverzálních CT snímků s použitím semi-kvantitativní škály: stupeň 0: žádná kalcifikace, stupeň 1: kalcifikace zaujímající méně než 25% obvodu aorty, stupeň 2: kalcifikace 25-49% obvodu aorty, stupeň 3: kalcifikace 50-74% obvodu aorty, stupeň 4: kalcifikace více než 75% obvodu [70]. Analogickým způsobem byly hodnoceny kalcifikace v rozsahu kmene splachnických větví břišní aorty.

2.2.10. STATISTICKÉ HODNOCENÍ

Statistická analýza byla provedena pomocí programu SigmaPlot/SigmaStat (verze 12.0, SPSS Inc., USA). Není-li specifikováno jinak, jsou data uvedena jako průměry (střední chyba průměru). Fisherův test a z-test byl aplikován při srovnávání kategorických proměnných a Studentův t-test (resp. Mann-Whitney test) byl použit pro spojitě proměnné. Párový t-test (resp. Wilcoxonův test) byl použit k hodnocení časového vývoje v rámci jedné skupiny. Spearmanův korelační koeficient byl vypočítán k posouzení souvislostí mezi různými proměnnými. Multivariační analýza (stepwise a logistická regrese) byla použita k hodnocení významu jednotlivých proměnných v modelech založených na více faktorech. Rozdíly a korelace byly hodnoceny jako statisticky významné, pokud dosáhly p méně než 0.05.

2.3. VÝSLEDKY

2.3.1. MINERÁLNÍ KOSTNÍ DENZITA U CAPD PACIENTŮ

Výsledky laboratorních vyšetření na začátku studie i v průběhu sledování se pohybovaly ve fyziologických mezích s výjimkou parametrů kalcium-fosfátového metabolismu (zejména fosfátu a intaktního parathormonu) a albuminu. Střední hodnoty fosfátu i parathormonu však splňovaly kritéria pro populaci dialyzovaných nemocných, hodnoty albuminu se pohybovaly na dolním konci fyziologického intervalu (tabulka 8). V průběhu sledování nedošlo ke statisticky významné změně v žádném ze sledovaných parametrů.

Pacienti léčení peritoneální dialýzou měli již na počátku sledování významně nižší minerální denzitu obratlových těl: 135.2 (24) mg CaHA/ml v porovnání s obecnou populací srovnatelnou věkem a pohlavím: 153.5 (21) mg CaHA/ml, 20% pacientů mělo hodnoty BMD bederní páteře v pásmu osteoporózy (<2.5 směrodatné odchylky pod průměrem osob téhož věku a pohlaví). Ve sledované podskupině došlo k dalšímu signifikantnímu ($p < 0.05$) poklesu kostní denzity ze 137.9 (18.3) na 125 (11.6) mg CaHA/ml.

Při multivariační analýze byly jako nezávislé prediktory poklesu kostní denzity identifikovány celková délka náhrady funkce ledvin ($r = -0.41$, $p < 0.05$) a hladina sérového kalcia ($r = 0.45$, $p < 0.05$). Ostatní parametry kalcium-fosfátového metabolismu se do výsledného modelu nekvalifikovaly: sérový fosfát, kalcium-fosfátový součin a intaktní parathormon.

2.3.2. DETERMINANTY PREVALENTNÍCH FRAKTUR OBRATLŮ A PROGRESIVNÍHO ÚBYTKU KOSTNÍ HMOTY U HD PACIENTŮ

Biochemické parametry souboru při vstupu do studie (průměr za předchozí 3 měsíce) a v průběhu ročního sledování (průměr z provedených odběrů) jsou uvedeny v tabulce 9. Na začátku sledování měli pacienti BMD bederní páteře 246 (7.8) mg CaHA/ml v oblasti kortikální kosti a 95 (5) mg CaHA v oblasti trabekulární kosti. Odpovídající T -skóre bylo -2.8 (0.16) a z -skóre -0.26 (0.16). Posuzováno podle T -skóre mělo 47 (65%) pacientů kostní denzitu bederní páteře v pásmu osteoporózy. Z -skóre více než jednu standardní odchylku pod průměrem místní populace stejného věku a pohlaví bylo zjištěno u 20 (28%) pacientů. Tato frekvence je významně vyšší než v souboru odpovídající etnicity, věku a pohlaví (28% oproti 16%, z -test, $p < 0.05$).

Nejméně jedna fraktura obratle (stupeň 1 nebo více) byla prokázána u 15 (21%) nemocných. Rozdíly v biochemických a denzitometrických parametrech mezi pacienty s frakturami a bez fraktur jsou uvedeny v tabulce 10. Pacienti s frakturami a bez fraktur se lišili sérovým kalcie, kortikální a trabekulární kostní denzitou. V případě T -skóre byl rozdíl na hranici statistické významnosti a z -skóre se mezi oběma skupinami nelišilo. V modelu logistické

regrese byly fraktury nejsilněji predikovány kortikální BMD: OR 0.96 (CI 0.94, 0.99), $p < 0.005$, tj. nárůst obsahu CaHA v kortikální kosti o 1 mg je spojen se 4% poklesem rizika fraktur.

Kortikální BMD korelovala významně s tělesnou váhou ($r = 0.27$, $p < 0.05$) a inverzně s délkou náhrady funkce ledvin ($r = -0.38$, $p < 0.001$) a s korigovaným sérovým kalcie ($r = -0.31$, $p < 0.01$), hraniční významnosti dosáhl sérový osteoprotegerin ($r = -0.22$, 0.07). V regresním modelu byl však pouze čas na dialýze potvrzen jako nezávislý faktor ($R = 0.35$, $p < 0.005$). Nebyl zjištěn žádný vztah mezi kortikální BMD a biochemickými parametry kostního metabolismu (s výjimkou slabé korelace s osteokalcinem: $r = -0.22$, $p < 0.06$) nebo modalitou léčby (koncentrace kalcia, substituce vitamínu D, léčba vazači fosfátů).

Během ročního sledování byl zachycen signifikantní pokles BMD pouze v oblasti kortikální kosti (tabulka 11): z iničiálních 244 (7.6) mg CaHA/ml na 237 (7.8) mg CaHA, $p < 0.05$. Ztráta kostní hmoty byla přitom výraznější u žen než u mužů (graf 1). U 17 pacientů (35%) byl pokles BMD větší než pro daný věk předpovídají populační data: došlo ke snížení z-skóre o -0.35 (0.08). Kromě závislosti na pohlaví měli pacienti s klesající kortikální kostní denzitou nižší ALP: 1.6 (0.08) $\mu\text{kat/l}$ oproti 2.0 (0.19) $\mu\text{kat/l}$ ve skupině bez poklesu, $p < 0.05$ a menší deficit bazí: -3.4 (0.46) mmol/l oproti -5.8 (1.13) mmol/l, $p < 0.05$. Naopak žádný rozdíl nebyl zjištěn ve věku, kalcémii, hladině parathormonu, dávce vitamínu D, kalciového vazače fosfátů a koncentraci kalcia v dialyzačním roztoku. V logistickém regresním modelu byla pouze alkalická fosfatáza potvrzena jako nezávislý faktor poklesu kortikální BMD: OR 0.27 (95% CI 0.09, 0.8), $p = 0.02$, tzn. vzestup ALP o 1 $\mu\text{kat/l}$ je spojen se 73% snížením rizika ztráty kortikální kosti. Dynamika kortikálního BMD stratifikovaná podle tercilů alkalické fosfatázy je uvedena v tabulce 12.

2.3.3. DETERMINANTY CÉVNÍCH KALCIFIKACÍ U PACIENTŮ LÉČENÝCH CHRONICKOU HD

Přehled stupně kalcifikací koronárního řečiště, chlopní a hrudní aorty uvádí tabulka 13, výskyt kalcifikací břišní aorty popisuje tabulka 14. Pacienti léčení pravidelnou hemodialýzou měli skóre koronárních kalcifikací výrazně vyšší než kontrolní soubor pacientů s tradičními rizikovými faktory aterosklerózy (diabetes mellitus, hyperlipoproteinémie, hypertenze) a to i po korekci na věk. Skóre koronárních kalcifikací u pacientů s chronickým selháním ledvin se statisticky významně nelišilo od pacientů se symptomatickým koronárním onemocněním ověřeným koronarograficky. Rovněž skóre chlopenních kalcifikací bylo u pacientů léčených hemodialýzou významně vyšší než v kontrolním souboru s rizikem aterosklerózy. Skóre chlopenních kalcifikací se u pacientů s chronickým selháním ledvin statisticky významně nelišilo od pacientů se symptomatickým koronárním onemocněním ověřeným koronarograficky.

V podskupině hemodialyzovaných nemocných s pozitivní anamnézou kardiovaskulárního onemocnění bylo zjištěno významně vyšší skóre koronárních kalcifikací než v podskupině s negativní anamnézou a v obou kontrolních souborech. Dialyzovaní nemocní s historií symptomatického koronárního onemocnění měli tedy významně vyšší stupeň koronárních

kalcifikací než stejná populace bez onemocnění ledvin (graf 2). Multivariační analýza odhalila jako nezávislé faktory odlišující hemodialyzované pacienty s historií ICHS věk, z-skóre kostní denzity bederní páteře a skóre koronárních kalcifikací (tabulka 15). Významné korelace skóre koronárních kalcifikací (CACS) jsou uvedeny v tabulce 16. Při multivariační analýze (lineární regrese) s použitím CACS jako závisle proměnné byl potvrzen význam délky dialyzační léčby ($\beta=0.42$, $p<0.001$), albuminu ($\beta=0.25$, $p<0.05$) a kortikální kostní denzity ($\beta=0.38$, $p<0.001$), statistické významnosti nedosáhl sérový fosfát, alkalická fosfatáza a osteokalcin (tabulka 17).

K nárůstu skóre koronárních kalcifikací došlo v souboru mužů i žen, ve skupině žen byla však progrese kalcifikací rychlejší (80% (40,112) vs. 37% (18, 84), $p<0.05$), ačkoli ženy měly na počátku sledování vyšší věk (72 roků (62, 75) vs. 62 roků (54, 70), $p<0.05$) a skóre významně nižší (graf 3). U žen byl pokles trabekulární kostní denzity spojen s nárůstem skóre koronárních kalcifikací ($r=-0.43$, $p<0.05$, tabulka 18), naproti tomu byla zjištěna pozitivní korelace CACS s minerální kostní denzitou trabekulární ($r=0.4$, $p<0.05$) i kortikální kosti u mužů ($r=0.41$, $p<0.05$, tabulka 19).

Významné korelace skóre kalcifikace aortální chlopně a ascendentní aorty (AoCS) jsou uvedeny v tabulce 20. Při multivariační analýze (lineární regrese) s použitím AoCS jako závisle proměnné byl potvrzen pouze význam věku ($\beta=0.4$, $p<0.005$) a délky dialyzační léčby ($\beta=0.34$, $p<0.05$), ostatní parametry nedosáhly statistické významnosti (korigované kalcium, ALP a osteokalcin). Během ročního sledování stoupl AoCS ze 437 (163, 773) mg CaHA na 1050 (539, 2866), $p<0.001$. Nárůst kalcifikací aortální chlopně přitom souvisel s věkem ($r=0.43$, $p<0.05$) a délkou dialyzační léčby ($r=0.46$, $p<0.05$) u mužů a negativně koreloval se sérovou hladinou iPTH ($r=-0.47$, $p<0.05$) u žen.

Vztahy skóre kalcifikací abdominální aorty a jejích hlavních splachnických větví jsou uvedeny v tabulce 21. Kalcifikace aorty korelovaly pouze s délkou dialyzační léčby, hraniční (negativní) korelace byla zjištěna v případě iPTH a pozitivní u OPG a BE. Stupeň kalcifikací velkých (splachnických) větví aorty těsně souvisel s délkou trvání diabetu, se sérovým osteoprotegerinem, deficitem bazí a délkou dialyzační léčby. Hraniční souvislost byla nalezena u LDL cholesterolu. Logistickou regresní analýzou byl potvrzen význam délky dialyzační léčby u kalcifikací aorty a význam délky dialyzační léčby, doby trvání diabetu a deficitu bazí u kalcifikací viscerálních větví (tabulka 22). Pacienti u nichž došlo v průběhu sledování k progresi kalcifikací břišní aorty vykazovali zároveň větší ztráty minerální kostní hmoty v porovnání s pacienty bez nárůstu kalcifikací: -7% (-15, -2) vs. -3% (-6, 2), $p=0.05$.

Souvislosti mezi výskytem kalcifikací v různých lokalizacích byly posouzeny pomocí korelací skóre kalcifikací koronárních cév, hrudní aorty a aortální chlopně (graf 4 a 5) a dále analýzou skóre kalcifikací ve skupinách pacientů dosahujících různého stupně kalcifikace břišní aorty (graf 6 a 7). Nejsilnější korelace byla prokázána mezi koronárními kalcifikacemi a kalcifikacemi aorty hrudní ($r=0.58$, $p<0.001$) a břišní (ANOVA, $p<0.001$).

2.4. DISKUSE

2.4.1. MINERÁLNÍ KOSTNÍ DENZITA U PACIENTŮ LÉČENÝCH CAPD

Studie prokázala významné snížení minerální denzity bederní páteře u pacientů s chronickým selháním ledvin léčených peritoneální dialýzou. Navíc v průběhu dvouletého sledování došlo u podskupiny těchto pacientů k dalšímu signifikantnímu poklesu kostní denzity o 8% (v obecné populaci stejného věku je průměrný pokles BMD jen 1-2%). Tento vývoj nebyl provázen žádnými změnami biochemických markerů kalcium-fosfátového metabolismu.

Zjištěný pokles je srovnatelný s výsledky studie provedené u CAPD pacientů [104], která prokázala 12% úbytek kostní hmoty v průběhu 2 let, ovšem pouze u žen a především ve zcela odlišné lokalizaci a jinou metodikou (měření distálního rádia pomocí jednofotonové absorpce). Rovněž v souladu se závěry dalších autorů je nález korelace poklesu BMD s délkou náhrady funkce ledvin [105]. Naproti tomu chybění korelace s věkem, pohlavím a body mass indexem lze vysvětlit použitím volumetrické metody měření (qCT) a korekcí hodnot na pohlaví a věk. Do jisté míry překvapivá je absence vztahu kostní demineralizace k hladině PTH. Tento fakt si vysvětlujeme vyšší incidencí adynamické choroby, kterou lze v souboru CAPD pacientů předpokládat. Negativní závislost mezi poklesem BMD a sérovým kalcielem je obtížné analyzovat na základě dostupných dat, kauzální souvislost je však nepravděpodobná (může se jednat o důsledek akcelerované resorpce resp. zpomalené novotvorby kosti).

Na základě dosažených výsledků je možné uzavřít, že u pacientů léčených peritoneální dialýzou dochází v průběhu náhrady funkce ledvin k urychlenému poklesu kostní denzity. Zatímco úbytek kostní hmoty není postižitelný rutinně měřenými parametry kalcium-fosfátového metabolismu, kvantitativní CT denzitometrie je pro sledování vývoje kostní denzity vhodnou metodou.

2.4.2. DETERMINANTY PREVALENTNÍCH FRAKTUR OBRATLŮ A PROGRESIVNÍHO ÚBYTKU KOSTNÍ HMOTY U PACIENTŮ LÉČENÝCH CHRONICKOU HD

Řada studií potvrdila nízkou predikční hodnotu projekčních metod měření minerální kostní denzity v populaci nemocných s chronickým selháním ledvin [29-31]. Zároveň je však známo, že podstatně lepších výsledků lze dosáhnout pomocí měření denzity kortikální kosti v jiné lokalizaci – např. v oblasti distálního rádia [32]. Naše data potvrzují závěry uvedených studií – parametry kostní denzity (*T* a *z*-skóre), které jsou založeny na sumaci kortikální a trabekulární kosti (tedy odvozené podobným způsobem jako měření projekčními metodami) nedokázaly odlišit pacienty s frakturami a bez fraktur.

Z-skóre stanovené na začátku sledování bylo významně snižené v porovnání s populací odpovídající věkem, pohlavím a etnicitou. Tento nále, stejně jako prevalence obratlových fraktur (21%) je ve shodě s výsledky ojedinělých studií řešících podobné téma: Atsumi popisuje v podstatě identickou frekvenci v japonské populaci hemodialyzovaných pacientů [106], Rodriguez zjistil fraktury obratlů u 19% hemodialyzovaných pacientů [88]. Další zdroj uvádí prevalenci 32% u dialyzovaných diabetiků a u 13% nemocných bez diabetu [107]. Rozsáhlá epidemiologická studie (European Vertebral Osteoporosis Study) identifikovala s použitím podobné metodiky průměrnou prevalenci 12% u mužů a žen ve věku nad 50 let [108].

Na rozdíl od obecné populace však parametry kombinující denzitu kortikální a trabekulární kosti, tzn. *T* a *z*-skóre, nedokázaly rozlišit mezi pacienty s frakturami obratlů a bez fraktur. (V případě *T*-skóre byla zjištěna hraniční významnost s $p=0.05$). Ačkoliv se obě skupiny lišily jak kortikální, tak trabekulární kostní denzitou, v regresní analýze vyšla pouze kortikální BMD jako nezávislý faktor predikující prevalentní fraktury. Třebaže v oblasti páteře je maximum celkové kostní hmoty uloženo v oblasti trámčiny, pevnost obratlů závisela u našich pacientů především na mineralizaci kortikální kosti. Tento nále, vysvětluje nízkou prediktivní hodnotu celkové BMD demonstrovanou výše citovanými studii. Oddělení hodnocení kortikální kosti by proto mělo mít přinejmenším v populaci hemodialyzovaných pacientů přednost.

Kortikální BMD korelovala především s celkovou dobou náhrady funkce ledvin a naopak nezávisela na věku, farmakoterapii a většině biochemických parametrů. Nemožnost identifikovat jakékoli specifické faktory související s náhradou funkce ledvin a vyvolávající pokles kortikální BMD nejspíše odráží komplikovanost a často protichůdný efekt působících procesů. Kurčení takových faktorů by zřejmě byl zapotřebí významně větší soubor nemocných a ověření intervenčními studii. Můžeme však předpokládat, že riziko obratlových fraktur stoupá v průběhu chronické hemodialyzační terapie a relativně nízká prevalence zachycená v naší studii byla způsobena poměrně krátkou dobou léčby.

Během ročního sledování došlo u 35% pacientů k rychlejšímu poklesu celkové BMD než předpokládají populační data pro odpovídající věk a pohlaví. Průměrné *T* a *z*-skóre souboru se přitom významně nezměnilo, došlo však k dalšímu signifikantnímu poklesu kortikální denzity, a to především ve skupině žen. Demineralizace kostí je urychlena v podmínkách kyselého pH výměnou kalciových a vodíkových kationtů, v naší studii však paradoxně právě nemocní s výraznější ztrátou kostní hmoty měli významně nižší deficit bazí. Tento nále, by mohl být vysvětlen vyšší pufrovací kapacitou kosti u těchto pacientů, kteří sice lépe udržují pH vnitřního prostředí, ovšem za cenu urychlené dekalifikace skeletu.

Pacienti s úbytkem kortikální BMD rovněž vykazovali nižší sérovou aktivitu alkalické fosfatázy. Tento, zdánlivě rovněž paradoxní, výledek je však v souladu se zjištěním japonské skupiny, která ukázala, že dialyzovaní pacienti v dolním tercilu sérové ALP mají nejvyšší prevalenci obratlových fraktur. V této práci se nicméně nepodařilo mezi pacienty s frakturami a bez fraktur prokázat rozdíl v BMD – to lze na základě naší práce vysvětlit měřením celkové kostní denzity. V naší skupině měli nemocní s ALP v dolním tercilu významně horší kortikální BMD (která byla již v průřezové části určena jako rozhodující

faktor vzniku fraktur) v porovnání se středním tercilem. Tento závěr je ovšem v rozporu s převládajícím konceptem nízkoobratové kostní choroby, která je považována za benigní, přinejmenším ve smyslu působení na kostní mineralizaci. Lze samozřejmě namítnout, že nízká ALP není jednoznačným dokladem adynamické kostní nemoci. Protože však kostní biopsie nepatří mezi rutinní metody posuzování kostního obratu, zůstává aktivita ALP nejpřesnějším klinickým markerem.

Řada studií neprokázala významnou změnu kostní denzity u pacientů s nízkoobratovou kostní chorobou. Tato skutečnost by mohla být vysvětlena odlišnou metodou měření. Projekční metody nadhodnocují v důsledku interference kalcifikací měkkých tkání, zejména stěny aorty, které jsou zvláště u hemodialyzovaných pacientů běžné. Nejrychlejší nárůst kalcifikací bývá zjišťován právě u pacientů s adynamickou kostní nemocí, „kalcium se přesouvá z kostní tkáně do cévní stěny“. Dále se může uplatňovat aditivní přístup k hodnocení kortikální a trabekulární kosti a nelze ani a priori předpokládat působení stejných procesů v různých částech skeletu (fylogeneticky starší osový skelet s převládající trámčitou kostí může podléhat odlišným regulačním mechanismům než skelet končetinový).

V naší studii jsme potvrdili relativně vysokou prevalenci spinální osteoporózy a fraktur obratlů u pacientů léčených pravidelnou hemodialýzou. Na rozdíl od obecné populace (v níž je riziko fraktur hodnoceno na základě celkové kostní denzity) byla u těchto nemocných jako nejspolehlivější prediktor obratlových fraktur prokázána kortikální kostní denzita. Běžněji používané parametry (*T* a *z*-skóre) zde proto mohou riziko fraktur podcenit, přinejmenším v oblasti páteře. Další významný pokles kortikální kostní denzity byl během ročního sledování zachycen v podskupině žen. Tento úbytek kostní hmoty souvisel zejména s aktivitou alkalické fosfatázy. Z hlediska zachování kostní hmoty jsou nejvýhodnější hodnoty v pásmu středního tercilu.

2.4.3. DETERMINANTY CÉVNÍCH KALACIFIKACÍ U PACIENTŮ LÉČENÝCH CHRONICKOU HEMODIALÝZOU

V obecné populaci jsou intrakoronární depozice kalcium fosfátu typicky podmíněny mechanismem intimální (aterosklerotické) kalcifikace, zatímco tepny velkého kalibru jsou postiženy především mediokalcinózou (mediální kalcifikace). Chlopenní kalcifikace představují specifický typ cévních kalcifikací, charakterem jsou však bližší dystrofickým (intimálním) [50]. Abychom postihli co nejširší spektrum cévních kalcifikací, zvolili jsme pro vyšetření v souboru pacientů s chronickým selháním ledvin 3 lokalizace: koronární řečiště, aortální chlopeň a aortu (hrudní, břišní a odstupující velké větve). V souboru nemocných léčených pravidelnou hemodialýzou jsme pak prokázali významně vyšší stupeň koronárních a chlopenních kalcifikací než v populaci osob s klasickými rizikovými faktory (BMI, diabetes, hyperlipoproteinémie, hypertenze). V obou lokalizacích se stupeň kalcifikace pohyboval na úrovni nemocných s koronarograficky ověřenou, symptomatickou koronární aterosklerózou. Tento závěr je v souladu s několika studiemi dokumentujícími vysokou prevalenci koronárních a chlopenních kalcifikací u pacientů se selháním ledvin [17, 109, 110].

Naše výsledky potvrzují dřívější studie ukazující, že měření skóre koronárních kalcifikací pomocí multidetektorového CT s EKG synchronizací umožňuje stratifikovat riziko kardiovaskulárního onemocnění u pacientů v chronickém hemodialyzačním programu [109, 110]. Kromě věku a skóre koronárních kalcifikací se jako významný prediktor přítomnosti ischemické choroby srdeční ukázalo i z-skóre kostní denzity bederní páteře. Souvislost mezi kardiovaskulárními chorobami a kostní denzitou byla popsána v populačních studiích u osob bez dysfunkce ledvin [89, 90, 94]. Naproti tomu jiné rizikové faktory aterosklerózy, běžné v obecné populaci, nedosáhly statistické významnosti: body mass index, celkový a LDL cholesterol. Nízký význam tradičních rizikových faktorů v našem souboru může být zčásti vysvětlen jeho malou velikostí, avšak odlišně strukturované riziko ICHS v populaci pacientů s chronickým selháním ledvin prokázaly i jiné studie [14, 94].

Multivariační analýza odhalila délku dialyzační léčby a kortikální kostní denzitu jako nezávislé faktory zvýšeného CACS. Podle metaanalýzy z roku 2004 [46] je délka dialyzační léčby vedle věku nejlépe doloženým rizikovým faktorem koronárních kalcifikací u ESRD pacientů. Řada autorů prokázala negativní korelaci mezi BMD v oblasti kyčle, resp. páteře a stupněm kalcifikací aorty a končetinových tepen u žen bez onemocnění ledvin [91-93], údaje o analogických korelacích koronárních kalcifikací však chybí. Žádné prospektivní studie prokazující podobné vztahy v populaci nemocných s chronickým selháním ledvin nejsou k dispozici. Nicméně existenci takové souvislosti naznačují některé průřezové studie užívající sonografické metody vyšetření cév, resp. kostní biopsii: London našel souvislost mezi histomorfometrickými parametry kostního obratu a poměrem intima/médie velkých tepen [69], Nakashima zjistil negativní korelaci z-skóre a poměru intima/médie [96] a Raggi popsal inverzní vztah mezi rychlostí pulzní vlny a BMD obratlů měřenou pomocí kvantitativního CT [97]. Autoři poslední studie nenašli žádný vztah ke skóre koronárních kalcifikací, nevyšetřovali však odděleně kortikální a trabekulární kost a neanalyzovali rozdíly mezi muži a ženami. Není k dispozici žádná studie dokládající souvislost mezi BMD a přímým parametrem kalcifikace koronárních nebo velkých tepen.

Na základě dostupných klinických dat a znalosti mechanismů cévních kalcifikací při chronickém selhání ledvin se za nejrizikovější považuje kombinace poškození cévní stěny a hyperkalcémie (ev. v kombinaci s vysokým kalcium-fosfátovým součinem) [23, 24]. Poškození cévní stěny je v podmínkách selhání ledvin vyvoláno především urémií (případně průvodní hypertenzí) a jeho stupeň tedy může záviset na době trvání renální insuficience (nejlépe dostupným parametrem je délka náhrady funkce ledvin). K hyperkalcémii dochází u dialyzovaných pacientů především tehdy, pokud je v důsledku nízkoobratové kostní choroby narušena schopnost kosti pufovat nadbytek kalcia ve vnitřním prostředí. Akcelerovaný vznik cévních kalcifikací v podmínkách nízkého kostního obratu byl již opakovaně demonstrován [69, 111]. Naopak z hlediska zachování mineralizace skeletu je adynamická kostní nemoc považována u ESRD nemocných za optimální stav [68], zatímco vysoký kostní obrat v důsledku hyperparathyreózy je spojen s predilekčním úbytkem kortikální kostní hmoty [67].

Uvedené vztahy tedy mohou vysvětlit nálezy dokumentované v našem souboru a jsou v souladu se zjištěnou negativní korelací přímých parametrů kostního obratu (po zahrnutí BMD do regresního modelu se OC a BAP neprosadily jako nezávislé faktory) se skóre koronárních kalcifikací. Chybění souvislosti mezi koncentrací sérového kalcia resp. fosfátu, parathormonu, parametry léčby a skóre kalcifikací je dokumentováno dalšími autory [17,

110, 112] a třebaže vliv dávky kalciových vazačů je potvrzován i v intervenčních studiích, není podle metaanalýz význam kalcémie a fosfatémie jednoznačný [46]. Zdrojem kontroverze může být značná variabilita těchto parametrů v čase a proto i relativně nízká výpovědní hodnota izolovaných hodnot. Ačkoliv byly u pacientů v našem souboru použity dlouhodobé průměry kalcémie a iPTH, lepší predikci cévních kalcifikací bylo možné odvodit ze stavu mineralizace skeletu, který poskytuje integrální (sumační) informaci o vlivech za delší časové období. Naproti tomu z obecné populace jsou k dispozici četné doklady o souvislosti cévních kalcifikací a nízké kostní denzity (tedy inverzní korelace), především v souboru postmenopauzálních žen. Osteoporóza přitom postihuje zejména trabekulární kost (která v oblasti páteře determinuje BMD při měření projekčními metodami) [113].

V průběhu ročního sledování byl zjištěn další, vysoce významný, nárůst CACS. Přestože zůstala absolutní hodnota skóre kalcifikací významně vyšší u mužů (ve shodě s [109]), rychlost progresu byla významně vyšší ve skupině žen. Tento překvapivý nálezy by mohl být vysvětlen nižším výchozím skóre a následným výrazným vlivem terminálního selhání ledvin. U mužů mohla být ateroskleróza, podobně jako v obecné populaci, rozvinuta již před selháním funkce ledvin, takže v průběhu dialyzační léčby už další progresu nemohla být tak intenzivní. Nárůst koronárních kalcifikací byl u mužů, podobně jako při průřezovém vyšetření celého souboru, spojen s nárůstem resp. zachováním kortikální (a trabekulární) kostní hmoty. Naproti tomu u žen byla patrná opačná tendence – progresu koronárních kalcifikací byla provázena ztrátou trabekulární kostní hmoty, tento jev je pravděpodobně analogický vztahu BMD a aortálních kalcifikací popsanému v populaci postmenopauzálních žen bez onemocnění ledvin [91, 93]. Asmus [26] popsal v souboru 72 HD pacientů randomizovaných do skupiny léčené sevelamerem a skupiny léčené kalciovým vazačem výraznější nárůst cévních kalcifikací a pokles trabekulární denzity hrudní páteře ve skupině s kalcium acetátem (kostní denzita byla však pouze aproximována ze snímků EBCT).

Zdá se tedy, že u pacientů s chronickým selháním ledvin je situace komplikovanější než v obecné populaci, a to díky kombinaci různých vlivů. Zatímco u dialyzovaných žen dominuje působení podobných procesů jako u žen bez onemocnění ledvin (spekulativně může být společným faktorem deficit estrogenů), ve skupině dialyzovaných mužů se uplatňuje odlišný vztah. Opačná závislost zjištěná v souboru mužů s chronickým selháním ledvin je v souladu s představou o urychlené tvorbě cévních kalcifikací v podmínkách adynamické kostní choroby a se závěry studií korelujících tloušťku cévní stěny s kostním obratem resp. denzitou. Měření denzity bederní páteře v našem souboru korelovalo s vývojem koronárních kalcifikací lépe než monitorované biochemické parametry kalcium-fosfátového metabolismu. Vzhledem k protichůdnému působení různých procesů a nutnosti nezávislého měření kortikální a trabekulární denzity je však sporné, zda by kostní denzita mohla najít klinické uplatnění jako marker koronárních kalcifikací.

Třebaže byl v průběhu sledování zachycen výrazný nárůst koronárních kalcifikací, nebyl prokázán vztah ke kalcium-fosfátovému součinu, markerům kostního obratu ani způsobu léčby. Tento překvapivý nálezy naznačuje, že na progresi kalcifikací se může podílet další mechanismus společný cévním kalcifikacím i kostní demineralizaci. Podrobnější analýza mechanismů zodpovědných za popsané vztahy není na základě dostupných dat možná – potenciální sjednocující efekt osteoprotegerinu se v naší studii nepodařilo prokázat (zvýšení korelovalo pouze s kalcifikací velkých tepen).

Kalcifikace aortální chlopně v průřezové i prospektivní studii souvisely pouze s věkem a délkou dialyzační léčby, nikoli s kostní densitou. Sérové kalcium, kalcium-fosfátový součin, ALP a OC se v regresním modelu neuplatnily a jejich korelace tak může odrážet obecný trend k poklesu kostního obratu v závislosti na délce dialyzační léčby pozorovaný v našem souboru. Shodné pozorování uvádí Raggi [109] – s kalcifikacemi aortální chlopně souvisel v multivariační analýze pouze věk a délka dialyzační léčby, významnosti se blížil sérový fosfát a PTH. Vysvětlením může být odlišný mechanismus (dystrofická kalcifikace) vzniku chlopenních kalcifikací, které významně závisí na mechanických vlivech a přímé precipitaci hydroxyapatitu. Odpovídá tomu i nízká hladina korelace mezi výskytem chlopenních a koronárních, resp. chlopenních a aortálních kalcifikací.

Naproti tomu kalcifikace břišní aorty v souladu s výsledky populačních studií progredovaly nejvíce ve skupině nemocných s maximálním úbytkem minerální kostní hmoty [91]. Kalcifikace hrudní i břišní aorty navíc vykazovaly těsnou souvislost s koronárními kalcifikacemi, je tedy pravděpodobné (a svědčí o tom i opakovaný nález typických kolejniovitých kalcifikací při CT, obrázek 2C), že u dialyzovaných pacientů dochází i v oblasti tepen menšího kalibru ke vzniku mediokalcinózy. Obtížně vysvětlitelná je specifická a relativně těsná korelace kalcifikací viscerálních tepen s dobou trvání diabetu a deficitem bazí.

2.5. ZÁVĚRY

Pacienti léčení peritoneální dialýzou mají v porovnání s obecnou populací významně nižší kostní denzitu bederní páteře. V průběhu léčby vedené v souladu s aktuálními doporučeními navíc dochází k dalšímu akcelerovanému úbytku kostní hmoty, který není provázen významnými změnami biochemických parametrů kostního obratu.

Rovněž pacienti léčení hemodialýzou vykazují oproti obecné populaci významně nižší denzitu bederní páteře. Tento stav je navíc provázen vysokou prevalencí obratlových fraktur. Nejlepším prediktorem fraktur je kortikální kostní denzita obratlů, která má u pacientů s chronickým selháním ledvin významně vyšší výpovědní hodnotu než parametry používané k diagnostice osteoporózy v souboru žen bez onemocnění ledvin. I u hemodialyzovaných pacientů dochází k urychlenému úbytku kostní hmoty (především kortikální) v závislosti na době náhrady funkce ledvin, a to zejména u žen. Tento pokles kostní denzity dosahuje maximální intenzity u pacientů s nízkou hladinou sérové alkalické fosfatázy.

Pacienti léčení hemodialýzou vykazují významně vyšší stupeň kalcifikace koronárních cév a aortální chlopně než pacienti s tradičními rizikovými faktory aterosklerózy. Dialyzovaní nemocní se symptomatickou ischemickou chorobou mají výrazně vyšší stupeň koronárních kalcifikací než pacienti s prokázanou koronární insuficiencí a zachovanou funkcí ledvin. Skóre koronárních kalcifikací však i v souboru dialyzovaných pacientů odlišují osoby s ischemickou chorobou srdeční. V souboru žen s chronickým selháním ledvin byl prokázán urychlený rozvoj koronárních kalcifikací v souvislosti s poklesem mineralizace bederní páteře. Tento nálezný je analogický literárním údajům o populaci žen s postmenopauzální osteoporózou. Naproti tomu u dialyzovaných mužů byla zjištěna opačná závislost, tedy maximální progresse koronárních kalcifikací při zachování kostní hmoty. V obecné populaci nebyla korelace mezi cévními kalcifikacemi a kostní demineralizací u mužů spolehlivě prokázána – jedná se pravděpodobně o vztah specifický pro pacienty se selháním ledvin a lze jej vysvětlit odlišnou dynamikou kalcia (fosfátu) u nízko- a vysokoobratové kostní choroby. Rozvoj chlopenních kalcifikací vykazuje odlišné charakteristiky než kalcifikace tepen, dominuje zde vliv věku a nespecifikované faktory selhání ledvin.

3. PŘÍLOHY

3.1. TABULKY

Parametr	p	relativní riziko (95% CI)
mediální kalcifikace (ano=1)	0.0000	15.7 (4.8 – 51.4)
intimální kalcifikace (ano=1)	0.0036	4.85 (1.68 – 14.0)
diabetes (ano=1)	0.0018	2.66 (1.44 – 4.92)
sérové kalcium [mmol/l]	0.0062	20.6 (2.36 – 180)
CRP [log mg/l]	0.0276	1.67 (1.06 – 2.63)
tlaková amplituda [torr]	0.0014	1.02 (1.01 – 1.03)
parathyreoidektomie (ano=1)	0.0173	3.23 (1.23 – 8.33)

Tabulka 1

Relativní riziko celkové mortality u pacientů s chronickým selháním ledvin (London et al., NDT 2003 [114]).

Doba dialyzační léčby	OR (95%CI)	
	muži	ženy
3-12 měsíců	3,62 (3,34-3,92)	3,75 (3,52-4,0)
12-24 měsíců	3,72 (3,37-4,1)	3,76 (3,47-4,08)
24-48 měsíců	6,12 (5,57-6,74)	5,8 (5,37-6,27)
>48 měsíců	9,83 (8,61-11,2)	8,1 (7,23-9,07)

Tabulka 2

Relativní riziko fraktur u dialyzovaných pacientů v porovnání s obecnou populací (Alem et al., KI 2000 [9]).

Parametr spolehlivosti	% (95% CI)
senzitivita	41.7 (15.2 – 72.3)
specifická	78.5 (68.8 – 86.3)
pozitivní predikční hodnota	20.0 (6.8 – 40.1)
negativní predikční hodnota	91.3 (82.8 – 96.4)

Tabulka 3

Spolehlivost BMD při predikci fraktur obratlů. Fraktury obratlů byly odečteny z laterálního snímku hrudní a bederní páteře, odlišeni pacientů s frakturami a bez fraktur nebylo možné podle BMD (měření metodou DXA) bederní páteře ani krčku femuru (Jamal et al., AJKD 2002 [98]).

Predialýza	PPV %	NPV %	senzitivita	specifická
iPTH (cutoff 75 pg/ml)	50	93.8	0.846	0.732
iPTH (cutoff 100 pg/ml)	42.3	92.9	0.845	0.634
ALP	52.9	80.8	0.474	0.84
hemodialýza	PPV %	NPV %	senzitivita	specifická
iPTH (cutoff 75 pg/ml)	61.1	94.4	0.688	0.923
iPTH (cutoff 100 pg/ml)	54.2	96.4	0.813	0.879
ALP	62.5	95.4	0.714	0.933

Tabulka 4

Schopnost iPTH a ALP rozlišit mezi adynamickou kostní chorobou a smíšenou osteodystrofií u pacientů s pokročilou renální dysfunkcí (79) a nemocných léčených hemodialýzou (107) – ověřeno kostní biopsií. (Coen et al., Nephron 2002 [115])

Charakteristika souboru	průřezová studie	prospektivní studie
počet pacientů	32	13
věk [roky]	51 (20-79)	49 (20-70)
ženy [%]	47	19
délka náhrady funkce ledvin [měsíce]	31 (5-167)	37 (25-87)
z toho CAPD [měsíce]	17 (5-53)	28 (25-76)
diabetes [%]	22	15

Tabulka 5

Soubor pacientů léčených peritoneální dialýzou – obecná charakteristika (studie sledující vývoj minerální kostní denzity bederní páteře). Data jsou udána jako medián (rozsah).

Charakteristika souboru	začátek studie	po 1 roce
n	72	53
pohlaví [% žen]	44	45
věk [roky]	65 (1.4)	66 (1.5)
rasa [% kavkazská]	100	100
hormonální status u žen [% postmenopauzální]	100	100
kuřácké návyky [% aktivní kuřáků]	8	6
BMI [kg/m ²]	25 (0.6)	25.5 (0.7)
doba dialyzační léčby [měsíce]	43 (4.6)	46 (5.6)
diabetes	31 (44%)	23 (43%)
anamnéza kardiovaskulární příhody (%)	24 (34%)	19 (36%)

Tabulka 6

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – obecná charakteristika (studie sledující prevalentní fraktury a BMD bederní páteře, cévní kalcifikace). Data jsou udána jako průměr (střední chyba průměru)

Charakteristika souboru	soubor A	soubor B
n	64	96
pohlaví [% žen]	44	43
věk [roky]	67 (0.95)	42 (0.92)
diabetes [%]	22	100
anamnéza ICHS [%]	100	0

Tabulka 7

Kontrolní soubor pacientů s pozitivním koronarografickým nálezem ICHS (A) a kontrolní soubor pacientů s diabetem, hyperlipoproteinémií a hypertenzí (B) – obecná charakteristika.

Biochemické parametry	průřezová studie (n=32)	prospektivní studie (n=13)		
		začátek	po 22 měsících	
Ca (mmol/l)	2.3 (2.2, 2.4)	2.3 (2.2, 2.4)	2.4 (2.3, 2.6)	NS
P (mmol/l)	1.8 (1.6, 1.9)	1.8 (1.5, 2.1)	2.0 (1.4, 2.0)	NS
ALP (μkat/l)	1.2 (0.7, 1.7)	1.2 (0.8, 1.8)	1.6 (0.8, 2.6)	NS
iPTH (pg/ml)	128 (36, 336)	148 (35, 297)	95 (44, 346)	NS
CT (pg/ml)	84 (56, 158)	82 (58, 300)	107 (42, 260)	NS
OC (ng/ml)	10.5 (8.7, 12.8)	10.7 (8.4, 36.8)	13.0 (9.1, 29.5)	NS
Albumin (g/l)	31.3 (29.1, 34.9)	32.3 (31.1, 35.3)	31 (28.7, 32.7)	NS

Tabulka 8

Soubor pacientů léčených peritoneální dialýzou – vývoj biochemických parametrů (studie sledující vývoj minerální kostní denzity bederní páteře). Statistická významnost testována párovým t-testem, data jako medián (kvartily). (CT = kalcitonin)

Parametr	začátek studie	po 1 roce	norma
korigované kalcium [mmol/l]	2.3 (0.02)	2.2 (0.02)	(2.1, 2.6)
sérový fosfát [mmol/l]	1.9 (0.04)	2.0 (0.06)	(0.7, 1.6)
ALP [μ kat/l]	1.7 (0.08)	1.8 (0.09)	(0.6, 2.3)
iPTH [pg/ml]	297 (30)	454 (44)	(10, 55)
irOC [ng/ml]	142 (13)	186 (10)	(5, 15)
albumin [g/l]	39 (0.5)	39 (0.5)	(35, 53)
CRP [mg/l]	23 (2.5)	28 (3.3)	(<10)
base excess [mmol/l]	-2.9 (0.44)	-4.1 (0.45)	(-2.5, 2.5)
pH krve	7.36 (0.01)	7.36 (0.01)	(7.36, 7.44)
kalcium v dialyzátu [mmol/l]		1.23 (0.01)	
vit. D: % pacientů / týdenní dávka [μ g]		19 / 1.3 (0.2)	
CaCO ₃ : % pacientů / denní dávka [g]		91 / 3 (0.2)	
sevelamer: % pacientů / denní dávka [g]		23 / 1.8 (0.3)	

Tabulka 9

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – biochemické parametry a léčba (studie sledující vztah fraktur a BMD bederní páteře). Data jsou udána jako průměr (střední chyba průměru)

Parametr	bez fraktur (n=57)	s frakturami (n=15)	p
kort. BMD [mg CaHA/ml]	260 (8.8)	193 (7.7)	p<0.001
trab. BMD [mg CaHA/ml]	101 (5.9)	73 (5.3)	p=0.02
BMD [mg CaHA/ml]	97 (5.3)	73 (5.3)	p=0.02
korigované kalcium [mmol/l]	2.32 (0.02)	2.43 (0.03)	p=0.04
T-score	-2.7 (0.18)	-3.4 (0.26)	p=0.05
pohlaví [% ženy]	40	67	p=0.09
věk [roky]	64 (1.5)	70 (2.7)	p=0.12
Z-score	-0.1 (0.18)	-0.7 (0.31)	p=0.17
irOC [ng/ml]	132 (13)	178 (39)	p=0.18
sérový fosfát [mmol/l]	1.9 (0.05)	2.0 (0.09)	p=0.2
ALP [μkat/l]	1.7 (0.09)	1.8 (0.11)	p=0.3
iPTH [pg/ml]	282 (31)	354 (85)	p=0.3
base excess [mmol/l]	-3.0 (0.48)	-2.6 (1.07)	p=0.5
BMI [kg/m ²]	25 (0.6)	26 (1.7)	p=0.6
diabetes [%]	39	47	p=0.6
albumin [g/l]	39 (0.6)	40 (0.7)	p=0.6
CRP [mg/l]	24 (2.9)	21 (4.7)	p=0.8
délka dialyzační léčby [měsíce]	43 (5.5)	43 (6.8)	p=0.9

Tabulka 10

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – potenciální rizikové faktory prevalentních fraktur bederní páteře (začátek sledování). Data jsou uvedena jako průměr (střední chyba průměru). Statistická významnost testována t-testem a Fisherovým testem.

Parametr	ženy (n=24)	muži (n=29)	p
kortikální BMD poměr [%]	-7 (1.7)	1.2 (1.9)	0.003
kortikální BMD rozdíl [mg CaHA/ml]	-14.9 (4)	0.9 (5.1)	0.02
trabekulární BMD rozdíl [mg CaHA/ml]	-1.2 (2.9)	4.2 (2.4)	0.16
BMD rozdíl [mg CaHA/ml]	-1.2 (2.8)	3.9 (2.4)	0.17
trabekulární BMD poměr [%]	0.3 (3.6)	4.8 (3.4)	0.36
BMD poměr [%]	0.3 (3.5)	3.4 (2.4)	0.46

Tabulka 11

Soubor pacientů léčených hemodialýzou - vývoj bederní BMD a jejích složek (kortikální a trabekulární) v průběhu ročního sledování. Hodnocen je rozdíl BMD na začátku a na konci sledování resp. relativní změna v procentech. Data jsou uvedena jako průměr (střední chyba průměru). Statistická významnost testována t-testem.

ALP tercily [$\mu\text{kat/l}$]	pokles kortikální BMD (SEM)	
	[mg CaHA/ml]	[%]
<1.4	-16 (4.6); p<0.01	-6 (1.7); p=0.01
1.4-1.8	6 (6.4)	2 (2.3)
>1.8	-9 (6); p=0.09	-3 (2.8); p=0.17

Tabulka 12

Soubor pacientů léčených hemodialýzou - změna kortikální BMD v průběhu ročního sledování ve vztahu k tercilům ALP. Data jsou uvedena jako průměr (střední chyba průměru), statistická významnost testována proti střednímu tercilu (ANOVA, Kruskal-Wallis).

Lokalizace	Agatstonovo skóre [AU]	objem kalcifikací [mm ³]	koncentrace CaHA [mg/ml]
LM	267 (95)	219 (76)	47 (16)
LAD	405 (57)	324 (45)	81 (16)
CX	287 (48)	267 (42)	49 (8)
RCA	587 (136)	498 (111)	103 (24)
<i>koronární řečiště</i>	1536 (238)	1298 (196)	268 (42)
ascendentní aorta		387 (90)	79 (20)
descendentní aorta		1765 (359)	459 (94)
aortální chlopeň		324 (58)	64 (13)
mitrální chlopeň		1051 (330)	279 (102)

Tabulka 13

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – stupeň kalcifikací podle lokalizace a měřeného parametru. LM kmen levé koronární tepny, LAD ramus interventricularis anterior, CX ramus circumflexus, RCA arteria coronaria dextra

Stupeň kalcifikace	počet pacientů (%)	
	břišní aorta	viscerální větve
0	9 (13%)	27 (38%)
1	10 (14%)	19 (26%)
2	18 (25%)	4 (6%)
3	21 (29%)	11 (15%)
4	14 (19%)	11 (15%)

Tabulka 14

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – stupeň kalcifikací břišní aorty a viscerálních větví (truncus coeliacus, a. mesenterica superior, a. mesenterica inferior) podle semikvantitativní škály (0-4).

Logistická regresní analýza, ICHS jako závisle proměnná			
nezávisle proměnná	OR	CI 95%	p
věk [roky]	2,6	1,4 - 4,8	0,0015
z-skóre	1,9	1,1 - 3,2	0,017
Agatstonovo skóre [AU]	1,6	1,1 - 2,3	0,029

Tabulka 15

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – multivariační analýza (logistická regrese) faktorů ovlivňujících výskyt kardiovaskulárních příhod (ICHS).

Významné korelace CACS		
parametr	r	p
sérový albumin	0.32	0.006
sérová BAP	-0.27	0.02
sérový osteokalcin	-0.24	0.03
kortikální BMD	0.25	0.03
délka dialyzační léčby	0.23	0.05
trabekulární BMD	0.15	0.16

Tabulka 16

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – faktory související se skóre koronárních kalcifikací (CACS). Korelace byly testovány Spearmanovým testem.

Lineární regrese, CACS jako závislá proměnná		
nezávisle proměnné	beta	p
délka dialyzační léčby	0.42	<0.001
kortikální BMD	0.38	<0.001
sérový albumin	0.25	<0.05

Tabulka 17

Soubor pacientů léčených hemodialýzou - multivariační analýza (Stepwise regrese) faktorů ovlivňujících skóre koronárních kalcifikací (CACS).

Relativní změna CACS – korelace u žen		
parametr	r	p
délka dialyzační léčby	-0.51	<0.05
relativní změna trabekulární BMD	-0.43	<0.05
celkový sérový cholesterol	0.2	0.4
sérový albumin	-0.18	0.4
CRP	0.19	0.4
relativní změna kortikální BMD	-0.2	0.4
korigované sérové kalcium	0.06	0.8
sérový fosfát	-0.03	0.9

Tabulka 18

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – faktory související s progresí skóre koronárních kalcifikací (CACS) u žen. Korelace byly testovány Spearmanovým testem.

Relativní změna CACS – korelace u mužů		
parametr	r	p
relativní změna kortikální BMD	0.41	<0.05
relativní změna trabekulární BMD	0.4	<0,05
korigované sérové kalcium	0.24	0.2
sérový fosfát	0.22	0.2
CRP	0.22	0.3
sérový albumin	-0.14	0.4
délka dialyzační léčby	-0.12	0.5
celkový sérový cholesterol	-0.07	0.7

Tabulka 19

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – faktory související s progresí skóre koronárních kalcifikací (CACS) u mužů. Korelace byly testovány Spearmanovým testem.

Významné korelace AoCS		
parametr	r	p
věk	0.37	<0.01
korigované sérové kalcium	0.32	<0.01
CaP součin	0.31	<0.01
sérová ALP	-0.28	0.02
irOC	-0.23	0.05
délka dialyzační léčby	0.23	0.05
iPTH	-0.21	0.07

Tabulka 20

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – faktory související se skóre kalcifikací aortální chlopně a hrudní aorty (AoCS). Korelace byly testovány Spearmanovým testem.

Parametr	břišní aorta		viscerální větve	
	r	p	r	p
diabetes mellitus (trvání)	0.06	0.64	0.45	<0.001
osteoprotegerin	0.22	0.07	0.35	0.003
base excess	0.23	0.06	0.32	0.007
délka dialyzační léčby	0.28	0.02	0.31	0.008
LDL cholesterol	-0.04	0.72	-0.23	0.06
body mass index	0	0.98	-0.20	0.09
korigované sérové kalcium	0.17	0.16	0.17	0.15
iPTH	-0.21	0.07	-0.06	0.56
věk	0.18	0.14	-0.03	0.79

Tabulka 21

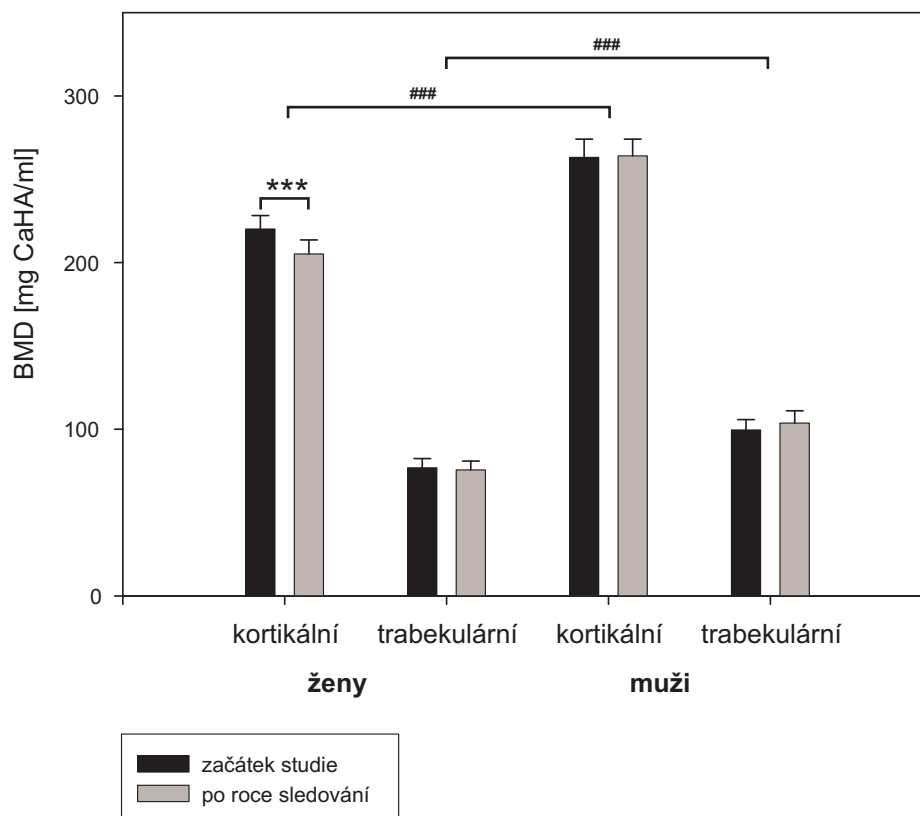
Soubor pacientů léčených hemodialýzou – faktory související se stupněm kalcifikací břišní aorty a jejích viscerálních větví (truncus coeliacus, a. mesenterica superior, a. mesenterica inferior) hodnocených podle semikvantitativní škály (0-4). Korelace byly testovány Spearmanovým testem.

Logistická regresní analýza (závisle proměnná)						
nezávisle proměnná	kalcifikace aorty			kalcifikace viscerálních tepen		
	OR	(95% CI)	p	OR	(95% CI)	p
délka dialyzační léčby [roky]	1.18	(1-1.41)	0.05	1.39	(1.03-1.85)	0.028
diabetes mellitus (trvání) [roky]				1.14	(1.05-1.24)	0.002
BE [mmol/l]				1.41	(1.13-1.76)	0.003

Tabulka 22

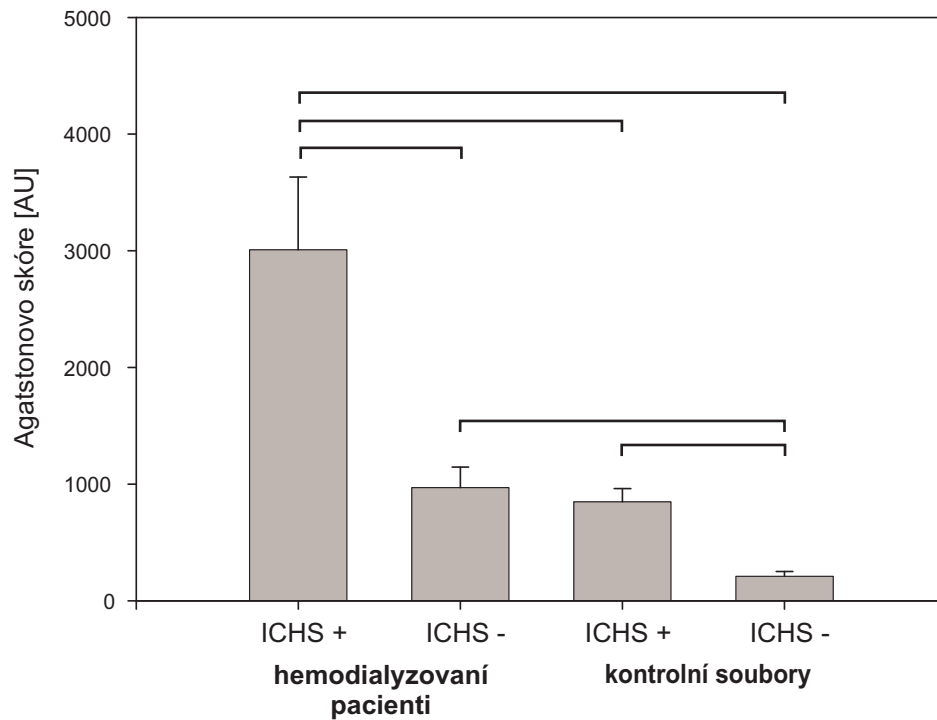
Multivariační analýza výskytu kalcifikací břišní aorty a viscerálních větví.

3.2. GRAFY



Graf 1

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – vývoj kortikální a trabekulární minerální kostní denzity (BMD) v podskupině žen a mužů. Statistická významnost testována Wilcoxonovým testem (***) $p < 0.001$ v čase) resp. testem Mann-Whitney (### $p < 0.001$ mezi skupinami).



Graf 2

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – skóre koronárních kalcifikací podle Agatstona v závislosti na výskytu ischemické choroby srdeční (ICHS) a selhání ledvin. Statistická významnost testována pomocí ANOVA (Kruskal-Wallis, $p < 0.001$).

hemodialyzovalní pacienti

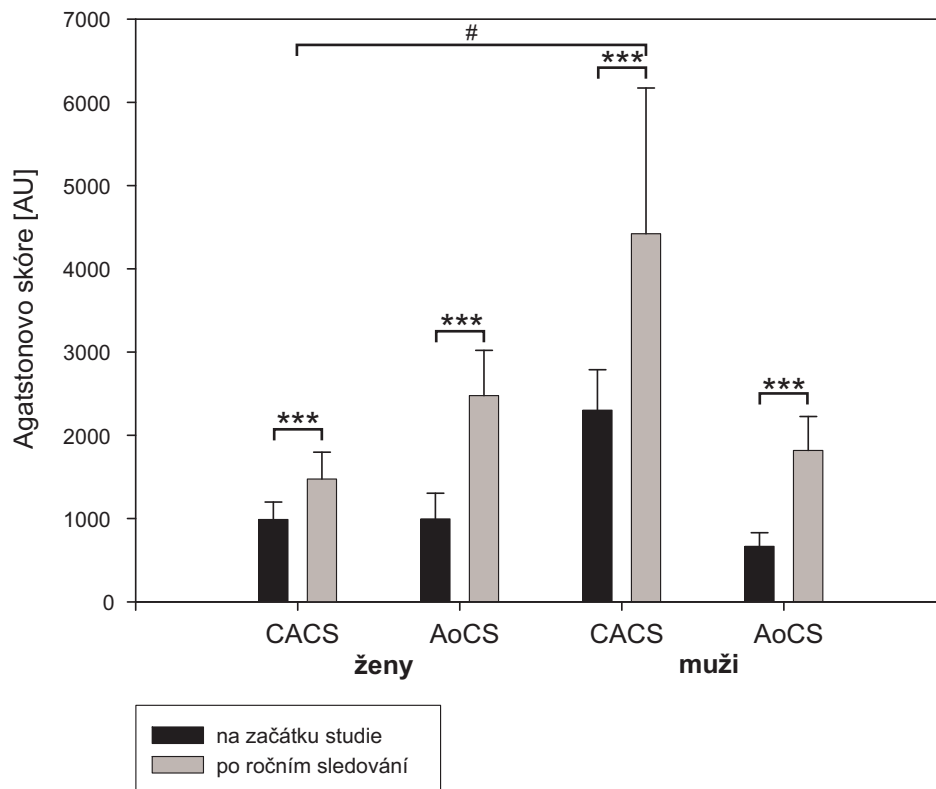
ICHS+ pacienti s dokumentovanou kardiovaskulární příhodou v minulosti

ICHS- pacienti bez dokumentované kardiovaskulární příhody

kontrolní soubory

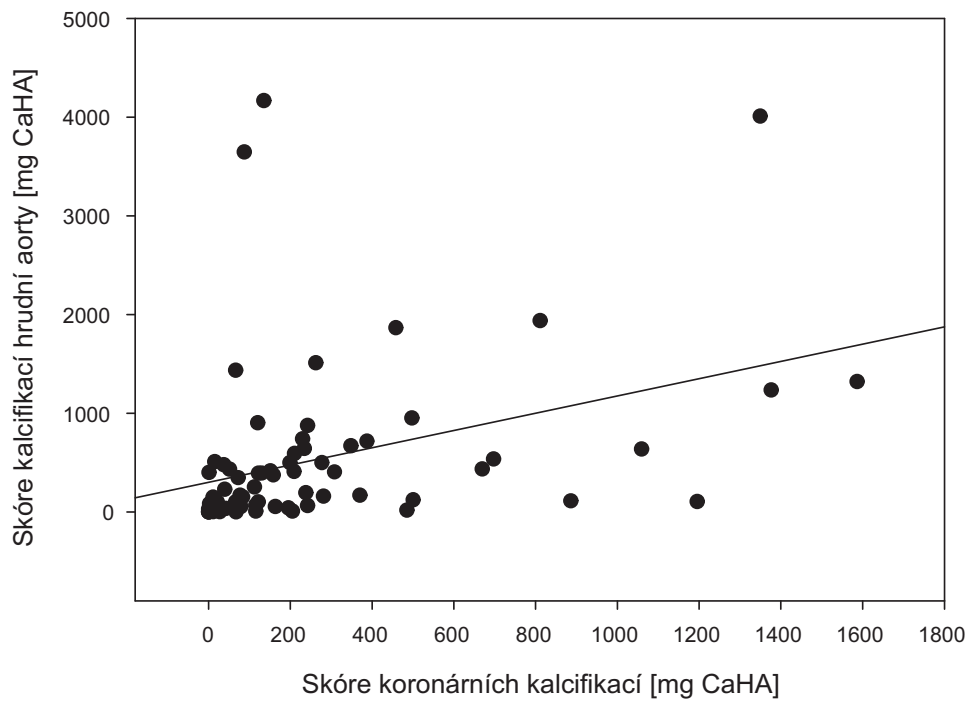
ICHS+ pacienti s angiograficky prokázanou koronární nemocí

ICHS- pacienti s diabetem a hyperlipoproteinémií bez prokázané koronární nemoci



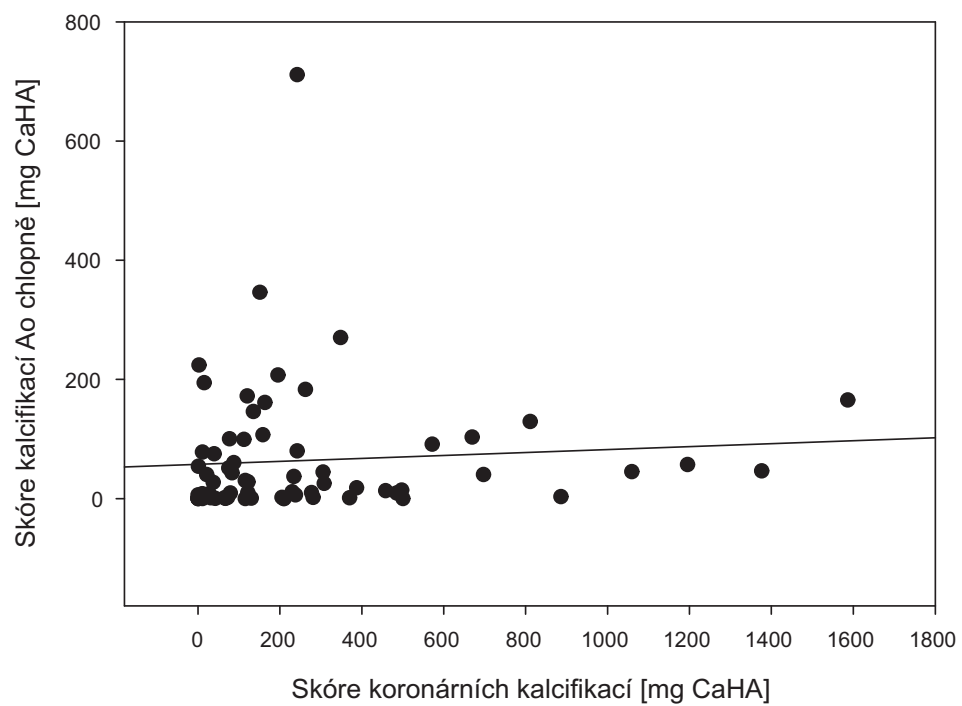
Graf 3

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – vývoj skóre koronárních kalcifikací (CACS) a kalcifikací aortální chlopně a sousedící hrudní aorty (AoCS) v podskupině žen a mužů. Statistická významnost testována dle Wilcoxon (***) $p < 0.001$ v čase) a testem Mann-Whitney (srovnávány relativní nárůsty # $p < 0.05$ mezi skupinami).



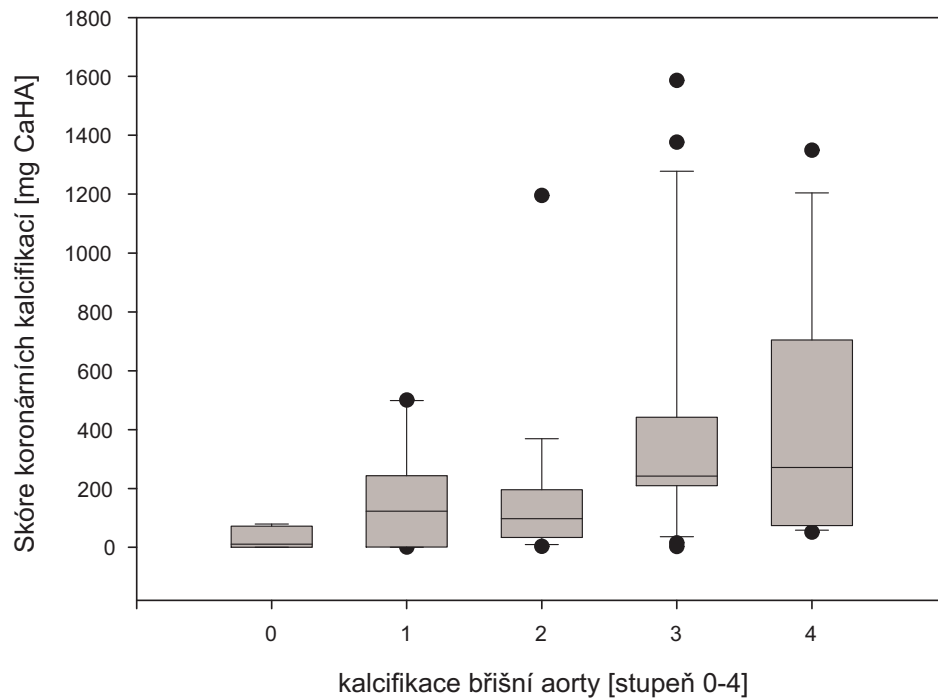
Graf 4

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – korelace mezi koronárními kalcifikacemi a kalcifikacemi hrudní aorty (Spearmanův test, $r=0.58$, $p<0.001$).



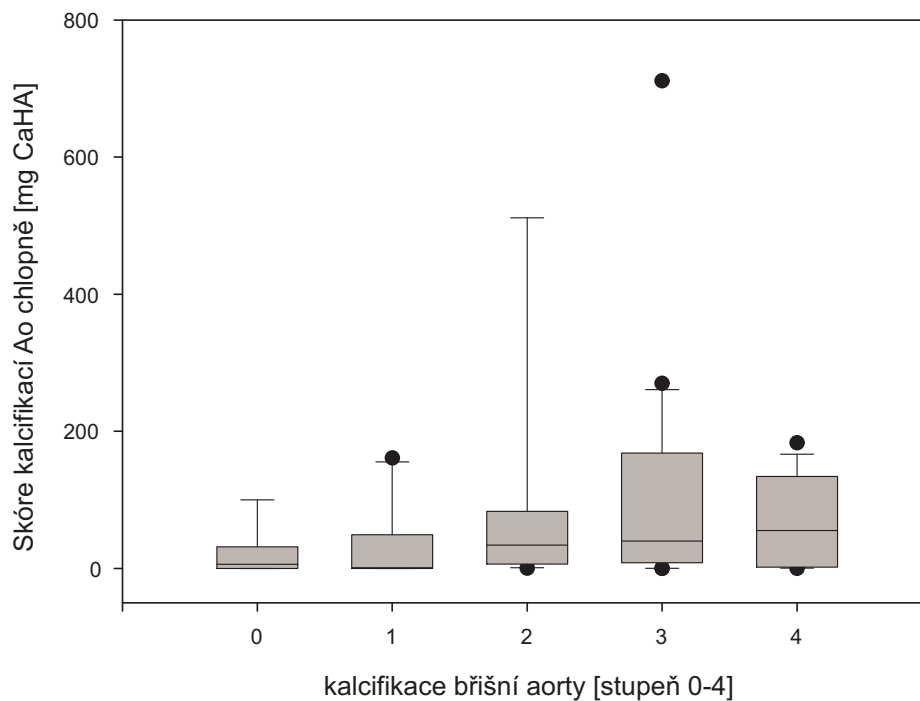
Graf 5

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – korelace mezi koronárními kalcifikacemi a kalcifikacemi aortální chlopně (Spearmanův test, $r=0.29$, $p<0.05$).



Graf 6

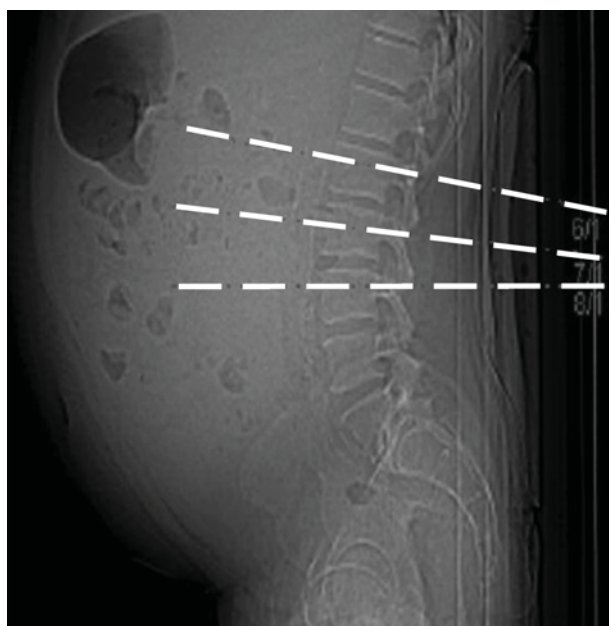
Soubor pacientů léčených hemodialýzou – vztah mezi kalcifikacemi břišní aorty (stupeň 0-4) a skóre koronárních kalcifikací (ANOVA - Kruskal-Wallis, $p < 0.001$).



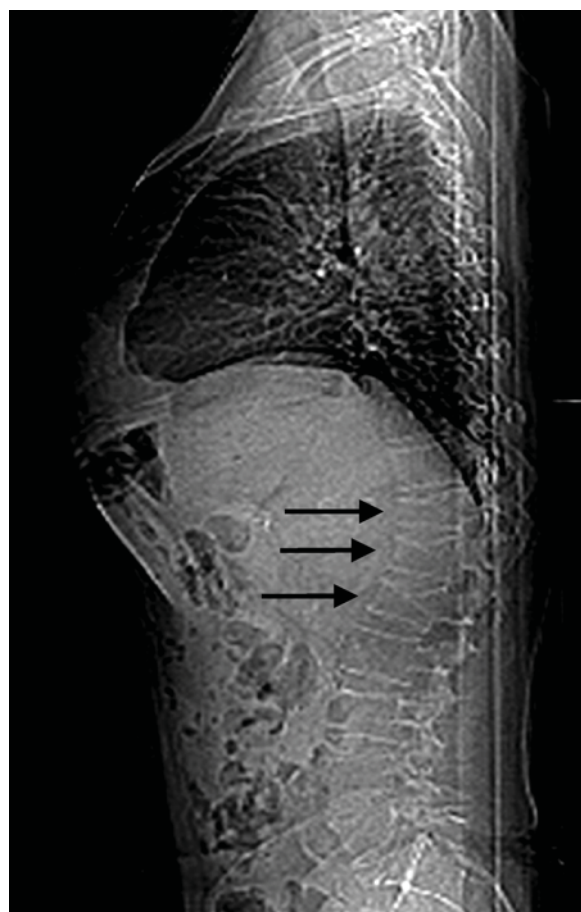
Graf 7

Soubor pacientů léčených hemodialýzou – vztah mezi kalcifikacemi břišní aorty (stupeň 0-4) a skóre kalcifikací aortální chlopně (ANOVA - Kruskal-Wallis, $p < 0.05$).

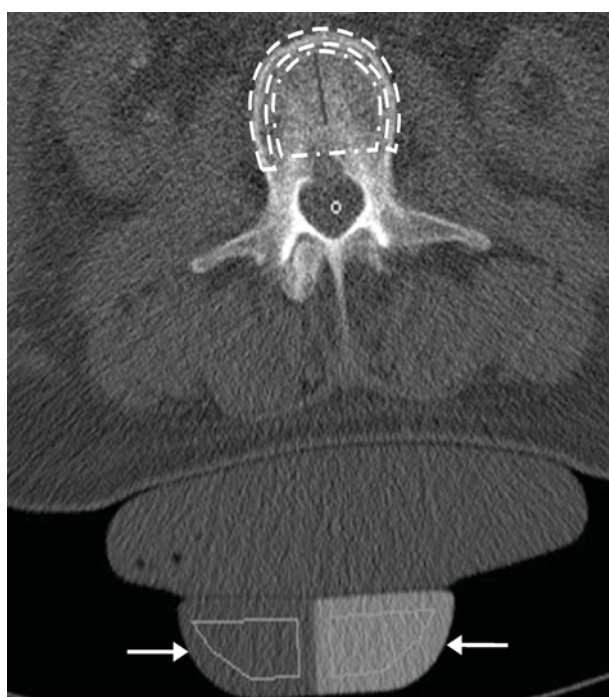
3.3. OBRÁZKY



A



C



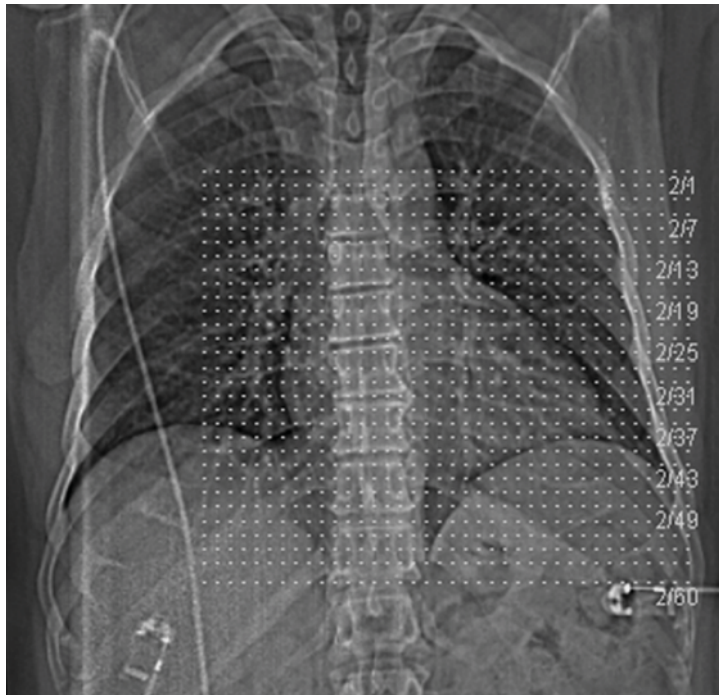
B

Obrázek 1

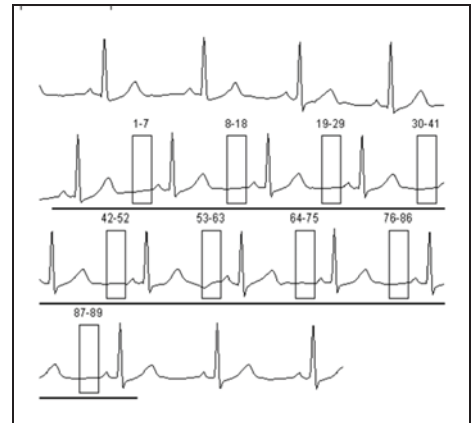
A Linie označují transverzálních řezy bederních obratlů, v nichž je měřena BMD.

B Vnější křivka ohraničuje oblast kortikální kosti pro měření kortikální BMD, vnitřní křivka vyznačuje oblast trabekulární kosti pro měření trabekulární BMD. Šipky ukazují umístění fantomů, které tvoří standard pro přesnou kvantifikaci CaHA (mg/ml kostní tkáně)

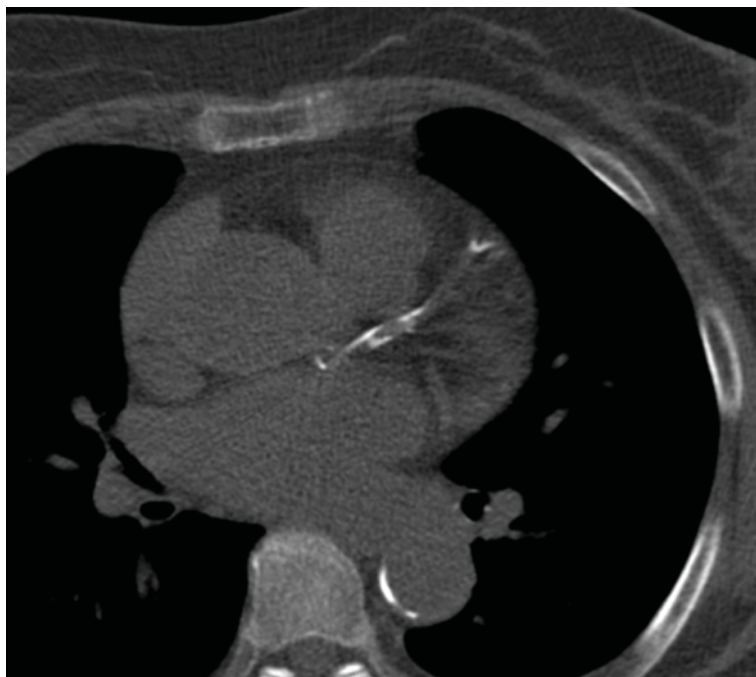
C Šipky označují kompresivní fraktury bederních obratlů na sagitálním řezu.



A



B



C

Obrázek 2

A Linie vyznačují transverzální řezy, v nichž jsou měřeny koronární kalcifikace

B Schéma ukazuje časové intervaly v nichž je prováděno snímkování (synchronizace s fází srdečního cyklu)

C Na řezu jsou patrné kalcifikace (charakteru mediokalcinózy) v průběhu LAD a aorty.

3.4. PODĚKOVÁNÍ

Klinické studie byly provedeny na Hemodialyzačním středisku I. interní kliniky a v Centru peritoneální dialýzy I. interní kliniky FN Plzeň. Zobrazovací vyšetření a jejich hodnocení bylo provedeno ve spolupráci s Radiodiagnostickou klinikou FN Plzeň.

Za pomoc při plánování, realizaci a hodnocení studií bych rád poděkoval především těmto kolegům:

Doc. MUDr. Sylvie Opatrná, PhD. se jako můj školitel podílela na všech fázích prezentovaného výzkumu a v průběhu doktorského studia mě neustále motivovala a korigovala. Bez její spolupráce by tato dizertace nepochybně nevznikla.

Prof. MUDr. Karel Opatrný Jr., DrSc. působil jako přednosta I. IK v době začátku mého studia a vstup do doktorského programu mi umožnil. Prof. Opatrný byl velkým vzorem a zdrojem inspirace, jeho zásluhou jsem si osvojil techniku vědecké práce.

MUDr. Kristina Ohlídalová, PhD. prováděla velmi pracné a časově náročné analýzy obrazového materiálu a poskytovala odbornou pomoc v oblastech radiodiagnostiky, které pro mne už navždy zůstanou neproniknutelnou záhadou.

Za vytrvalou podporu a nezměrnou toleranci nemohu dostatečně poděkovat své ženě Markétě...

3.5. PODPORA PRÁCE

Vznik této práce byl podporován z následujících zdrojů:

Výzkumný záměr MSM 111400002 “Náhrada funkce ledvin metodami očišťování krve a transplantací”

Výzkumný záměr MSM 0021620819 “Náhrada a podpora funkce některých životně důležitých orgánů”

3.6. LITERATURA

- [1] Roček, Z., *Historie obratlovců, evoluce, fylogeneze*, Academia, Praha 2002.
- [2] Murphy, W. A., Jr., Nedden Dz, D., Gostner, P., Knapp, R., *et al.*, The iceman: discovery and imaging. *Radiology* 2003, 226, 614-629.
- [3] McCullagh, K. G., Arteriosclerosis in the African elephant. I. Intimal atherosclerosis and its possible causes. *Atherosclerosis* 1972, 16, 307-335.
- [4] Foley, R. N., Collins, A. J., End-stage renal disease in the United States: an update from the United States Renal Data System. *J Am Soc Nephrol* 2007, 18, 2644-2648.
- [5] Foley, R. N., Parfrey, P. S., Sarnak, M. J., Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1998, 32, S112-119.
- [6] Sarnak, M. J., Levey, A. S., Schoolwerth, A. C., Coresh, J., *et al.*, Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003, 42, 1050-1065.
- [7] Goodkin, D. A., Bragg-Gresham, J. L., Koenig, K. G., Wolfe, R. A., *et al.*, Association of comorbid conditions and mortality in hemodialysis patients in Europe, Japan, and the United States: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *J Am Soc Nephrol* 2003, 14, 3270-3277.
- [8] Mittalhenkle, A., Gillen, D. L., Stehman-Breen, C. O., Increased risk of mortality associated with hip fracture in the dialysis population. *Am J Kidney Dis* 2004, 44, 672-679.
- [9] Alem, A. M., Sherrard, D. J., Gillen, D. L., Weiss, N. S., *et al.*, Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2000, 58, 396-399.
- [10] Sherrard, D. J., Hercz, G., Pei, Y., Maloney, N. A., *et al.*, The spectrum of bone disease in end-stage renal failure--an evolving disorder. *Kidney Int* 1993, 43, 436-442.
- [11] Coco, M., Rush, H., Increased incidence of hip fractures in dialysis patients with low serum parathyroid hormone. *Am J Kidney Dis* 2000, 36, 1115-1121.
- [12] Moe, S. M., Chen, N. X., Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. *Circ Res* 2004, 95, 560-567.
- [13] Goldsmith, D., Ritz, E., Covic, A., Vascular calcification: a stiff challenge for the nephrologist: does preventing bone disease cause arterial disease? *Kidney Int* 2004, 66, 1315-1333.
- [14] Nishizawa, Y., Shoji, T., Ishimura, E., Inaba, M., Morii, H., Paradox of risk factors for cardiovascular mortality in uremia: is a higher cholesterol level better for atherosclerosis in uremia? *Am J Kidney Dis* 2001, 38, S4-7.
- [15] Kovesdy, C. P., Anderson, J. E., Kalantar-Zadeh, K., Paradoxical association between body mass index and mortality in men with CKD not yet on dialysis. *Am J Kidney Dis* 2007, 49, 581-591.
- [16] Hujairi, N. M., Afzali, B., Goldsmith, D. J., Cardiac calcification in renal patients: what we do and don't know. *Am J Kidney Dis* 2004, 43, 234-243.
- [17] Braun, J., Oldendorf, M., Moshage, W., Heidler, R., *et al.*, Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996, 27, 394-401.

- [18] Schwarz, U., Buzello, M., Ritz, E., Stein, G., *et al.*, Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15, 218-223.
- [19] Beckman, J. A., Ganz, J., Creager, M. A., Ganz, P., Kinlay, S., Relationship of clinical presentation and calcification of culprit coronary artery stenoses. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001, 21, 1618-1622.
- [20] London, G. M., Cardiovascular disease in chronic renal failure: pathophysiologic aspects. *Semin Dial* 2003, 16, 85-94.
- [21] Guerin, A. P., London, G. M., Marchais, S. J., Metivier, F., Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000, 15, 1014-1021.
- [22] Martola, L., Barany, P., Stenvinkel, P., Why do dialysis patients develop a heart of stone and bone of china? *Blood Purif* 2005, 23, 203-210.
- [23] El-Abbadi, M., Giachelli, C. M., Arteriosclerosis, calcium phosphate deposition and cardiovascular disease in uremia: current concepts at the bench. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005, 14, 519-524.
- [24] Chertow, G. M., Raggi, P., Chasan-Taber, S., Bommer, J., *et al.*, Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004, 19, 1489-1496.
- [25] Block, G. A., Spiegel, D. M., Ehrlich, J., Mehta, R., *et al.*, Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005, 68, 1815-1824.
- [26] Asmus, H. G., Braun, J., Krause, R., Brunkhorst, R., *et al.*, Two year comparison of sevelamer and calcium carbonate effects on cardiovascular calcification and bone density. *Nephrol Dial Transplant* 2005, 20, 1653-1661.
- [27] Teng, M., Wolf, M., Lowrie, E., Ofsthun, N., *et al.*, Survival of patients undergoing hemodialysis with paricalcitol or calcitriol therapy. *N Engl J Med* 2003, 349, 446-456.
- [28] Qunibi, W. Y., Hootkins, R. E., McDowell, L. L., Meyer, M. S., *et al.*, Treatment of hyperphosphatemia in hemodialysis patients: The Calcium Acetate Renagel Evaluation (CARE Study). *Kidney Int* 2004, 65, 1914-1926.
- [29] Urena, P., Bernard-Poenaru, O., Ostertag, A., Baudoin, C., *et al.*, Bone mineral density, biochemical markers and skeletal fractures in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003, 18, 2325-2331.
- [30] Taal, M. W., Masud, T., Green, D., Cassidy, M. J., Risk factors for reduced bone density in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999, 14, 1922-1928.
- [31] Zayour, D., Daouk, M., Medawar, W., Salamoun, M., El-Hajj Fuleihan, G., Predictors of bone mineral density in patients on hemodialysis. *Transplant Proc* 2004, 36, 1297-1301.
- [32] Negri, A. L., Barone, R., Quiroga, M. A., Bravo, M., *et al.*, Bone mineral density: serum markers of bone turnover and their relationships in peritoneal dialysis. *Perit Dial Int* 2004, 24, 163-168.
- [33] Stein, M. S., Packham, D. K., Ebeling, P. R., Wark, J. D., Becker, G. J., Prevalence and risk factors for osteopenia in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996, 28, 515-522.
- [34] Altintepe, L., Levendoglu, F., Okudan, N., Guney, I., *et al.*, Physical disability, psychological status, and health-related quality of life in older hemodialysis patients and age-matched controls. *Hemodial Int* 2006, 10, 260-266.
- [35] Ketteler, M., Bongartz, P., Westenfeld, R., Wildberger, J. E., *et al.*, Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003, 361, 827-833.

- [36] Schafer, C., Heiss, A., Schwarz, A., Westenfeld, R., *et al.*, The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 2003, 112, 357-366.
- [37] Luo, G., Ducey, P., McKee, M. D., Pinero, G. J., *et al.*, Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997, 386, 78-81.
- [38] Shanahan, C. M., Proudfoot, D., Tyson, K. L., Cary, N. R., *et al.*, Expression of mineralisation-regulating proteins in association with human vascular calcification. *Z Kardiol* 2000, 89 Suppl 2, 63-68.
- [39] Price, P. A., Faus, S. A., Williamson, M. K., Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998, 18, 1400-1407.
- [40] Coates, T., Kirkland, G. S., Dymock, R. B., Murphy, B. F., *et al.*, Cutaneous necrosis from calcific uremic arteriolopathy. *Am J Kidney Dis* 1998, 32, 384-391.
- [41] Harmey, D., Hessle, L., Narisawa, S., Johnson, K. A., *et al.*, Concerted regulation of inorganic pyrophosphate and osteopontin by *akp2*, *enpp1*, and *ank*: an integrated model of the pathogenesis of mineralization disorders. *Am J Pathol* 2004, 164, 1199-1209.
- [42] Lomashvili, K. A., Khawandi, W., O'Neill, W. C., Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16, 2495-2500.
- [43] Bucay, N., Sarosi, I., Dunstan, C. R., Morony, S., *et al.*, osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998, 12, 1260-1268.
- [44] Nitta, K., Akiba, T., Uchida, K., Kawashima, A., *et al.*, The progression of vascular calcification and serum osteoprotegerin levels in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2003, 42, 303-309.
- [45] Proudfoot, D., Skepper, J. N., Hegyi, L., Bennett, M. R., *et al.*, Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 2000, 87, 1055-1062.
- [46] McCullough, P. A., Sandberg, K. R., Dumler, F., Yanez, J. E., Determinants of coronary vascular calcification in patients with chronic kidney disease and end-stage renal disease: a systematic review. *J Nephrol* 2004, 17, 205-215.
- [47] Chen, N. X., O'Neill, K. D., Duan, D., Moe, S. M., Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 2002, 62, 1724-1731.
- [48] Reynolds, J. L., Joannides, A. J., Skepper, J. N., McNair, R., *et al.*, Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2004, 15, 2857-2867.
- [49] Moe, S. M., Reslerova, M., Ketteler, M., O'Neill, K., *et al.*, Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney Int* 2005, 67, 2295-2304.
- [50] Vattikuti, R., Towler, D. A., Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004, 286, E686-696.
- [51] Tyson, K. L., Reynolds, J. L., McNair, R., Zhang, Q., *et al.*, Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003, 23, 489-494.
- [52] Farzaneh-Far, A., Proudfoot, D., Weissberg, P. L., Shanahan, C. M., Matrix gla protein is regulated by a mechanism functionally related to the calcium-sensing receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 2000, 277, 736-740.

- [53] Huang, H., Virmani, R., Younis, H., Burke, A. P., *et al.*, The impact of calcification on the biomechanical stability of atherosclerotic plaques. *Circulation* 2001, *103*, 1051-1056.
- [54] Jono, S., McKee, M. D., Murry, C. E., Shioi, A., *et al.*, Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000, *87*, E10-17.
- [55] Bostrom, K., Watson, K. E., Horn, S., Wortham, C., *et al.*, Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 1993, *91*, 1800-1809.
- [56] Eanes, E. D., Gillissen, I. H., Posner, A. S., Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite. *Nature* 1965, *208*, 365-367.
- [57] Wenisch, S., Stahl, J. P., Horas, U., Heiss, C., *et al.*, In vivo mechanisms of hydroxyapatite ceramic degradation by osteoclasts: fine structural microscopy. *J Biomed Mater Res A* 2003, *67*, 713-718.
- [58] Young, M. F., Bone matrix proteins: their function, regulation, and relationship to osteoporosis. *Osteoporos Int* 2003, *14 Suppl 3*, S35-42.
- [59] George, E. L., Georges-Labouesse, E. N., Patel-King, R. S., Rayburn, H., Hynes, R. O., Defects in mesoderm, neural tube and vascular development in mouse embryos lacking fibronectin. *Development* 1993, *119*, 1079-1091.
- [60] Delany, A. M., Amling, M., Priemel, M., Howe, C., *et al.*, Osteopenia and decreased bone formation in osteonectin-deficient mice. *J Clin Invest* 2000, *105*, 1325.
- [61] Boskey, A. L., Gadaleta, S., Gundberg, C., Doty, S. B., *et al.*, Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone* 1998, *23*, 187-196.
- [62] Ishijima, M., Rittling, S. R., Yamashita, T., Tsuji, K., *et al.*, Enhancement of osteoclastic bone resorption and suppression of osteoblastic bone formation in response to reduced mechanical stress do not occur in the absence of osteopontin. *J Exp Med* 2001, *193*, 399-404.
- [63] Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., *et al.*, Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997, *89*, 755-764.
- [64] Raisz, L. G., Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 2005, *115*, 3318-3325.
- [65] Boyce, B. F., Xing, L., Shakespeare, W., Wang, Y., *et al.*, Regulation of bone remodeling and emerging breakthrough drugs for osteoporosis and osteolytic bone metastases. *Kidney Int Suppl* 2003, S2-5.
- [66] Schmitt, C. P., Homme, M., Schaefer, F., Structural organization and biological relevance of oscillatory parathyroid hormone secretion. *Pediatr Nephrol* 2005, *20*, 346-351.
- [67] Miller, M. A., Chin, J., Miller, S. C., Fox, J., Disparate effects of mild, moderate, and severe secondary hyperparathyroidism on cancellous and cortical bone in rats with chronic renal insufficiency. *Bone* 1998, *23*, 257-266.
- [68] Heaf, J., Causes and consequences of adynamic bone disease. *Nephron* 2001, *88*, 97-106.
- [69] London, G. M., Marty, C., Marchais, S. J., Guerin, A. P., *et al.*, Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004, *15*, 1943-1951.
- [70] Kauppila, L. I., Polak, J. F., Cupples, L. A., Hannan, M. T., *et al.*, New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis* 1997, *132*, 245-250.
- [71] Higgins, C. L., Marvel, S. A., Morrisett, J. D., Quantification of calcification in atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005, *25*, 1567-1576.

- [72] Hong, C., Becker, C. R., Schoepf, U. J., Ohnesorge, B., *et al.*, Coronary artery calcium: absolute quantification in nonenhanced and contrast-enhanced multi-detector row CT studies. *Radiology* 2002, 223, 474-480.
- [73] Erlichman, M., Holohan, T. V., Bone densitometry: patients with end-stage renal disease. *Health Technol Assess (Rockv)* 1996, 1-27.
- [74] Lechleitner, P., Krimbacher, E., Genser, N., Fridrich, L., *et al.*, Bone mineral densitometry in dialyzed patients: quantitative computed tomography versus dual photon absorptiometry. *Bone* 1994, 15, 387-391.
- [75] Wehrli, F. W., Structural and functional assessment of trabecular and cortical bone by micro magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging* 2007, 25, 390-409.
- [76] Urena, P., De Vernejoul, M. C., Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. *Kidney Int* 1999, 55, 2141-2156.
- [77] Bervoets, A. R., Spasovski, G. B., Behets, G. J., Dams, G., *et al.*, Useful biochemical markers for diagnosing renal osteodystrophy in predialysis end-stage renal failure patients. *Am J Kidney Dis* 2003, 41, 997-1007.
- [78] Harris, H., The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1990, 186, 133-150.
- [79] Kronenberg, H. M., Parathyroid hormone and osteocalcin--when friends become strangers. *Endocrinology* 1997, 138, 3083-3084.
- [80] Coen, G., Ballanti, P., Mazzaferro, S., Pasquali, M., Bonucci, E., Procollagen type 1 C-terminal extension peptide, PTH and 1,25 (OH) 2D3 in chronic renal failure. *Bone* 1993, 14, 415-420.
- [81] Lopez Gavilanes, E., Gonzalez Parra, E., de la Piedra, C., Caramelo, C., Rapado, A., Clinical usefulness of serum carboxyterminal propeptide of procollagen I and tartrate-resistant acid phosphatase determinations to evaluate bone turnover in patients with chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1994, 20, 259-264.
- [82] Ibrahim, S., Mojiminiyi, S., Barron, J. L., Pyridinium crosslinks in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1995, 10, 2290-2294.
- [83] Mazzaferro, S., Pasquali, M., Ballanti, P., Bonucci, E., *et al.*, Diagnostic value of serum peptides of collagen synthesis and degradation in dialysis renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant* 1995, 10, 52-58.
- [84] Cantor, T. L., 7-84 PTH lowers bone turnover and explains why the 1-84 PTH/7-84 PTH ratio predicts bone turnover. *Kidney Int* 2004, 66, 461.
- [85] Coen, G., Ballanti, P., Balducci, A., Calabria, S., *et al.*, Serum osteoprotegerin and renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant* 2002, 17, 233-238.
- [86] Kanis, J. A., Gluer, C. C., An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2000, 11, 192-202.
- [87] Pacifici, R., Rupich, R., Griffin, M., Chines, A., *et al.*, Dual energy radiography versus quantitative computer tomography for the diagnosis of osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1990, 70, 705-710.
- [88] Rodriguez Garcia, M., Naves Diaz, M., Cannata Andia, J. B., Bone metabolism, vascular calcifications and mortality: associations beyond mere coincidence. *J Nephrol* 2005, 18, 458-463.
- [89] van der Klift, M., Pols, H. A., Hak, A. E., Witteman, J. C., *et al.*, Bone mineral density and the risk of peripheral arterial disease: the Rotterdam Study. *Calcif Tissue Int* 2002, 70, 443-449.

- [90] Tanko, L. B., Bagger, Y. Z., Christiansen, C., Low bone mineral density in the hip as a marker of advanced atherosclerosis in elderly women. *Calcif Tissue Int* 2003, 73, 15-20.
- [91] Schulz, E., Arfai, K., Liu, X., Sayre, J., Gilsanz, V., Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89, 4246-4253.
- [92] Pennisi, P., Signorelli, S. S., Riccobene, S., Celotta, G., *et al.*, Low bone density and abnormal bone turnover in patients with atherosclerosis of peripheral vessels. *Osteoporos Int* 2004, 15, 389-395.
- [93] Bagger, Y. Z., Tanko, L. B., Alexandersen, P., Qin, G., Christiansen, C., Radiographic measure of aorta calcification is a site-specific predictor of bone loss and fracture risk at the hip. *J Intern Med* 2006, 259, 598-605.
- [94] Farhat, G. N., Strotmeyer, E. S., Newman, A. B., Sutton-Tyrrell, K., *et al.*, Volumetric and areal bone mineral density measures are associated with cardiovascular disease in older men and women: the health, aging, and body composition study. *Calcif Tissue Int* 2006, 79, 102-111.
- [95] Aoyagi, K., Ross, P. D., Orloff, J., Davis, J. W., *et al.*, Low bone density is not associated with aortic calcification. *Calcif Tissue Int* 2001, 69, 20-24.
- [96] Nakashima, A., Yorioka, N., Tanji, C., Asakimori, Y., *et al.*, Bone mineral density may be related to atherosclerosis in hemodialysis patients. *Osteoporos Int* 2003, 14, 369-373.
- [97] Raggi, P., Bellasi, A., Ferramosca, E., Block, G. A., Muntner, P., Pulse wave velocity is inversely related to vertebral bone density in hemodialysis patients. *Hypertension* 2007, 49, 1278-1284.
- [98] Jamal, S. A., Chase, C., Goh, Y. I., Richardson, R., Hawker, G. A., Bone density and heel ultrasound testing do not identify patients with dialysis-dependent renal failure who have had fractures. *Am J Kidney Dis* 2002, 39, 843-849.
- [99] Yamaguchi, T., Kanno, E., Tsubota, J., Shiomi, T., *et al.*, Retrospective study on the usefulness of radius and lumbar bone density in the separation of hemodialysis patients with fractures from those without fractures. *Bone* 1996, 19, 549-555.
- [100] Genant, H. K., Jergas, M., Assessment of prevalent and incident vertebral fractures in osteoporosis research. *Osteoporos Int* 2003, 14 Suppl 3, S43-55.
- [101] Hoffmann, U., Kwait, D. C., Handwerker, J., Chan, R., *et al.*, Vascular calcification in ex vivo carotid specimens: precision and accuracy of measurements with multi-detector row CT. *Radiology* 2003, 229, 375-381.
- [102] Stanford, W., Thompson, B. H., Burns, T. L., Heery, S. D., Burr, M. C., Coronary artery calcium quantification at multi-detector row helical CT versus electron-beam CT. *Radiology* 2004, 230, 397-402.
- [103] Allison, M. A., Cheung, P., Criqui, M. H., Langer, R. D., Wright, C. M., Mitral and aortic annular calcification are highly associated with systemic calcified atherosclerosis. *Circulation* 2006, 113, 861-866.
- [104] Lyhne, N., Pedersen, F. B., Changes in bone mineral content during long-term CAPD. Indication of a sex-dependent bone mineral loss. *Nephrol Dial Transplant* 1995, 10, 395-398.
- [105] Gabay, C., Ruedin, P., Slosman, D., Bonjour, J. P., *et al.*, Bone mineral density in patients with end-stage renal failure. *Am J Nephrol* 1993, 13, 115-123.
- [106] Atsumi, K., Kushida, K., Yamazaki, K., Shimizu, S., *et al.*, Risk factors for vertebral fractures in renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 1999, 33, 287-293.
- [107] Inaba, M., Okuno, S., Kumeda, Y., Yamakawa, T., *et al.*, Increased incidence of vertebral fracture in older female hemodialyzed patients with type 2 diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int* 2005, 76, 256-260.

- [108] O'Neill, T. W., Felsenberg, D., Varlow, J., Cooper, C., *et al.*, The prevalence of vertebral deformity in european men and women: the European Vertebral Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res* 1996, *11*, 1010-1018.
- [109] Raggi, P., Boulay, A., Chasan-Taber, S., Amin, N., *et al.*, Cardiac calcification in adult hemodialysis patients. A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol* 2002, *39*, 695-701.
- [110] Nitta, K., Akiba, T., Suzuki, K., Uchida, K., *et al.*, Assessment of coronary artery calcification in hemodialysis patients using multi-detector spiral CT scan. *Hypertens Res* 2004, *27*, 527-533.
- [111] London, G. M., Marchais, S. J., Guerin, A. P., Boutouyrie, P., *et al.*, Association of bone activity, calcium load, aortic stiffness, and calcifications in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2008, *19*, 1827-1835.
- [112] Goodman, W. G., Goldin, J., Kuizon, B. D., Yoon, C., *et al.*, Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000, *342*, 1478-1483.
- [113] Tsurusaki, K., Ito, M., Hayashi, K., Differential effects of menopause and metabolic disease on trabecular and cortical bone assessed by peripheral quantitative computed tomography (pQCT). *Br J Radiol* 2000, *73*, 14-22.
- [114] London, G. M., Guerin, A. P., Marchais, S. J., Metivier, F., *et al.*, Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003, *18*, 1731-1740.
- [115] Coen, G., Ballanti, P., Bonucci, E., Calabria, S., *et al.*, Renal osteodystrophy in predialysis and hemodialysis patients: comparison of histologic patterns and diagnostic predictivity of intact PTH. *Nephron* 2002, *91*, 103-111.

3.7. SEZNAM ZKRATEK

ABD	adynamic bone disease
ACP	amorphous calcium phosphate
ALP	alkaline phosphatase
AoCS	aortic calcification score
AS	Agatston score
AU	Agatston units
BAP	bone alkaline phosphatase
BMD	bone mineral density
BMP	bone morphogenic protein
BSP	bone sialoprotein
Ca	calcium
CACS	coronary artery calcification score
CaHA	calcium hydroxyapatite
CAPD	continuous ambulatory peritoneal dialysis
CBFA	core-binding factor alpha
CRP	C-reactive protein
CT	calcitonin
CX	circumflex (coronary artery)
DPA	dual photon absorptiometry
DPD	deoxypyridinolin
DXA	dual x-ray absorptiometry
DYP	pyridinolin
EBCT	electron beam computed tomography
ENPP1	ektonukleotid pyrofosfatázou
ESRD	end-stage renal disease
Gla	γ -carboxyglutamic acid
HD	hemodialysis
HTBD	high-turnover bone disease
HU	Hounsfield units
ICHS	ischemická choroba srdeční
IL	interleukin
IMT	intima-media thickness
IVUS	intravascular ultrasound
LAD	left anterior descending (coronary artery)
LM	left main (coronary artery)
LTBD	low-turnover bone disease
M-CSF	macrophage-colony stimulating factor
MGP	matrix Gla protein
NKF-DOQI	National Kidney Foundation – Dialysis Outcome Quality Initiative
OCN	osteocalcin
OPG	osteoprotegerin
OPN	osteopontin

P	phosphate
PTH	parathyroid hormone
qCT	quantitative computed tomography
RANKL	receptor activator NF- κ B ligand
RCA	right coronary artery
RT-PCR	real time - polymerase chain reaction
TNF	tumor necrosis factor
TRAP	tartrate-resistant acidic phosphatase
VSMC	vascular smooth muscle cell

3.8. PRÁCE PUBLIKOVANÉ A PŘIPRAVENÉ K PUBLIKACI

SEZNAM PUBLIKACÍ:

1. Mares J, Opatrna S, Ferda J, Opatrny K Jr, Tomsu M, Sefrna F, Kreuzberg B, Topolcan O.
Computed tomography-based assessment of bone mineral density in patients treated with peritoneal dialysis.
Perit Dial Int 2003; 23(6): 601-3.
2. Mares J, Ohlidalova K, Opatrna S, Ferda J.
Determinants of prevalent vertebral fractures and progressive bone loss in long-term hemodialysis patients.
J Bone and Miner Metabol 2009; 27(2).
3. Mares J, Ohlidalova K, Opatrna S, Ferda J.
Vascular calcifications are associated with vertebral bone mineral density in patients treated with maintenance hemodialysis.
Manuskript byl odeslán k recenznímu řízení v únoru 2009
4. Ohlidalová K, Mareš J, Ferda J, Mírka H, Baxa J.
Hodnocení koronárního kalciového skóre u hemodialyzovaných pacientů.
Ces Radiol 2007; 61(4): 380 -386.
5. Ohlidalová K, Mareš J, Ferda J, Mírka H, Kreuzberg B.
Hodnocení kostní denzity u hemodialyzovaných pacientů.
Ces Radiol 2007; 61 (1): 68 – 73.