**1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy**
**Postgraduální doktorské studium biomedicíny**

---

# 2002-2008

**Doktorand: MUDr. Robert Bém**
**Školitel: Prof. MUDr. Alexandra Jirkovská, CSc.**

**Téma dizertační práce:**

# Kostní metabolismus, infekce a ischémie u syndromu diabetické nohy

**Studijní program: Postgraduální doktorské studium v biomedicíně**
**Oborová rada: Fyziologie a patofyziologie člověka**
**(předseda Prof. MUDr. Stanislav Trojan, DrSc.)**
**Fakulta: 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy**
**Školící pracoviště: Centrum diabetologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Vídeňská 1958/9, Praha 4**

**Oponenti: 1. .....**
**2. .....**
**3. .....**

**V Praze .....**

**Obsah:**

**1 Úvod dizertační práce a literární přehled k její problematice……..5**

1.1 Kostní metabolismus a Charcotova neuroosteoarthropatie…….5

1.2 Problematika ischémie a infekce u syndromu diabetické nohy……11

1.3 Léčba syndromu diabetické nohy……..15

**2 Cíle dizertační práce……..……..20**

**3 Vybrané metodiky jednotlivých studií……...……21**

3.1 Stanovení biochemických parametrů kostní remodelace a dalších biochemických parametrů……...……21

3.2 Kvantitativní dynamická scintigrafie skeletu v diagnostice Charcotovy neuroosteoarthropatie…….21

3.3 Vyšetření autonomní neuropatie spektrální analýzou variability srdeční frekvence.23

3.4 Měření transkutánní tenze kyslíku ……25

3.5 Mikrobiologické techniky……..26

3.6 Biologický debridement - larvální terapie……..26

3.7 Léčba ran pomocí metody řízeného lokálního podtlaku……...…….28

3.8 Použité statistické metody……..29

**4 Uspořádání studií, přehled výsledků a diskuze k jednotlivým studiím……..30**

4.1 Kostní metabolismus a Charcotova neuroosteoarthropatie……30

Studie 1: Role nazálního kalcitoninu v léčbě akutní Charcotovy neuroosteoarthropatie……...……30

Studie 2: Dlouhodobý efekt léčby nazálním kalcitoninem u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií……..34

Studie 3: Využití kvantitativních parametrů dynamické kostní scintigrafie u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií……...……39

Studie 4: Diagnostika autonomní neuropatie pomocí spektrální analýzy variability srdeční frekvence u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií……..….46

Studie 5: Reproducibilita spektrální analýzy variability srdeční frekvence v akutním a chronickém stádiu Charcotovy neuroosteoarthropatie a její asociace s aktivitou kostní remodelace……...…49

Studie 6**:** Atypické lokalizace Charcotovy neuroosteoarthropatie u pacientů s diabetem……...51

4.2 Problematika ischémie a infekce u syndromu diabetické nohy…….55
Studie 7: Rizikové faktory obtížného hojení po nízké amputaci u pacientů se syndromem diabetické nohy se zaměřením na význam měření transkutánního kyslíku…….55
4.3 Nové metody léčby syndromu diabetické nohy……...…..59
Studie 8: Biologický debridement u syndromu diabetické nohy ..……59
Studie 9: Využití řízeného lokálního podtlaku v léčbě syndromu diabetické nohy...64
**5 Závěry dizertační práce……...…67**
**6 Souhrn……...70**
**7 Poděkování……....74**
**8 Seznam použitých zkratek…….….....…...75**
**9 Seznam použité literatury……...76**
**10 Přehled vlastních publikací…….……..83**
**11 Seznam příloh dizertační práce……...…….96**

# 1 Úvod dizertační práce a literární přehled k její problematice

Syndrom diabetické nohy (SDN) je jednou z nejčastějších pozdních komplikací diabetu, který významně ovlivňuje kvalitu života pacientů s diabetem. SDN je dle WHO definován jako infekce, ulcerace nebo destrukce hlubokých tkání nohy spojená s neurologickými abnormalitami a s různým stupněm ischemické choroby dolní končetiny - ICHDK (1). SDN postihuje 5-10 % všech pacientů s diabetem a je nejčastější příčinou netraumatických amputací v České republice i celosvětově (2). Vhodnými preventivními i terapeutickými postupy lze často amputacím předejít, přesto počet amputačních výkonů stále narůstá (3-5). Dizertační práce je zaměřena na problematiku kostního metabolismu, infekce a ischémie SDN a na zavedení nových diagnostických a terapeutických metod u pacientů se SDN.

## *1.1 Kostní metabolismus a Charcotova neuroosteoarthropatie*

Charcotova neuroosteoarthropatie (CNO) je neinfekční destrukce kostí a kloubů na podkladě neuropatie nejčastěji v oblasti nohy, viz obr. 1 (6).

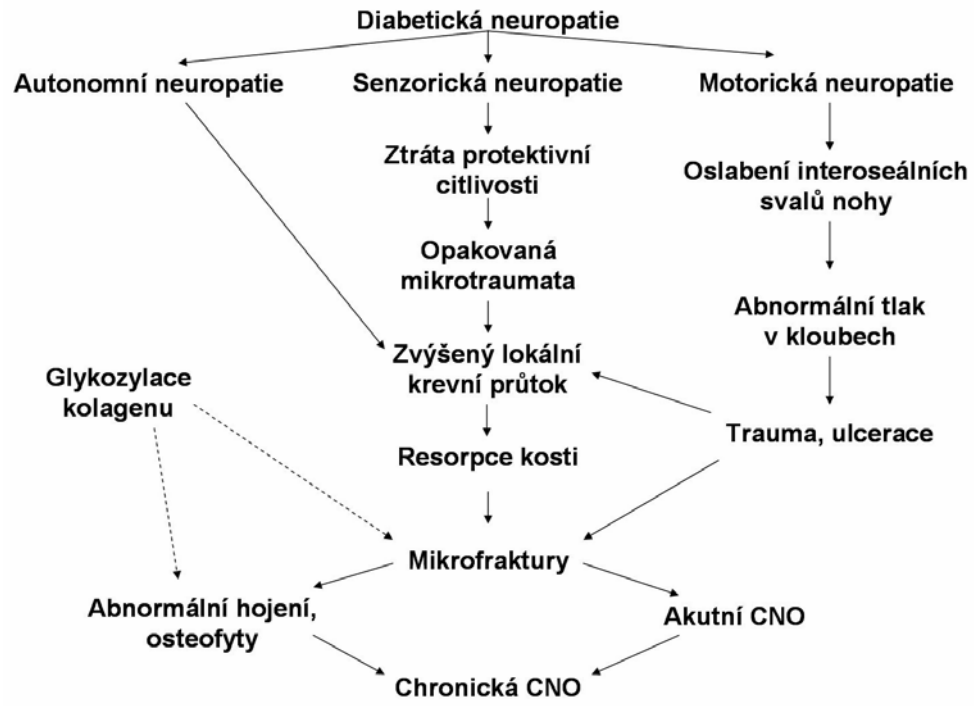
Onemocnění se v akutním stádiu projevuje zejména otokem a zarudnutím postižené nohy. Pokud není urgentně zahájena adekvátní terapie, pak často dochází k destrukci postižených kostí a kloubů, což vede ke vzniku deformit nohy (7, 8). Ty jsou pak příčinou zvýšení rizika vzniku ulcerace a následně i amputace nohy. Prevalence tohoto onemocnění se v populaci pacientů s diabetem pohybuje mezi 0,3-0,5 % (6, 9, 10). Radiologické změny skeletu nohy ve smyslu CNO se však objevují mnohem častěji, bývají přítomny u 1,4-29 % pacientů s diabetem (11, 12). Nejčastější výskyt onemocnění je mezi 5. a 6. dekádou života u pacientů s délkou trvání diabetu více než deset let (10, 13, 14).

**Obr. 1** *Akutní CNO u pacienta se SDN (a), RTG nález CNO s typickým postižením skeletu (b)*

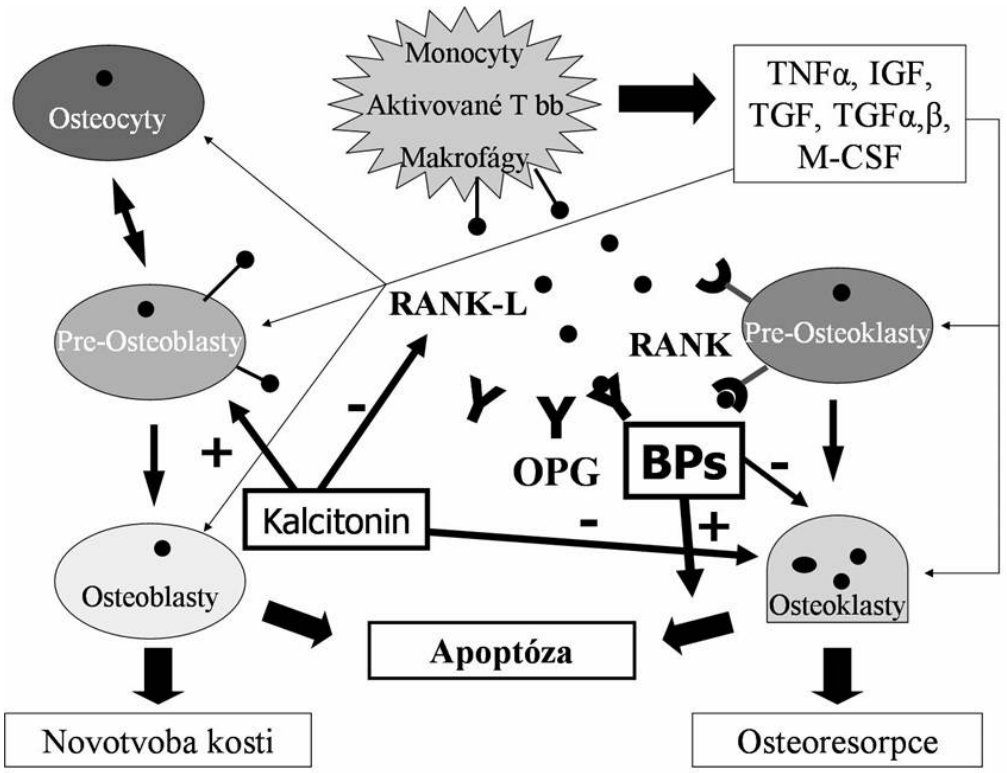
Oboustranné postižení bylo pozorováno u 9-39 % pacientů (15, 16). Onemocnění výrazně zvyšuje riziko vzniku ulcerace postižené končetiny, dále roste i riziko amputace a je prokázáno i zkrácené přežívání pacientů s CNO (17).

Souvislost mezi onemocněním páteře a akutní arthropatií v oblasti nohy poprvé pozoroval J.K.Mitchell v roce 1831 (18). J.M. Charcot od roku 1853 studoval pacienty s tabes dorsalis a jako první v roce 1868 publikoval článek popisující vznik akutní arthropatie v závislosti na postižení senzomotorických nervů (19). O téměř 70 let později W.R. Jordan poprvé poukázal na souvislost mezi diabetem a CNO (20). J.M. Charcot věřil, že příčinou onemocnění je destrukce trofických center centrálního nervového systému, která kontrolují nutriční zásobení kostí a kloubů. Později byly diskutovány dvě hlavní teorie **patogeneze** CNO. První, neurotraumatická teorie, předpokládala, že porucha senzorické zpětné vazby a opakované mechanické trauma způsobují progresivní destrukci kostí a kloubů (21). Druhá, neurovaskulární teorie, kladla důraz na změny cévního zásobení způsobené neuropatií - především poruchu sympatiku. Při ní dochází k vazodilataci a hyperémii, které podporují kostní resorpci (22). Správnost obou teorií je podpořena řadou klinických i laboratorních pozorování (23, 24).

Ztráta propriocepce se zdá být jedním z nejvýznamnějších příčinných faktorů v patogenezi CNO (25), viz obr. 2**.** V současné době přibývá prací, které se zabývají touto problematikou na celulární a molekulární úrovni, zejména OPG/RANK-L (osteoprotegerin/ligand receptorového aktivátoru nukleárního faktoru kappa β) signalizačním systémem (26, 27), viz obr. 3. RANK-L je transmembránový protein podobný TNF (tumor necrosis factor), který interaguje s RANK receptorem na pre-osteoklastu a aktivuje nukleární transkripční faktor kappa β, který aktivuje osteoklastogenezi (28, 29). Jedna z teorií předpokládá, že ke zvýšené expresi RANK-L vedou cytokiny (např. TNFα, IL-1β) uvolňované při zánětlivé reakci (30, 31). RANK-L je exprimován řadou buněk, např. monocyty, makrofágy, osteoblasty a aktivovanými T-lymfocyty. Zvýšená exprese RANK-L je charakteristická při osteolýze. Tvorba RANK-L v osteoblastech je příkladem parakrinního působení při regulaci kostní remodelace. OPG je glykoprotein produkovaný množstvím buněk, např. osteoblasty a aktivovanými T-lymfocyty a OPG funguje jako ‚decoy' receptor pro RANK-L, kompetitivně ho inhibuje při jeho excesivní produkci. Koordinovaná syntéza RANK-L a OPG je zásadní pro kostní remodelaci. RANK-L/OPG systém reguluje expresi kostní matrix v hladkých svalových buňkách a jeho aktivace může vést ke vzniku mediokalcinózy. Regulace tohoto systému je složitá, zahrnuje např. neuropeptidy jako kalcitonin-gene-related peptid, vitamin D, kalcitonin a další hormony.




**Obr. 2** *Schéma patogeneze CNO*




**Obr. 3** *Kostní remodelace na celulární úrovni a její ovlivnění kalcitoninem a bisfosfonáty (BPs). OPG/RANK-L (osteoprotegerin/ligand receptorového aktivátoru nukleárního faktoru kappa β) signalizační systém*

Významným spojením mezi RANK-L/OPG systémem a autonomní neuropatií je aktivace RANK-L/OPG zvýšeným intravaskulárním tlakem, typickým pro autonomní neuropatii. RANK-L/OPG systém u CNO představuje modelovou situaci, protože toto onemocnění je charakteristické neuropatií, osteolýzou i mediokalcinózou. Vasodilatace v kosti u osob s autonomní neuropatií je prokázána histologicky rozšířením Haverských kanálků, protože arterioly v kostech mají bohatou sympatickou inervaci a porucha sympatiku může vést k jejich dilataci (32, 33), dochází k aktivaci osteolýzy a vzniku mediokalcinózy.

**Diagnostika** CNO je založena na klinickém obrazu onemocnění a na pomocných vyšetřeních. Stupeň neuropatie bývá zjišťován pomocí biothesiometru (VPT - vibration perception threshold - práh vibrační citlivosti), viz obr. 4; u pacientů s CNO je v drtivé většině případů přítomna těžká periferní polyneuropatie (VPT > 25 V). Měření kožní teploty spočívá v měření teploty nad nejvíce postiženou oblastí nohy a tuto teplotu srovnáváme se stejným místem na druhé noze, viz obr. 5 (34). Pokud je rozdíl teplot o 2 a více stupňů Celsia, tak se jedná o aktivaci onemocnění - akutní fázi. Tato metoda je využívána i k monitoraci aktivity onemocnění během léčby. Problém nastává v případě oboustranného postižení, kdy není možné správně posoudit aktivitu onemocnění.

K diagnostice autonomní neuropatie jsou využívány testy kardiovaskulárních reflexů. Tyto testy hodnotí reakce tepové frekvence nebo krevního tlaku na jednoduché fyziologické manévry. Nejvíce rozšířena je metodika publikovaná Ewingem, která spočívá v provedení souboru testů jako je reakce tepové frekvence na hluboké dýchání a na Valsalvův manévr - výdech proti odporu, reakci krevního tlaku na izometrickou svalovou zátěž na dynamometru a reakci tepové frekvence a krevního tlaku na změnu polohy z lehu do stoje (35). Další možností je využití měření spektrální analýzy variability srdeční frekvence - SA VSF (36). Vztah mezi výskytem autonomní neuropatie a CNO jsme zkoumali **ve studii 4 a 5.**

**Obr. 4** *Vyšetření diabetické neuropatie biothesiometrem*

**Obr. 5** *Měření kožních teplot u pacienta s CNO*

Diagnostika pomocí rentgenologického (RTG) vyšetření je velice pozdní. RTG zobrazí až výrazné změny skeletu - CNO až ve stádiu komplikací (dislokací a fraktur). K posouzení aktivity onemocnění a efektu léčby je RTG nevhodné, dá se využít jen k lokalizaci změn (37). CT (počítačová tomografie) vyšetření může pomoci k zpřesnění lokalizace změn, má však podobné limitace jako RTG vyšetření (38, 39).

Spolehlivou diagnostickou metodou je naopak čtyřfázová dynamická scintigrafie skeletu. K tomuto vyšetření není třeba pacienta speciálně připravovat. Po intravenózním podání 99mTc methylendifosfonátu (99mTc MEDP) nebo hydroxymethylendiphosphonátu je posuzována časná perfúzní fáze a časná fáze vychytávání radiofarmaka, zejména v měkkých částech nohy (40, 41). Ve třetí fázi, s odstupem 2-3 hodin od podání radiofarmaka, bývá měřeno jeho vychytávání ve skeletu. Čtvrtá fáze vyšetření probíhá s odstupem 24 hodin od podání. Tato čtvrtá fáze pomáhá odlišit CNO od osteomyelitidy (OM). Pokud není odlišení od OM zcela zřejmé, bývá vyšetření doplněno leukocytárním (granulocytárním) skenem (42). Stanovení kvantitativních parametrů perfúzní i vychytávací fáze může pomoci ve sledování aktivity onemocnění.

Nejperspektivnější metodou v diagnostice CNO se zdá být magnetická rezonance (MRI), která dokáže odhalit i raná stádia onemocnění a může se využít i k monitoraci onemocnění (43, 44). Limitací MRI je však její dostupnost a problémem může být i odlišení mezi CNO a OM (37, 43).

Ve výzkumu jsou používány i další metody, např. vyšetření markerů kostní remodelace a denzitometrie. V posledních letech byla izolována a definována celá řada buněčných i nebuněčných složek kostní matrix, které poměrně specificky vypovídají o stupni kostní remodelace. Tyto markery kostního obratu se často klasifikují podle jejich metabolické úlohy v kosti a rozdělují se na markery kostní novotvorby a kostní resorpce. Jednotlivé markery nejsou specifické pro určité kostní onemocnění, vypovídají o změně kostní remodelace nezávisle na její příčině. Příklady markerů kostní remodelace jsou uvedeny v tab. 1. U pacientů s CNO se vyšetření markerů kostní remodelace (např. ICTP - C terminální telopeptid kolagenu I; KALP - kostní isomer alkalické fosfatázy) používá zejména k posouzení efektu terapie (45-47).

Další metodou, kterou lze použít k diagnostice CNO, je kvantitativní ultrazvuková kostní denzitometrie. Tato metoda se zdá být vhodnou metodou k posouzení rizika vzniku neuropatických fraktur (46, 48, 49).

| Markery kostní novotvorby | Markery kostní resorpce |
|---|---|
| Osteokalcin v séru<br><br>Kostní frakce ALP v séru<br><br>Propeptidy kolagenu I (N-terminální propeptid prokolagenu I, C-terminální propeptid prokolagenu I) v séru | Kostní sialoprotein v séru<br>Pyridinolinové příčné spojky kolagenu v séru a moči<br><br>Telopeptidy kolagenu I (N-termínální telopeptid, C-terminální telopeptid)<br><br>Hydroxyprolin v moči<br>Glykosidy hydroxylyzinu v moči<br>Osteoklastická (tartar rezistentní) kyselá fosfatáza v séru<br>Kathepsin K |

**Tab. 1** *Příklady markerů kostní remodelace*

**Léčba** pacientů s CNO, zejména v akutním stádiu, musí být zahájena co nejdříve. Terapie se liší v jednotlivých stádiích podle aktivity onemocnění. Léčba je často zdlouhavá (nejčastěji trvá 3-12 měsíců) a klade velké nároky na spolupráci pacienta.

V akutním stádiu musí být neprodleně zajištěno maximální odlehčení postižené končetiny (40, 50). Používá se celá řada různých typů odlehčovacích ortéz; zlatým standardem je nesnímatelná semirigidní fixace (TCC - Total Contact Cast). Ke zvýšení efektu léčby a zajištění stability pacienta je doporučováno současné používání podpažních berlí. Odlehčení je zcela zásadním opatřením a nelze ho nahradit žádnou jinou terapií (51, 52). Typ odlehčení by měl být konzultován se zkušeným protetikem a pacienti by měli být pravidelně kontrolováni, zda dodržují léčbu, zejména pacienti se snímatelnými ortézami. Nezbytnou součástí je tedy i pečlivá edukace pacienta s vysvětlením možných rizik nedodržování léčby (prodloužení terapie, vznik deformity, ulcerace, amputace). Délka terapie ortézou závisí na aktivitě onemocnění (obvykle 3-6 měsíců); před úplným vysazením odlehčovací pomůcky musí předcházet období částečné a postupně se zvyšující zátěže postižené končetiny (53). Rizikem předčasného zatěžování může být reaktivace onemocnění. Rizikem odlehčení končetiny s CNO je také možnost aktivace onemocnění v druhé, dosud nepostižené končetině.

Studie z poslední doby ukazují, že léčba pomocí bisfosfonátů může výrazně přispět ke zlepšení průběhu akutní fáze CNO. Randomizované studie s pamidronátem a aledronátem prokázaly signifikatně větší snížení osteoklastické aktivity měřené markery osteomodelace u

intervenovaných skupin ve srovnání s placebem (45, 47). Nevýhodou většiny bisfosfonátů je jejich kontraindikace u pacientů s renální insuficiencí, kteří tvoří až 1/3 pacientů s CNO (54, 55). Oproti tomu kalcitonin, který rovněž působí antiresorpčně, je možné podávat i u pacientů s renální insuficiencí. Navíc kalcitonin působí více fyziologicky; snižuje pouze funkci osteoklastů a nevede k aktivaci jejich apoptózy, která narušuje proces remodelace kosti (56, 57), obr. 3. Problematice efektu kalcitoninu, jak z krátkodobého, tak i z dlouhodobého hlediska, jsme se věnovali ve **studii 1 a 2.**

K monitoraci efektu léčby akutní fáze CNO se využívají zejména markery kostní remodelace (KALP, ICTP apod.) a měření rozdílu kožních teplot. Tyto metody však mají celou řadu nevýhod. Markery kostní remodelace nejsou specifické pouze pro změny kostního metabolismu v oblasti nohou a mohou být ovlivněny celou řadou faktorů (stravou, fyzickou aktivitou, diurnálním rytmem apod.). Měření rozdílu kožních teplot je nepoužitelné u pacientů s oboustranným výskytem CNO, který byl pozorován u 9-39 % pacientů (15, 16). Nové metody vhodné k monitoraci efektu léčby a diagnostiku recidiv pomocí kvantitativních parametrů dynamické scintigrafie jsme testovali ve **studii 3.**

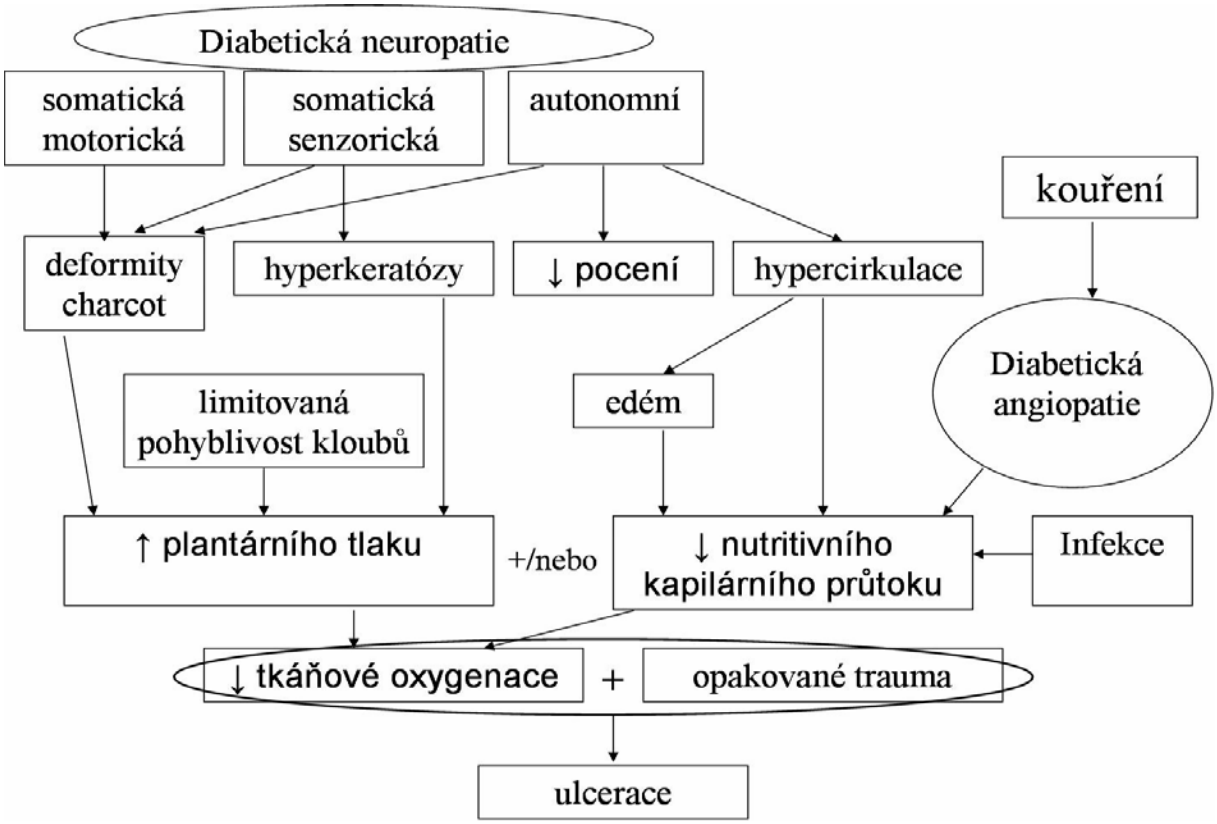
U pacientů v chronickém stádiu onemocnění se musí dbát zejména na prevenci vzniku ulcerací, zvláště pak u pacientů s deformitami. Za předpokladu včasné diagnózy a vhodné terapie se může deformitám zcela předejít. U těchto pacientů je indikována profylaktická obuv, u pacientů s deformitami speciální ortopedická, která nemá za cíl korigovat deformitu, ale redukovat plantární tlaky na plosce (58, 59).

V ojedinělých případech může CNO postihnout kteroukoliv část skeletu - kolenní kloub, páteř, kyčelní kloub apod. (60, 61). Výskyt a prognózu pacientů s CNO v atypické lokalizaci jsme sledovali ve **studii 6.**

### *1.2 Problematika ischémie a infekce u syndromu diabetické nohy*

Ischémie a infekce jsou významnými patogenetickými faktory SDN (viz obr. 6). Vznik SDN je nejčastěji podmíněn diabetickou neuropatií a ischémií; diabetická neuropatie byla prokázána u 85-90 % diabetiků s ulcerací, ischémie byla prokázána asi u 45 % pacientů (62-65).

Diabetická neuropatie působí negativně hned několika způsoby. Především dochází k poruše senzorických nervů, která vede k necitlivosti na bolestivé podněty, vnímání teploty a tlaku, což působí snadno vznik otlaků z obuvi. Pacienti nezřídka nosí boty, které jsou naprosto nevyhovující, ale pacientem jsou vnímány jako velmi pohodlné (66, 67). Dále se jedná o smíšenou poruchu senzorických a motorických nervů, která vede při svalové dysbalanci mezi




**Obr. 6** *Schéma patogeneze SDN*

flexory a extenzory nohy ke vzniku deformit prstů i celé nohy. Významným patogenetickým faktorem je i autonomní neuropatie, která působí hyperémii především shuntovou cirkulací. Noha je proto zdánlivě dobře prokrvená, teplá až oteklá, avšak je snížený průtok nutritivními kožními a svalovými kapilárami. Zvýšená hyperémie může také vést k aktivaci osteolýzy.

Diabetická neuropatie se vyšetřuje pomocí Semmes-Weinsteinových monofilament (hmotnost 10g), kde se hodnotí počet správně lokalizovaných dotyků monofilamenta na noze. Biothesiometr je pak používán ke stanovení vibrační citlivosti na noze. Výsledek je uveden ve voltech (V) a při hodnotě nad 25 V pak hovoříme o těžké periferní neuropatii. Další možností vyšetření periferní neuropatie je např. elektromyografie, skríningovou metodou může být vyšetření pomocí tzv. Neuropadu (68-71).

Dalším patogenetickým faktorem je **limitovaná pohyblivost kloubů**, vyskytující se asi u 50 % všech diabetiků (72, 73). Etiologie onemocnění není známa, typická pro toto onemocnění je přítomnost abnormálního kolagenu (74). Důsledkem diabetické neuropatie i limitované pohyblivosti kloubů je z**výšení plantárních tlaků** a zvýšené střihové pnutí specifických oblastí planty. Tento vysoký tlak způsobuje poškození tkání, vznik hyperkeratóz, puchýřů a dalších poškození kůže. Pokud toto přetížení pokračuje (pacient ztratil ochrannou citlivost), je pravděpodobný vznik ulcerace (75-78).

U neuroischemické diabetické nohy potencuje mechanický stres **ischémii**. Během chůze se zvyšuje tlak na přednoží až na 30-ti násobek krevního tlaku udržujícího průtok krve tepnami nohy, což vede k dočasné ischémii nohy během zatížení při kroku. U osob bez diabetu dochází k okamžitému obnovení průtoku vlivem elasticity cév a tkání, zatímco u diabetiků tato elasticita chybí a při chůzi dochází k ischémii (79).

**ICHDK** je závažnou pozdní komplikací diabetu, která nejenže může vést ke vzniku ulcerací nohy, ale je i velmi častou příčinou amputací, viz obr. 7. Diabetici s ICHDK mají poškozenou především nutritivní kapilární cirkulaci, kterou nelze ztotožňovat s diabetickou mikroangiopatií. Diabetická mikroangiopatie tak nepatří mezi přímé patogenetické faktory SDN. ICHDK je přítomna u 49 % pacientů se SDN a je závažným rizikovým faktorem pro amputace dolních končetin u pacientů s diabetem (62, 80, 81). V počátečním stádiu ICHDK nemusí pacient pociťovat žádné příznaky. Později se může ischémie projevit typickým příznakem - klaudikačními bolestmi, které jsou u pacientů s diabetem poměrně vzácné (82). Příčinou je diabetická neuropatie a odlišná lokalizace stenóz. Diabetes je spojen s aterosklerotickými změnami lokalizovanými na dolních končetinách především ve femoropopliteální a podkolenní oblasti; na rozdíl od jiných rizikových faktorů (kouření, hypertenze), které postihují oblast aorto-ileo-femorální (83-85). Nejvíce se používá měření periferních tepenných tlaků Dopplerem (index kotník/paže - normální rozmezí je 0,8-1,2), transkutánní kyslík ($TcpO_2$) na dorzu nohy a palcové tlaky (86). Standardem pro diagnostiku ICHDK, zejména před intervenčními cévními výkony (perkutánní transluminální angioplastikou - PTA, bypassem), u pacientů s diabetem je angiografie. Hodnota $TcpO_2$ nad 30 mmHg je považována za silný prediktor úspěšného hojení diabetických ulcerací v oblasti nohou (87). Několik studií prokázalo význam měření $TcpO_2$ pro určení optimální úrovně amputace pro pacienty se SDN (88-90). Velkou výhodou měření $TcpO_2$ je, že se jedná o neinvazivní vyšetření, kdy výsledek měření není ovlivněn mediokalcinózou (jako např. vyšetření Dopplerem). Měření $TcpO_2$ však patří k dosud málo rozšířeným metodám, proto jsme jeho význam v prognóze hojení po nízkých amputacích u pacientů se SDN hodnotili ve **studii 7**.

**Obr. 7** *Ischémie u SDN*

**Infekce nohy u pacientů s diabetem** je závažnou komplikací a častou příčinou zvýšeného počtu amputací. Infekce zvyšuje počet hospitalizací, prodlužuje jejich délku a výrazně tak zvyšuje ekonomické náklady (91-94). Infekce v rámci SDN může mít charakter

nezávažné infekce (lokalizovaná povrchová infekce), středně závažné (průnik infekce do hlubších struktur nohy) a život ohrožující (hluboká infekce nohy s celkovými příznaky, sepse), viz obr. 8. Míra závažnosti infekce signifikatně koreluje s rizikem amputace (95). Rizikovými faktory pro vznik infekce u SDN jsou např. trvání ulcerace déle než jeden měsíc a přítomnost ICHDK (62, 96). Mezi lokální známky infekce nohy patří zarudnutí, otok, patologická sekrece z rány a zvýšená lokální teplota (1). U diabetiků nemusí být vyjádřeny celkové příznaky infekce; např. horečka bývá přítomna jen asi u poloviny pacientů se závažným lokálním nálezem (97).

**Obr. 8** *Závažná infekce u pacienta se SDN*

Diagnostika infekce u SDN pomocí biochemických parametrů je též značně problematická. Některé práce ukazují, že počet leukocytů a hodnota C-reaktivního proteinu (CRP) nejsou vhodnými parametry pro diagnostiku infekce v rámci SDN. Např. ve studii Jirkovské bylo zaznamenáno zvýšení CRP pouze u 31 % pacientů a počtu leukocytů u 17 % pacientů se SDN, což může svědčit pro poruchu zánětlivé odpovědi u pacientů s chronickou infekcí přítomnou v diabetických ulcerací (98). Jiná práce ale prokazuje, že sérový prokalcitonin a hladina CRP jsou parametry s vysokou specificitou i senzitivitou pro diagnózu infekce u pacientů se SDN (99).

Kultivační vyšetření z rány, nejlépe z hlubokých struktur nohy nebo biopsie, pak usnadňuje cílenou antibiotickou (ATB) léčbu, která je často zahajována empiricky a je delší než u ranných infekcí v jiné lokalizaci (100). V kultivačních vyšetřeních jsou často rány infikovány více patogeny. Polymikrobiální infekce byla zaznamenána až u 84 % pozitivních kultivací z diabetických ulcerací nohy (101). Nejčastějšími aerobními patogeny jsou Staphyloccus aureus a koaguláza negativní, Streptococcus sp., Enterococcus sp., Corynebacterium sp. a Pseudomonas aeruginosa (102). Z anaerobů bývají nejčastěji zastoupeny gram pozitivní koky, Prevotella sp., Porphyromonas sp. a Bacteroides fragilis. V posledním období roste počet rezistentních kmenů, zejména methicilin-rezistetních kmenů Staphylococcus aureus (MRSA) a Pseudomonas aeruginosa, které jsou pak častější příčinou amputací a nutnosti použití záložních ATB, což vede k výraznému zvyšování nákladů na péči o tyto pacienty.

Závažnou komplikací infekce nohy je OM. OM je přítomna u přibližně 20 % pacientů s infekcí diabetické nohy (103, 104) a je jednou z nejčastějších příčin amputací u pacientů se

SDN (96, 105). Ke vzniku OM dochází nejčastěji přestupem infekce z měkkých tkání v oblasti ulcerace na kosti, které jsou v její blízkosti. Významným rizikovým faktorem pro vznik OM je tedy palpace kosti na spodině ulcerace (106). Infekce způsobuje devitalizaci kortexu kosti a poté se velmi snadno šíří Haverskými systémy tak, že v krátké době může postihnout všechny struktury kosti včetně kostní dřeně. Na základě přítomné kostní nekrózy dochází následně k sekvestraci kosti, přičemž periost má stále tendenci k hojení (107). Přetrvávání OM i při intenzivní léčbě má řadu příčin, mezi které patří porušená imunitní a zánětlivá odpověď. Oblasti kostní nekrózy a sekvestrů jsou dobrou živnou půdou pro řadu baktérií a navíc jsou tyto oblasti špatně přístupné imunitnímu systému organismu (108, 109). OM se diagnostikuje zpravidla na podkladě klinického nálezu, kdy je přítomen otok, zarudnutí a zvýšená kožní teplota v okolí ulcerace, zjištěna pozitivní palpace kosti na spodině ulcerace nebo přítomnost kostních sekvestrů. Ze zobrazovacích metod se používá RTG, CT, MRI a scintigrafie skeletu (110). Je třeba však brát v úvahu, že OM změny se mohou na RTG zobrazovat až velmi pozdě, takže lze OM diagnostikovat až s odtupem 2-3 týdnů (111). K potvrzení diagnózy OM je možnost provedení kostní biopsie, která má i svá rizika, např. rozsev infekce do zatím nepostižených tkání (112).

Problematice infekce jako rizikových faktorů obtížného hojení po nízké amputaci u pacientů se SDN jsme se věnovali ve **studii 7**.

### *1.3 Léčba syndromu diabetické nohy*

Léčba SDN je často obtížná a její úspěšnost velmi závisí na jejím včasném zahájení. Musí být komplexní, což vyžaduje spolupráci celé řady odborníků (1).

Mezi nejdůležitější opatření při léčbě diabetických ulcerací je jejich maximální **odlehčení** (113). Bez odstranění tlaku na ulceraci je hojení velmi obtížné, prodlužuje se významně jeho délka a je vysoké riziko přechodu akutního defektu do chronického stádia. K odlehčení defektů je využívána celá řada opatření a pomůcek. Mezi tyto pomůcky patří terapeutická obuv, TCC, ortézy (RCC - removable contact část; RWC - removable walking cast), které se používají současně s podpažními berlemi, viz obr. 9. Zvláštní skupinu tvoří speciální odlehčovací vložky, individuálně vyrobené dle typu a lokalizace defektu, které jsou pak vkládány do terapeutické obuvi nebo ortézy. Při výskytu defektů na obou dolních končetinách je nutné odlehčení pomocí pojízdných vozíků. Míra aktivity je přímo úměrná riziku ulcerace (114).

**Obr. 9** *Odlehčení u SDN pomocí kontaktní fixace (TCC - a) a ortéz (RCC - b; RWC - c)*

U pacientů s prokázanou ICHDK a nehojící se ulcerací nohy je možností volby provedení PTA nebo periferního bypassu (115-117).

V případě přítomnosti známek infekce je nutno zahájit adekvátní ATB terapii - nejprve empirickou, posléze dle klinického obrazu a výsledku kultivace z rány cílenou (100). Léčba OM u SDN je značně problematická a v současné době nejsou jasné doporučené postupy (94). Konzervativní léčba zahrnující zejména dlouhodobé podávání ATB je velmi zdlouhavá a nezřídka stejně končí amputačním výkonem. K této léčbě jsou indikováni pacienti s první atakou OM, s dobrou citlivostí na ATB léčbu při uspokojivém prokrvení nohy a motivovaní spolupracující pacienti. Při selhání konzervativní terapie je indikováno chirurgické řešení - odstranění postižené kosti (resekcí nebo amputací).

Další nezbytnou součástí terapie diabetických ulcerací je **lokální léčba**, především **debridement** - očištění rány a snesení hyperkeratóz. Rozeznáváme řadu způsobů debridementu, viz tab. 2. Příznivý efekt debridementu na hojení ran byl prokázán v řadě studií. Např.Young (118) pozoroval po odstranění hyperkeratóz snížení plantárního tlaku brzdícího hojení o 26 %.

Chirurgický debridement, který je nejběžnější, nelze použít u všech typů ran - např. dutinových, členitých, s podminovanými okraji nebo tam, kde je nebezpečí poranění struktur, jako jsou šlachy, nervy apod. Navíc se při chirurgickém ošetření zvyšuje riziko krvácení a dochází k porušení granulační tkáně. Při jiném typu debridementu, mechanickém pomocí vlhké gázy, je riziko porušení zdravé tkáně ještě větší. Autolytický nebo enzymatický debridement nemusí vést k úplnému vyčištění rány a navíc je při něm, zejména u SDN, zvýšené riziko šíření infekce a vzniku flegmóny.

| Způsob debridementu | Popis |
|---|---|
| Chirurgický neboli ostrý | Pomocí skalpelu či obdobného nástroje |
| Autolytický | Vlhké prostředí v ráně aktivuje vlastní autolytické enzymy |
| Pomocí topických antiseptik | Např. chlorhexidin, jód, slabé kyseliny, preparáty Ag a Cu. Cl, peroxid. Antiseptika mohou mít toxický efekt na hojení |
| Enzymatický | Např. kolagenázy, kolagen , streptokináza |
| Mechanický | Pomocí vlhké gázy, která se nechá přischnout nebo irigací tekutiny za vysokého tlaku, případně ultrazvukovými technikami |
| Biologický | Pomocí larvální terapie |

**Tab. 2** *Způsoby čištění tkáně (debridementu)*

Jednou z nových metod léčby SDN je **biologický debridement - larvální terapie,** viz obr. 10**.** Léčba larvami se uplatňuje v případech, kdy není vhodný chirurgický debridement pro riziko většího porušení tkáně nebo pro špatnou přístupnost nekróz. Larvální léčba může následovat po jiném typu debridementu a urychlovat dočištění rány. Larvální terapie se jevila v některých studiích jako ekonomicky rentabilní (cost-effective) ve srovnání s léčbou standardními metodami, např. pomocí hydrogelu, protože urychlila hojení, šetřila materiál i práci zdravotníků (119, 120).

**Obr. 10** *Larvální terapie SDN*

Tento typ léčby využívá larvy speciálního druhu mouchy Lucilia sericata (Bzučivky zelené). Larvy Bzučivky zelené se živí nekrotickou tkání, nejsou však schopny rozkládat živé buňky. Kopírují proto dokonale hranici živé a mrtvé tkáně, nesrovnatelně přesněji než skalpel chirurga. Mechanismem účinku larvální terapie při hojení ran je především čištění rány - debridement, ale také dezinfekce rány a podpora hojení. Dochází k enzymatickému zkapalnění nekrotické tkáně a jejímu strávení. V sekretu larev byla prokázána řada proteolytických enzymů včetně enzymů podobných trypsinu, chymotrypsinu a kolagenáze. Dezinfekce rány probíhá prostou ingescí bakterií larvami spolu s nekrotickou tkání a jejich destrukcí kyselými trávicími šťávami. Bakterie, které nejsou stráveny, se zadržují v tzv. peritrofické membráně bránící rekontaminaci. Bakterie jsou z rány vyplavovány i stimulací sekrece pohybem larev. Alkalické komponenty larválních sekretů jako bikarbonát, kalcium, allantoin a urea inhibují růst bakterií, navíc alkalické pH aktivuje

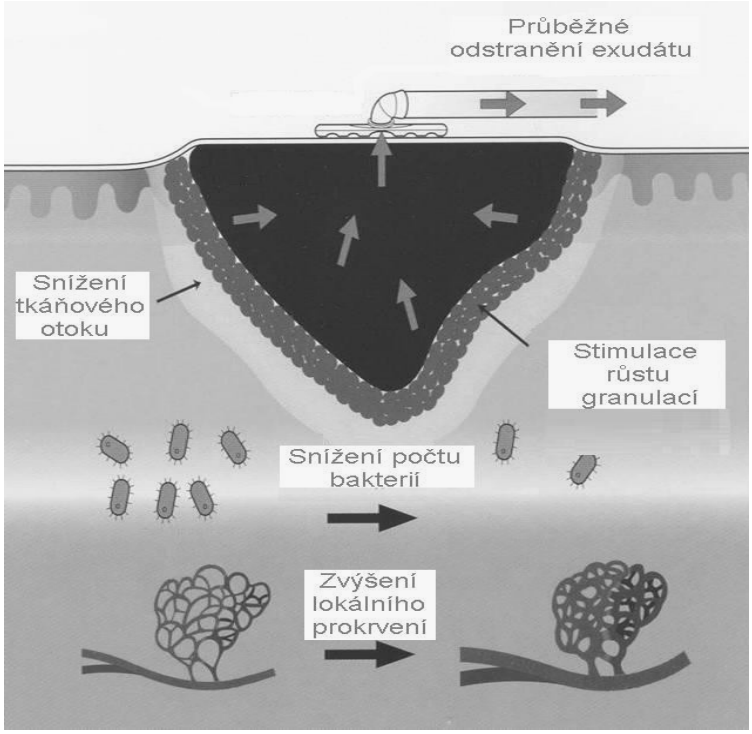
proteolytické enzymy. V trávicím traktu larev byl nalezen Proteus mirabilis jako komenzál, který může vést k produkci peptidů s antimikrobiálními účinky. Působení antimikrobiálních peptidů je předmětem intenzivního výzkumu (121). Mohou být mediátory imunitních mechanismů - poškozují např. mikrobiální membránu, mohou být také součástí sekretů bakterií, virů i vyšších živočichů a rostlin. Některé z nich, např. defensiny a cathecilicidiny, jsou přítomny v leukocytech, vylučují je ale také kožní epitelie a slizniční povrchy. Zvažuje se jejich využití při terapii infekcí jak samostatně, tak v kombinaci s ATB či virostatiky, jejich podávání pro podporu přirozené imunity a neutralizaci endotoxinů. Efekt larvální terapie na hojení defektů a eradikaci infekce u SDN jsme sledovali ve **studii 8**.

Podle typu rány jsou pak přikládány vhodné prostředky krytí rány. Nesmí být opomenuto na léčbu edémů, kompenzaci diabetu a léčbu dalších onemocnění ovlivňující hojení.

I přes výše zmíněné metody léčby SDN stále narůstá počet amputací dolních končetin u pacientů s diabetem, jejichž incidence je dle různých populačních studií v rozmezí 2,1-13,7/1000 pacientů s diabetem (122, 123). Celosvětově vysoká variabilita incidence je vysvětlována různou mírou agresivity v přístupu k záchraně končetiny a variabilitou preventivních opatření v různých oblastech. Neméně důležitým faktorem je zkušenost chirurga - nutné jsou vhodné načasování amputačního výkonu, volba správné amputační úrovně a dobrá chirurgická technika. Důležitou součástí je i přání pacienta. Amputace rozdělujeme na nízké (distálně od kotníku - amputace prstu(ů), paprsčité, transmetatarzální, v Chopartově či Lisfrankově kloubu) a na vysoké (proximálně od kotníku – amputace bércové a stehenní).

Další novou metodou lokální léčby SDN je **terapie řízeným podtlakem** (V.A.C. - Vacuum Assisted Closure). Jedná se o účinnou nefarmakologickou léčbu ovlivňující průběh hojení rány. Principem metody je vytvoření podtlaku v oblasti rány (ulcerace), což vede ke změně prostředí rány a pozitivnímu ovlivnění hojivého procesu (124). Řízený podtlak ovlivňuje hojení rány několika způsoby (125). Systém drenáže zajišťuje průběžné odstraňování exsudátu z rány, který obsahuje celou řadu faktorů (např. některé cytokiny a kolagenázy), které při akumulaci v ráně brání jejímu hojení. Odstranění nahromaděného exsudátu vede též ke snížení tkáňového turgoru (edému), který způsobuje kompresi okolních mikrovaskulárních a lymfatických kanálů. Řízený podtlak dále přenáší mechanický stres do rány, který vede k podpoře angiogeneze a růstu tkáně. Stimulace růstu při podtlaku je pravděpodobně způsobena změnami cytoskeletu, které zvyšují uvolňování intracelulárních sekundárních poslů stimulujících buněčný růst. Lokální podtlak dále vede k dekompresi

malých kapilár v oblasti rány, ke stimulaci a proliferaci endoteliálních buněk. V bioptických a histochemických studiích bylo pozorováno maximum aktivace po 5-7 minutách kontinuálního podtlaku, přičemž proces je opakovatelný (126). Zlepšené prokrvení zvyšuje tkáňovou oxygenaci, inhibuje anaeroby, zlepšuje nutrici a dostupnost pro buňky imunitního systému. Navíc granulocyty a monocyty infiltrují samotnou pěnu, což také vede k redukci bakteriální kolonizace a infekce v oblasti rány (127). Princip V.A.C. terapie je uveden na obr. 11. Aplikace řízeného podtlaku podporuje buněčnou mitogenezi, zejména zajištěním vlhkého prostředí rány, mechanickým stresem a odstraněním inhibičních faktorů. Zkušenosti s metodou řízeného podtlaku jsme popsali ve **studii 9**.




**Obr. 11** *Mechanismy účinku V.A.C. terapie*

## 2 Cíle dizertační práce

Práce je zaměřena na kostní metabolismus u Charcotovy neuroosteoarthropatie a na problematiku infekce a ischémie u syndromu diabetické nohy a jejich terapeutické ovlivnění.

**Kostní metabolismus u CNO** jsme zkoumali v 6 studiích. Cílem jednotlivých studií bylo:

a) posoudit efekt nazálního kalcitoninu v léčbě pacientů s CNO (**studie 1 a 2**)
b) definovat nové kvantitativní parametry kostní scintigrafie u pacientů s CNO a verifikovat jejich vztah k parametrům aktivity onemocnění (**studie 3**)
c) posoudit možnost diagnostiky autonomní neuropatie pomocí nové metody - spektrální analýzy variability srdeční frekvence u pacientů s CNO (**studie 4 a 5**)
d) popsat CNO u pacientů s diabetem v atypické lokalizaci (**studie 6**)

Problematiku **ischémie a infekce SDN** jsme analyzovali ve jedné studii. Jejím cílem bylo:

a) identifikovat rizikové faktory obtížného hojení po nízké amputaci u SDN se zaměřením na význam měření transkutánní tenze kyslíku (**studie 7**)

**Terapii SDN** pomocí nových metod jsme zkoumali ve 2 studiích, jejichž cílem bylo:

a) posoudit klinický a antimikrobiální efekt larvální léčby u SDN (**studie 8**)
b) zhodnotit klinický efekt léčby řízeným podtlakem a posoudit výskyt nežádoucích účinků (**studie 9**)

# 3 Vybrané metodiky jednotlivých studií

## *3.1 Stanovení biochemických parametrů kostní remodelace a dalších biochemických parametrů (studie 1-7)*

*Markery kostního obratu*

Odběry krve byly prováděny po nočním lačnění vždy mezi 7. a 9. hodinou ranní. Sérum bylo separováno do jedné hodiny od odběru a zmrazeno na teplotu - 80 °C až do doby analýzy.

ICTP bylo detekováno pomocí radioimmunoassay metody (kit Telopeptide ICTP 125I, Orion Diagnostica, Espoo, Finsko), s rozmezím normy 1,4 ± 5,3 µg/l. Vzorek pro ICTP byl vyšetřován za použití polyklonální protilátky proti C-telopeptidu získaného z lidského kostního kolagenu. Protilátka rozeznává antigen v séru, nikoliv v moči, s intra-assay variačním koeficientem 5 %, a citlivostí metody 0,5 µg/l. KALP bylo stanoveno pomocí radioimmunoassay metody (kit Tandem-R Ostase, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) s intra-assay variačním koeficientem 5 %; rozmezí normy bylo 8,0 ± 15,7 µg/l pro muže a 8,5 ± 18 pro ženy. Osteokalcin byl detekován též radioimmunoassay metodou (kit Active Human Osteocalcin DSL- 7600; Diagnostic System Laboratories, Inc., Webster, TX, USA) s intra-assay variačním koeficientem 5,3 % a s rozmezím normy 4 ± 11,7 ng/ml.

*Ostatní biochemické parametry*

Glykovaný hemoglobin ($HbA_{1C}$) byl určen vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (Tosoh, Tokyo, Japonsko), sérové hodnoty kreatininu byly stanoveny pomocí Hitachi Autoanalyser 917 (Tokyo, Japonsko). CRP bylo detekováno turbidimetricky přístrojem Cobas Integra (Roche, Basel, Švýcarsko).

## *3.2 Kvantitativní dynamická scintigrafie skeletu v diagnostice Charcotovy neuroosteoarthropatie (studie 2, 3 a 5)*

Pro kvantitativní posouzení aktivity CNO byly nově definovány následující parametry perfúzní (a) a vychytávací fáze (b, c) dynamické scintigrafie skeletu:

a) BFV (Blood flow velocity) - rychlost krevního průtoku

b) FWB (Foot/whole body ratio) – relativní akumulace radifarmaka v oblasti nohy

c) FCF (Foot/contralateral foot ratio) – relativní akumulace radiofamaka v nejvíce postižené oblasti nohy

Prakticky se kvantitativní dynamická scintigrafie s 99mTc MEDP skládala ze dvou částí. V první části byla hodnocena rychlost průtoku radiofarmaka mezi aortální bifurkací a nohou obou dolních končetin. V druhé části vyšetření byly sledovány parametry akumulace radifarmaka ve skeletu v oblasti nohou. K vyšetření byla použita gamma kamera a data byly zpracovány počítačovým systémem (SMV DST-XL, Twinsburg, OH, USA). Energetické rozlišení bylo provedeno při 20 % okně centrovaném na energetické maximum 140keV pro 99mTc.

Pacienti byli položeni na pohyblivý vyšetřovací stůl v poloze na zádech. Detekční hlava kamery byla umístěna nad oblastí hypogastria, zahrnující oblast bifurkaci aorty. Snímání bylo zahájeno ihned po injekčním podání 99mTc MEDP v dávce 740MBq do kubitální žíly. Kamera byla nastavena na matrici 128x128, 120 snímků (1 snímek za sekundu, zoom faktor 1). Po skončení bolusové aktivity v oblasti bifirkace aorty byl vyšetřovací stůl posunut tak, aby hlava kamery zachytila bolusovou aktivitu v oblasti obou nohou. U snímků, které nejlépe zachycovaly aktivitu v oblasti bifurkace a nohy, byly tyto oblasti označeny jako ROI (region of interest = oblast zájmu). Křivky čas/aktivita těchto oblastí (ROI) pak byly zpracovány počítačem. Pomocí těchto křivek byl stanoven přesný čas začátku průtoku radiofarmaka studovanou oblastí ($T_F$ - čas začátku krevního průtoku radifarmaka v oblasti kotníku; $T_B$ - čas začátku krevního průtoku radiofarmaka v oblasti bifurkace kotníku).

Snímky pozdní fáze, ze kterých se dá stanovit stupeň kostní remodelace, byly získávány 3 hodiny po aplikaci radiofarmaka. Celotělové snímky byly zaznamenány současně z předního a zadního pohledu kamery (rychlostí 16cm/min., matrix 256x1024) poté následovalo SPECT (single photon emission computer tomography) vyšetření obou nohou. Nastavení SPECT bylo následující: otáčení hlavy kamery o 360°, matrice 128x128, změna polohy hlavy kamery vždy o 3° každých 20 sekund, zoom faktor 1. Dále byla provedena počítačová analýza dat v oblastech zájmu (ROI) celého těla a nohou. Nakonec byla označena oblast nohy s nejvyšší aktivitou a porovnána s identickou oblastí na druhé noze.

Jednotlivé kvantitativní parametry pak byly stanoveny podle následujících vzorců:

$$BFV(cm/s) = \frac{D_{BF}(cm)}{T_F - T_B(s)}$$

*BFV - rychlost krevního průtoku*

*$D_{BF}$ - vzdálenost mezi aortální bifurkací a kotníkem*

*$T_F$ - čas začátku krevního průtoku radifarmaka v oblasti kotníku*

*$T_B$ - čas začátku krevního průtoku radiofarmaka v oblasti bifurkace kotníku*

$$FWB = \frac{C_F \times 100}{C_{WB}}$$

*FWB - relativní akumulace radifarmaka v oblasti nohy*

*$C_F$ - počet detekovaných impulzů v oblasti nohy*

*$C_{WB}$ - počet detekovaných impulzů v oblasti celého těla*

$$FCF = \frac{C_{AF}}{C_{CF}}$$

*FCF - relativní akumulace radiofamaka v nejvíce postižené oblasti nohy*

*$C_{AF}$ - počet detekovaných impulzů na voxel v nejvíce postižené oblasti nohy s CNO*

*$C_{CF}$ - počet detekovaných impulzů na voxel v identické oblasti druhé nohy bez CNO*

Parametry kvatitativní scintigrafie pak byly porovnávány s markery kostní remodelace a s rozdíly kožních teplot pro posouzení aktivity CNO.

### *3.3 Vyšetření autonomní neuropatie spektrální analýzou variability srdeční frekvence (studie 4 a 5)*

Vyšetření SA VSF bylo prováděno za standardních podmínek; testování probíhalo ambulantně mezi 8. a 13. hodinou ve specializované laboratoři. Pacienti byli po snídani a po aplikaci pravidelné dávky inzulínu, ostatní medikace nebyla podána. Všichni pacienti byli požádáni o pravidelný selfmonitoring glykémií tak, aby u nich nejméně 12 hodin před vyšetřením nebyla přítomna hypoglykémie (< 4 mmol/l), a o dodržení abstinence stran alkoholu, kouření a kávy. Vyšetření bylo prováděno po 15 minutách strávených v klidové poloze v tiché místnosti s pokojovou teplotou (23-25° C).

SA VSF byla prováděna během modifikované ortostatické zátěže dle Bellavera (36), tj. vleže, vstoje a znovu vleže. Získaná data byla telemetricky přenesena do počítače. Všechna data byla jak automaticky, tak manuálně filtrována a zaznamenané artefakty nebyly dále použity ke zpracování. SA VSF byla hodnocena Fourierovou transformační analýzou za použití vyhlazovacího algoritmu PSA 26. Výpočty byly provedeny pro každou pozici z 256 R-R intervalů. Použitý software pro SA VSF umožňoval zpracovat různé parametry rozložené v nízko- i vysokofrekvenční oblasti. Hlavními výslednými hodnotami byly síla spektra, síla spektrální denzity a koeficient jednotlivé odchylky. Síla spektra byla vyjádřena ve čtverečních milisekundách.

*Standardizace spektrální analýzy*

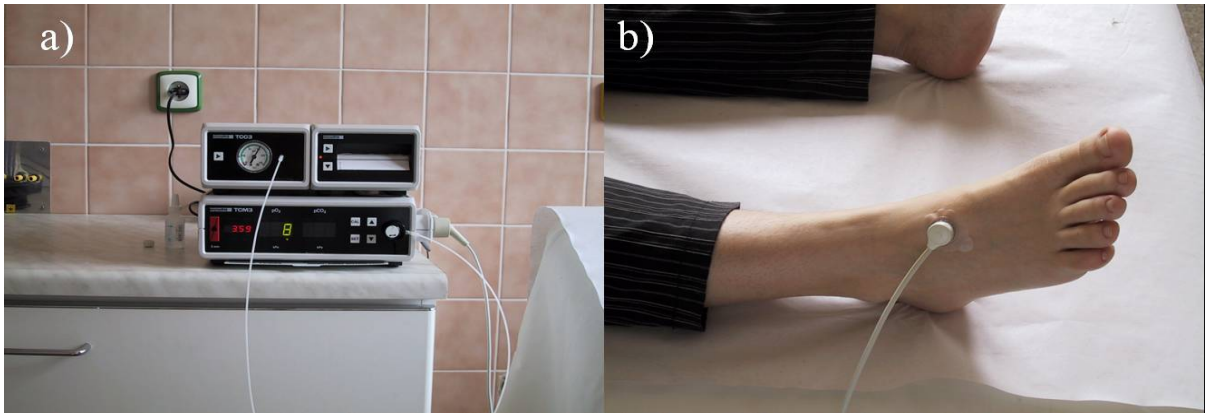
Problém s širším klinickým využitím této metody spočívá v tom, že v současné době chybí vhodná standardizovaná soustava referenčních hodnot. SA VSF zahrnuje dvě hlavní spektrální kompenenty: nízkofrekvenční (0,03 až 0,15 Hz) a vysokofrekvenční (0,18 až 0,40 Hz). Vysokofrekvenční komponenta je všeobecně považována za ukazatel aktivity parasympatiku, ačkoliv byl prokázán i určitý vliv sympatiku, kdežto nízkofrekvenční komponenta se zdá být závislá na komplexnějších mechanismech. K tomu, abychom mohli definovat vhodný parametr použitelný v diagnostice autonomní neuropatie u pacientů s CNO, bylo testováno celkem 23 různých parametrů. Tyto parametry byly porovnány mezi skupinou pacientů s CNO a kontrolami, přičemž obě skupiny byly srovnatelné věkem, rozložením pohlaví a body mass indexem (BMI). Kumulativní parametr nízko- i vysokofrekvenční komponenty oblasti všech tří pozic (vleže, vstoje a znovu vleže) - cumpower LFHF 1 + 2 + 3, byl vybrán na základě nejvyšší diskriminační hodnoty pro pozdější analýzy. Tento parametr vykazoval dobrou spolehlivost v diagnostice těžké autonomní neuropatie i v jiných studiích (128, 129). V našich studiích byl vybrán pátý percentil z výsledků měření u 123 zdravých kontrol pro dolní limit normálních hodnot cumpower LFHF 1 + 2 + 3. Výběr percentilu byl nastaven tak, abychom dosáhli uspokojivé specificity s ohledem na počet vyšetřovaných pacientů. Pro každou věkovou dekádu byl spočítán průměrný pátý percentil hodnot cumpower LFHF 1 + 2 + 3. Po logaritmické transformaci byl sestaven regresní model korelace s věkem pro tento parametr. Po ustanovení referenčních parametrů byla pak srovnávána diagnostika autonomní neuropatie u pacientů s CNO pomocí SA VSF s klasickou diagnostikou autonomní neuropatie pomocí baterie Ewingových testů. Normy pro cummpower LFHF 1 + 2 + 3 vztažené k věku jsou uvedeny v tab. 3. V další fázi pak byly hodnoceny rozdíly stanovení autonomní neuropatie pomocí parametrů SA VSF v akutním a chronickém stádiu CNO a jejich vztah k parametrům kostní remodelace.

| Věk (roky) | ≤ 5. percentil (manifestní autonomní neuropatie) | > 5. percentil a ≤ 20. percentil (hraniční hodnoty) |
|---|---|---|
| 20-30 | ≤1900 | 1899-2650 |
| 31-40 | ≤1300 | 1299-2000 |
| 41-50 | ≤750 | 749-1250 |
| 51-70 | ≤500 | 499-700 |

**Tab. 3** *Normy pro SA VSF parametr cumpower LFHF 1 + 2 + 3 vztažené k věku*

### *3.4 Měření transkutánní tenze kyslíku (studie 7)*

$TcpO_2$ je metodou pro testování periferního kožního prokrvení na kapilární úrovni zahrnující složky ovlivňující difúzní kapacitu (130). Jedná se o neinvazivní metodu založenou na měření parciálního tlaku kyslíku difundujícího přes pokožku. K měření byla použita modifikovaná Clarkova polarografická sonda, která se skládá z katody a anody. Tyto elektrody jsou smáčeny alkalickým roztokem a jsou od povrchu kůže odděleny membránou propustnou pro kyslík. Kyslík prostupuje z tkáně pod sondou a rozpouští se v alkalickém prostředí mezi elektrodami. Elektrický proud generovaný na katodě následkem elektrochemické reakce je pak přímo úměrný parciálnímu tlaku kyslíku v alkalickém roztoku a v ustáleném stavu i ve tkáni pod sondou. Změřená hodnota tenze kyslíku tak odráží míru kožního prokrvení, metabolickou aktivitu tkáně, disociaci oxyhemoglobinu a tkáňovou difúzi kyslíku. Výsledek měření je závislý na arteriálním zásobení, stavu mikrocirkulace, systémových faktorech (např. hladině hemoglobinu, ejekční frakci levé komory apod.), lokálních faktorech (např. tloušťce kůže, otoku apod.) a technických podmínkách měření (např. atmosférickém tlaku). V našich studiích byl použit přístroj Tina TCM3 (Radiometer, Kodaň, Dánsko), který vyžadoval manuální kalibraci na aktuální barometrický tlak, viz obr. 12. Měření bylo prováděno vleže při naprostém klidu pacienta, při teplotě v místnosti 23-24 °C. Měřící elektrody byly umístěny na dorzum nohy v oblasti mezi prvním a druhým metatarsem a referenční na oblast 5 centimetrů pod levým klíčkem v medioklavikulární čáře. Elektrody byly zahřáty na teplotu 42-44 °C, protože při této teplotě dochází ke konstantní difúzi nezávisle na zevní teplotě a současně tato teplota neohrožuje pacienta popálením. Hodnoty $TcpO_2$ byly odečítány za ustáleného stavu v období 15-25 minut. Za uspokojivé hodnoty je považováno $TcpO_2$ nad 30 mmHg; hodnoty $TcpO_2$ pod 30 mmHg jsou specifické pro kritickou končetinovou ischémii (1, 131).




**Obr. 12** *Měření $TcpO_2$ u pacientů se SDN. Přístroj Tina TCM3 (a), umístění měřící elektrody na dorzu nohy (b)*

### *3.5 Mikrobiologické techniky (studie 8)*

Stěry nebo vzorky tkáně byly odebírány ze spodiny defektu nebo z hlubokých struktur nohy po lokálním debridementu a následně transportovány do mikrobiologické laboratoře v Amiensově transportním médiu. V laboratoři byl materiál rozočkován na pevné půdy (krevní agar, Endova půda apod.), přičemž část vzorků byla uložena do živného bujónu. Po 24 hodinách bylo provedeno opětné rozočkování na pevné půdy tak, aby byly získány izolované bakteriální kolonie. Jednotlivé bakteriální kmeny byly následně identifikovány pomocí standardních mikrobiologických vyšetření - barvení dle Gramma, využití selektivních půd a médií, případně komerčně vyrobenými testy, selektující kmeny baktérií podle utilizace různých substrátů.

Základní rozdělení mikroorganismů bylo prováděno dle Gramma do dvou základních skupin. První skupina Gramm pozitivních (G+) patogenů zahrnovala subpopulace Staphylococcus aureus, Staphylococcus koaguláty negativní, Enterococcus, Streptococcus a Corynebacterium species. Druhá skupina Gramm negativních (G-) mikroorganismů obsahovala subpopulace Escherichia colli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus, Pseudomonas a Acinetobacter species.

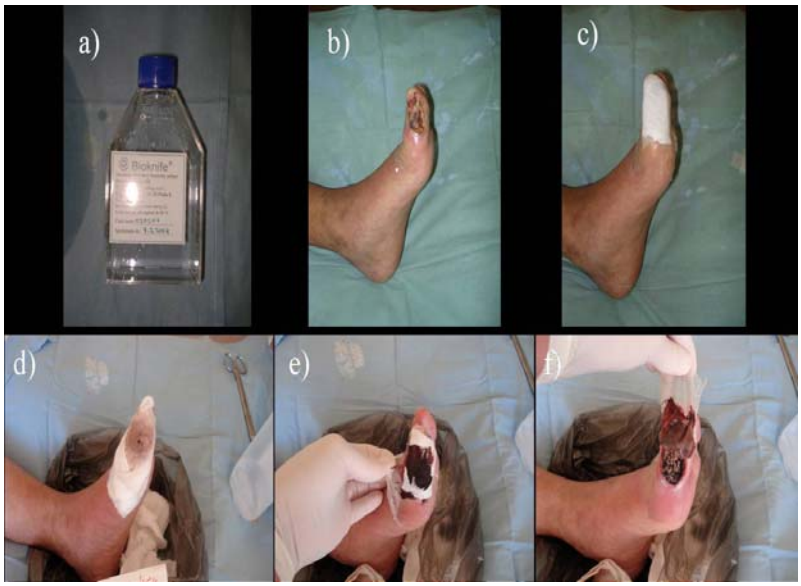
Citlivost baktérií k jednotlivým ATB byla stanovena pomocí testovacích setů ATB, jejichž složení bylo určeno předchozími analýzami bakteriálních rezistencí zjištěných v Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) a podle doporučení Národní antibiotické referenční laboratoře Státního ústavu v Praze. Z metod byla použita disková difúzní metoda, stanovení minimální inhibiční koncentrace, případně E-testy s různými koncentracemi ATB. K identifikaci MRSA bylo využito stanovení mec genu pomocí polymerázové řetězové reakce.

### *3.6 Biologický debridement - larvální terapie (studie 8)*

Larvální terapie se používá pro šetrné čištění ran od nekrotické tkáně. Larvy sekretují řadu enzymů kolikvující nekrotickou tkáň, která je pak trávena zažívacím traktem larev. Pro svoji aktivitu potřebují larvy optimální teplotu rovnou tělesné teplotě, dostatek kyslíku a vlhké prostředí. Nutná je také jejich ochrana proti mechanickému poškození a proti úniku z rány. V první fázi je nutný výběr vhodné rány, která musí být široce otevřená a alespoň na okrajích očištěná tak, aby mohly larvy proniknout do vlhké nekrotické tkáně. Suchá nekróza byla před aplikací larev z povrchu mechanicky odstraněna nebo zvlhčena aplikací lokálních prostředků (např. hydrogelu). Larvy byly aplikovány i do ran s podminovanými okraji nebo do dutinových ran, které ale nekomunikovaly s tělními dutinami a kde nehrozilo krvácení.

Ránu bylo nutné už před aplikací larev ohraničit od okolí semipermeabilním krytím tak, aby larvy a jejich sekret nemacerovaly okolí rány. Před aplikací do rány byly larvy velikosti asi 2 mm vyplaveny z kontejneru fyziologickým roztokem na předem připravenou sterilní síťku, která byla následně vložena na ránu. Průměrná hustota larev byla asi 5-10/cm$^2$. Larvy byly aplikovány do rány po dobu 3-5 dní. Během této doby larvy několikanásobně zvětšily svůj objem. Při jejich aplikaci bylo nutné vytvořit bariéru proti migraci larev z defektu a přitom zachovat larvám dostatek vzduchu, což bylo zajištěno speciálním krytím. Alespoň první den bylo udržováno vlhké prostředí pomocí zvlhčování gázového krytí fyziologickým roztokem až do doby, než začaly larvy secernovat více vlastního sekretu a stimulovat sekreci z rány. Po ukončení terapie byly larvy vymyty z rány fyziologickým roztokem do plastového pytle a zlikvidovány podobně jako ostatní biologický materiál. Postup aplikace je uveden na obr. 13.

Aplikace byly prováděny i opakovaně až do vyčištění rány, mezi aplikacemi byly několikadenní přestávky. Průměrný počet aplikací larvální léčby byl 1-3, ale v literatuře bylo popsáno i 10 aplikací. Bezprostředně po aplikaci zůstávala rána asi 2 dny povleklá šedým povlakem z larválního sekretu s natrávenými nekrózami a vyčištění rány jsme proto posuzovali až po jeho vyčištění po 1-2 dnech. Zlepšení granulací bylo pozorováno až s větším odstupem od aplikace larev. Larvy byly aplikovány ambulantně i za hospitalizace. Důležitou součástí aplikace larev bylo poučení nemocného o nutnosti odlehčení postižené končetiny, aby nedošlo během aplikace k mechanickému poškození larev (např. při došlápnutí). Mechanickému poškození bylo také předcházeno vytvořením vyšší bariéry kolem rány s aplikovanými larvami (např. pěnovým krytím).

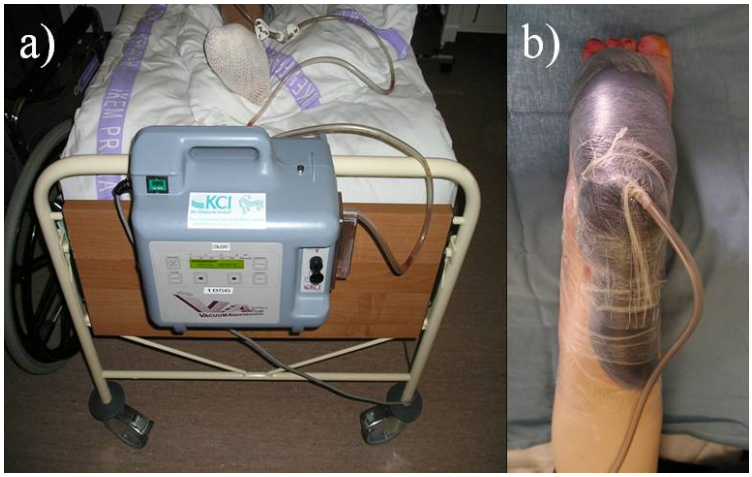



**Obr. 13** *Aplikace larev u SDN. Kontejner na transport larev (a); vložení larev do rány (b), a krytí semipermeabilním krytím (c); odstranění krytí a larev z rány (d, e, f)*

### *3.7 Léčba ran pomocí metody řízeného lokálního podtlaku (studie 9)*

Metoda řízeného lokálního podtlaku, tzv. V.A.C. léčba je metoda léčby ran využívající lokálního podtlaku vytvořeného přímo v oblasti ulcerace. Lokální podtlak urychluje čištění ulcerace a odstranění nekrotické tkáně, zvýšením lokálního prokrvení také podporuje hojení - tvorbu granulační tkáně a epitelizaci. Podmínkou úspěšné léčby je dostatečně otevřená rána, nepříliš povrchová. Relativními kontraindikacemi je aktivní krvácení z rány, agresivní antikoagulační terapie spojená s obtížnou hemostázou v oblasti rány a u SDN také nedostatečně léčená OM nebo jiná závažná infekce (např. flegmóna).

Prakticky byla celá oblast ulcerace překryta speciální polyuretanovou pěnou a průhlednou folií, která neprodyšně uzavírala ulceraci od okolí. Do pěny byl zaveden odsávací drén, který byl vyveden do rezervoáru přístroje. V tomto uzavřeném systému byl následně přístrojem vytvořen podtlak (25-200 mmHg). Frekvence výměny krytí byla závislá na typu rány, zpravidla byl převaz nutný jednou za 2-7 dní, viz obr. 14.




**Obr. 14** *Aplikace V.A.C. u pacienta se SDN. Umístění přístroje u lůžka (a); aplikace na oblast nohy (b)*

Aplikovaný podtlak byl buď kontinuální nebo intermitentní. Standardní intermitentní režim zahrnoval 5-ti minutovou aplikaci podtlaku a 2 minuty normálního tlaku; přístroj se však dal nastavit na různou dobu aplikace podtlaku a pauzy. Míra podtlaku též závisela na typu rány. U našich pacientů byl nejčastěji aplikován kontinuální podtlak mezi 125-175 mmHg, minimálně 16 hodin denně. Volba režimu a míra podtlaku závisela na snášenlivosti pacienta a na indikaci lékaře. Terapie byla prováděna jak za hospitalizace, tak i v rámci ambulantní léčby. Pacienti byli důkladně edukováni o obsluze přístroje. Pacient pak dokázal v případě nutnosti (při osobní hygieně, vyšetření apod.) zařízení vypnout i zapnout.

U pacientů se SDN byla V.A.C. indikována u defektů klasifikovaných jako Wagner 2-3, tj. zasahujících do podkoží, případně i při obnažení hlubokých struktur nohy - kostí, šlach a kloubů. Prominující kosti nebo šlachy bylo nutné před aplikací podtlaku chránit nejlépe silikonovým krytím.

### *3.8 Použité statistické metody*

Ke zhodnocení jednotlivých studií jsme použili celou řadu různých statistických metod:

**Jednovýběrový t-test** - byl použit ke stanovení statistické významnosti průměru testované veličiny vzhledem k normě při 5 % hladině významnosti.

**Dvouvýběrový t-test** - sloužil k porovnání dvou skupin mezi sebou. *Párový t-test* byl použit k posouzení změn mezi prvním a druhým měřením u téhož pacienta; pro neparametrické veličiny byl proveden obdobně *párový Wilcoxonův test*. K porovnání dvou různých skupin veličin s normálním (Gaussovým) rozložením sloužil *nepárový t-test*; pro neparametrické veličiny pak obdobně *Mann-Whitneyův test*.

**Regresní analýza -** byla použita ke stanovení linie, která nejlépe predikuje jednu veličinu od druhé.

**Postupná regresní analýza** - testovala soubor veličin tak, aby byly postupně stanoveny vztahy k jiné srovnávané veličině.

**Korelace -** sloužila ke kvantifikaci vztahu mezi dvěma veličinami. *Personova korelace* byla použita v případě, kdy obě porovnávané veličiny splňovaly Gaussovo rozložení. U neparametrických veličin byla provedena *Spearmanova korelace*. U obou testů byl stanoven korelační koeficient r a determinační koeficient $r^2$.

**Relativní AUC** (area under curve) **-** byla stanovena poměrem plochy pod křivkou pro studovanou veličinu s hodnotami opakovaně získanými během delšího časového intervalu a hypotetickou plochou pod křivkou v oblasti bazálních hodnot dané veličiny.

**Kontingenční tabulky a $\chi^2$ test** - sloužili k zjištění závislosti jedné kvalitativní veličiny na druhé.

**Kaplan-Maierova analýza -** byla použita ke srovnání výskytu nové události u dvou skupin během určitého časového intervalu.

**McNemarův test** - sloužil k testování určitých hypotéz např. závislosti jedné veličiny na druhé.

Statistické analýzy všech dat byly provedeny pomocí statistického softwaru BMDP PC 90 (BMDP Statistical Software, Los Angeles, CA, USA) nebo GraphPad Prism verze 4.00 pro Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

# 4 Uspořádání studií, přehled výsledků a diskuze k jednotlivým studiím

## *4.1 Kostní metabolismus a Charcotova neuroosteoarthropatie*

### Studie 1: Role nazálního kalcitoninu v léčbě akutní Charcotovy neuroosteoarthropatie (přílohy 1-3)

CNO vede ke změnám kostní mikroarchitektury a může být příčinou patologických fraktur. Za příčinu zvýšené kostní resorpce u pacientů s CNO je považována zvýšená aktivita osteoklastů. Cílem naší randomizované studie bylo posoudit efekt nazálního kalcitoninu na aktivitu CNO a kostní metabolismus hodnocený markery osteomodelace u pacientů s akutní CNO.

*Charakteristika souboru*

V období 8/2003 až 12/2004 bylo do studie zařazeno celkem 32 pacientů léčených v Centru diabetologie IKEM s akutní CNO. Jednalo se o pacienty s diabetes mellitus 1. i 2. typu. Akutní CNO byla definována klinickými známkami onemocnění - teplá, oteklá noha s rozdílem kožních teplot ≥ 2 °C v oblasti postižené nohy ve srovnání se stejným místem na druhé noze, diagnóza byla potvrzena pozitivním nálezem na RTG a dynamickou scintigrafií skeletu (9). Přítomnost diabetické neuropatie byla diagnostikována vyšetřením prahu vibrační citlivosti pomocí biothesiometru (VPT > 25 V) na dorzu palce (132). Pacienti s OM, která byla diagnostikována na základě klinických příznaků (otok, zarudnutí, patologická sekrece z rány), laboratorně (zvýšená hodnota CRP, leukocytóza) nebo dle RTG, nebyli zahrnuti do této studie.

Studie byla schválena místní etickou komisí a všichni pacienti před vstupem do studie podepsali informovaný souhlas.

*Schéma studie 1 a statistické zhodnocení výsledků*

Pacienti byli randomizováni do dvou skupin - kalcitoninová skupina (n = 16) byla léčena nazálním kalcitoninem v dávce 200 IU v kombinaci s 1000 mg kalcia denně; kontrolní skupina (n = 16) byla léčena 1000 mg vápníku denně v monoterapii. Randomizace byla provedena pomocí počítačového randomizačního programu. Všichni pacienti měli současně standardní léčbu CNO - odlehčení postižené končetiny pomocí snímatelné fixační sádry typu RCC nebo RWC (15).

Aktivita onemocnění byla monitorována měřením rozdílu kožních teplot mezi odpovídajícími místy postižené a nepostižené končetiny a stanovením markerů kostní remodelace (ICTP, KALP a osteokalcin) na začátku studie a v období 1, 2, 3 a 6 měsíců od vstupu do studie. Renální insuficience byla definována zvýšením sérové hladiny kreatininu nad 120 µmol/l.

Potřebná velikost souboru byla na základě pilotní studie stanovena na 32 pacienty, při síle studie 80 %, aby mohl být detekován rozdíl 15 % mezi intervenovanou skupinou a kontrolami s oboustraným $\alpha = 0{,}05$. Data byla analyzována pomocí Wilcoxonova rank testu a párovým Mann-Whitneyovým testem. Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0{,}05$.

*Výsledky studie 1*

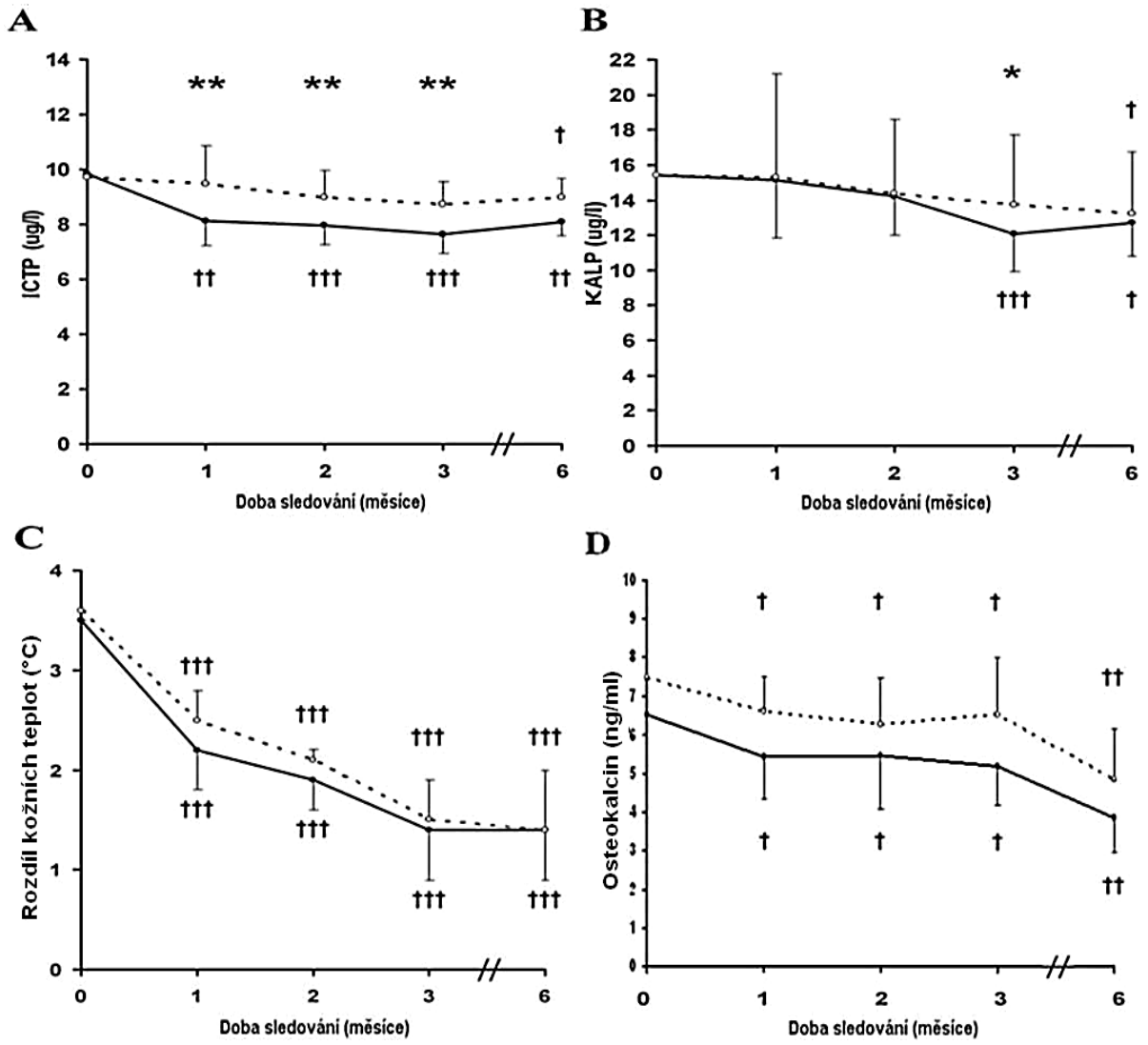
Na začátku studie byly intervenovaná i kontrolní skupina srovnatelné věkem, typem diabetu, pohlavím a stupněm neuropatie. Navíc zde nebyl signifikantní rozdíl v aktivitě CNO hodnocený rozdílem kožních teplot a markery kostního obratu (ICTP, KALP, osteokalcin), viz tab. 4. Nejčastěji postiženou oblastí bylo středonoží (26 pacientů), bez rozdílu mezi oběma skupinami. Renální insuficience byla přítomna u 5 (31,2 %) pacientů v kalcitoninové skupině a u 4 (25 %) v kontrolní skupině.

| | Kalcitoninová skupina | Kontroly | P |
|---|---|---|---|
| Počet pacientů | 16 | 16 | - |
| Věk (roky) | 52,2 ± 12,2 | 54,9 ± 10,4 | NS |
| Délka trvání diabetu (roky) | 14,7 ± 7,6 | 15,8 ± 8,8 | NS |
| Diabetes mellitus 2. typu – počet pacientů (%) | 11 (68,7) | 11 (68,7) | NS |
| Pohlaví (muži/ženy) | 11/5 | 11/5 | NS |
| VPT (V) | 42,9 ± 10,4 | 40,1 ± 9,2 | NS |
| Rozdíl kožních teplot (°C) | 3,5 ± 1,4 | 3,6 ± 1,5 | NS |
| ICTP (µg/l) | 9,8 ± 4,3 | 9,7 ± 3,4 | NS |
| KALP (µg/l) | 15,4 ± 8,8 | 15,4 ± 6,7 | NS |
| Osteokalcin (ng/ml) | 7,2 ± 3,0 | 7,6 ± 5,1 | NS |
| Sérový kreatinin (µmol/l) | 97,1 ± 29,3 | 95,2 ± 22,8 | NS |
| Renální insuficience (kreatinin > 120 µmol/l) – počet (%) | 5 (31,2) | 4 (25) | NS |

± SD

**Tab. 4** *Vstupní charakteristiky pacientů ve studii s nazálním kalcitoninem v léčbě akutní CNO*

V prvních třech měsících byl signifikantně větší pokles ICTP v kalcitoninové skupině oproti kontrolám (p < 0,01); stejný pokles byl zaznamenán i v podskupině devíti pacientů s renální insuficiencí (p < 0,01). Pokles ICTP v kalcitoninové skupině byl oproti výchozí hodnotě signifikantní po celou dobu sledování (p < 0,01), kdežto v kontrolní skupině byl pokles signifikantní až po šesti měsících léčby (p < 0,05). Signifikantní pokles KALP v kalcitoninové skupině byl pozorován až po třech měsících terapie. Rozdíly kožních teplot a hodnoty osteokalcinu klesaly signifikantně po celou dobu sledování, ale bez signifikantního rozdílu mezi skupinami (obr. 15).




**Obr. 15** *Efekt kalcitoninu na ICTP (A), KALP (B), rozdíl kožních teplot (C), osteokalcin (D)*
*— Kalcitoninová skupina; ---- Kontrolní skupina*
*Kalcitonin vs. Kontroly * p < 0,05; ** p < 0,01;*
*Kalcitonin a Kontroly vs. vstupní hodnoty; † p < 0,05; †† p < ,001; ††† p < 0,001*

*Diskuze ke studii 1*

Naše randomizovaná kontrolovaná studie poprvé prokázala, že nazální kalcitonin účinně snižuje osteolýzu ve srovnání s kontrolami v akutní fázi CNO. Na rozdíl od předcházejících studií s bisfosfonáty tato studie sledovala i pacienty s renální insuficiencí, kteří tvořili 28 % našich pacientů.

Současná doporučovaná léčba CNO zahrnuje zejména odlehčení postižené končetiny (133). Práce z poslední doby ukazují, že bisfosfonáty mají příznivý účinek na kostní remodelaci v akutní fázi CNO (45, 47, 134). Terapie bisfosfonáty je limitována tím, že nemohou být indikovány u pacientů s renální insuficiencí a mohou být při předávkování příčinou osteonekróz (135). Pozitivní efekt kalcitoninu, který lze podávat i u pacientů s renální insuficiencí, byl prokázán v léčbě vysokoobratové postmenopauzální osteoporózy (136). U pacientů s CNO ale dosud nebyl testován.

Kalcitonin má ve srovnání s bisfosfonáty i další výhody. Na patogenetické úrovni bisfosfonáty inhibují aktivitu osteoklastů, protože nepůsobí na regulační OPG/RANK-L systém (27), jak je tomu u kalcitoninu, ale na apoptózu osteoklastů. Bisfosfonáty proto mohou způsobit úplnou inhibici remodelační kostní jednotky (137). Kalcitonin, který snižuje jiným mechanismem osteoklastickou kostní resorpci, nevede tak k výraznému poklesu aktivity remodelace (138).

V naší studii s kalcitoninem jsme v průběhu léčby pozorovali pokles aktivity CNO jak v intervenované skupině, tak v kontrolní, protože obě skupiny byly současně léčeny odlehčením, které snižuje aktivitu CNO. V intervenované skupině byl pokles aktivity CNO ale po celou dobu větší. Oproti tomu ve studii s bisfosfonáty (45) aktivita CNO v kontrolní skupině neklesala, takže i když byly rovněž signifikantní rozdíly oproti intervenované skupině, lze předpokládat, že efekt jednorázového podání pamidronátu na aktivitu CNO byl méně výrazný než efekt kalcitoninu v naší studii a projevil se jen po přechodnou dobu.

**Studie 2: Dlouhodobý efekt léčby nazálním kalcitoninem u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií (přílohy 4-7)**

Léčba CNO je často velmi zdlouhavá a výrazně snižuje kvalitu života pacienta z důvodu nutnosti dlouhodobé imobilizace postižené končetiny. Délka terapie akutní CNO trvá podle různých studií 3-20 měsíců (139, 140), ale i po zvládnutí akutní fáze může kdykoliv docházet k rekurenci onemocnění (53). Cílem naší studie bylo posoudit efekt nazálního kalcitoninu při dlouhodobém podávání, zejména na nezbytnou dobu imobilizace pacienta (délku terapie odlehčením) a na výskyt rekurence CNO.

*Charakteristika souboru*

Do této studie bylo zařazeno celkem 36 pacientů léčených v Centru diabetologie IKEM s diabetes mellitus 1. i 2. typu a s diagnózou akutní CNO v období mezi 8/2003 až 12/2005. Akutní CNO byla definována jako ve studii 1. Všichni pacienti před vstupem do studie podepsali informovaný souhlas a studie byla schválena místní etickou komisí.

*Schéma studie 2 a statistické zhodnocení výsledků*

Tato studie navazovala na předchozí studii s akutním efektem kalcitoninu, sledování dokončilo 18 randomizovaných pacientů v intervenované skupině a 18 pacientů v kontrolním souboru.

Doba hojení byla definována jako období od zahájení terapie do definitivního ukončení odlehčení RCC nebo RWC. Rozhodnutí o ukončení terapie bylo učiněno na podkladě příznivých klinických známek (ústup otoku a zarudnutí nohy, rozdíl kožních teplot < 2 °C během 6 týdenní periody intermitentního zatěžování končetiny) a též na podkladě ústupu CNO podle radiologických a scintigrafických parametrů. Dodržování režimu odlehčení pacietem bylo hodnoceno na základě informací od pacienta, příbuzných a zdravotnického personálu. Pokud pacient zatěžoval postiženou končetinu po více než 50 % celkové doby, byl hodnocen jako nespolupracující.

Rekurence CNO byla definována jako vznik nového otoku a zarudnutí končetiny s elevací kožních teplot vyžadující nové odlehčení RCC nebo RWC. Sledované období pro rekurenci CNO bylo 15 měsíců od zhojení akutní fáze (ukončení léčby ortézou).

Kromě doby léčby akutní fáze a rekurence CNO jsme sledovali také dlouhodobý vliv léčby kalcitoninem na aktivitu CNO, která byla monitorována stanovením markerů kostního obratu, měřením kožních teplot a kvantitativními parametry dynamické scintigrafie skeletu.

Z markerů kostního obratu jsme stanovovali ICTP, KALP a osteokalcin, které byly vyšetřovány na začátku studie a s odstupem 1, 2, 3, 6, 9, 12 a 18 měsíců. Rozdíl kožních teplot byl měřen při každé kontrole, nejméně jednou za měsíc, nebo kdykoliv při zhoršení stavu dolní končetiny. Dynamická scintigrafie skeletu byla provedena vždy před zahájením léčby a v období před uvažovaným ukončením odlehčení ortézou (± 1 měsíc), stanovení jejich kvantitativních parametrů je popsáno v metodice (viz kapitola 3.2). Během sledovaného období byl navíc zjišťován výskyt amputací a nových ulcerací.

Rozdíly mezi skupinami byly zhodnoceny dvojvýběrovým nepárovým Studentovým t-testem. Kaplan-Meierova analýza byla použita k posouzení výskytu rekurencí mezi skupinami. Statistické zhodnocení rozdílu v aktivitě kostního obratu mezi intervenovanou a kontrolní skupinou bylo provedeno srovnáním ploch pod křivkou získanou z častého měření ICTP během sledování (AUC - area under the curve). Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0,05$.

*Výsledky studie 2*

Vstupní parametry byly srovnatelné v obou skupinách; skupiny se nelišily ve věku, délce trvání diabetu, typu diabetu, pohlaví, či stupni periferní neuropatie. Navíc nebyl zjištěn rozdíl v aktivitě onemocnění mezi skupinami hodnocený rozdílem kožních teplot a ICTP na začátku studie (tab. 5). Nejčastěji postiženou částí nohy byla oblast tarsálních kostí [15 (83,3 %) v kalcitoninové skupině, 16 (88,8 %) u kontrol; NS].

| | Kalcitoninová skupina | Kontroly | P |
|---|---|---|---|
| Počet pacientů | 18 | 18 | - |
| Věk (roky) | 53,4 ± 9,9 | 55,1 ± 4,2 | NS |
| Pohlaví (muži/ženy) | 12/6 | 11/7 | NS |
| Délka trvání diabetu (roky) | 15,1 ± 7,3 | 15,5 ± 8,2 | NS |
| Diabetes mellitus 2. typu počet (%) | 12(66,6) | 12(66,6) | NS |
| HbA1c (%) | 8,1 ± 1,3 | 8,2 ± 1,3 | NS |
| VPT (V) | 44,6 ± 6,9 | 43,6 ± 8,0 | NS |
| Rozdíl kožních teplot (°C) | 3,6 ± 1,1 | 3,5 ± 1,0 | NS |
| ICTP (µg/l) | 10,0 ± 4,9 | 10,1 ± 5,4 | NS |
| Renální insuficience (kreatinin > 120 µmol/l) % | 5 (27,7) | 4 (22,2) | NS |

± SD

**Tab. 5:** *Vstupní charakteristiky pacientů ve studii posuzující dlouhodobý efekt kalcitoninu*

Nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl mezi skupinami v typu použité ortézy (RCC/RWC 12/6 v kalcitoninové skupině vs. 11/7 u kontrol; NS). Špatné dodržování režimu odlehčení bylo pozorováno u šesti pacientů (33,3 %) v kalcitoninové skupině a u pěti pacientů (27,8 %) v kontrolní skupině (nesignifikantní rozdíl). Definice doby hojení podle ukončení odlehčení na základě klinických i laboratorních známek poklesu aktivity CNO se ukázala být spolehlivou, protože v době ukončení odlehčení nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi skupinami v ukazatelích aktivity CNO (tab. 6).

Výsledky ukázaly, že pacienti v kalcitoninové skupině vyžadovali signifikantně kratší dobu odlehčení ve srovnání s kontrolami v průměru 154,9 dní (95 % CI 136,1-173,7) vs. 190 dní (95 % CI 168,2-211,8); p = 0,027, obr. 16.

U tří pacientů v kalcitoninové skupině (16,6 %) a osmi pacientů v kontrolní skupině (44,4 %) došlo k rekurenci CNO během prvních patnácti měsíců od ukončení odlehčení ortézou. I když procentuální rozdíl byl velký, signifikantní rozdíl mezi skupinami při menším počtu pacientů nebyl zaznamenán (p = 0,090), obr. 17.

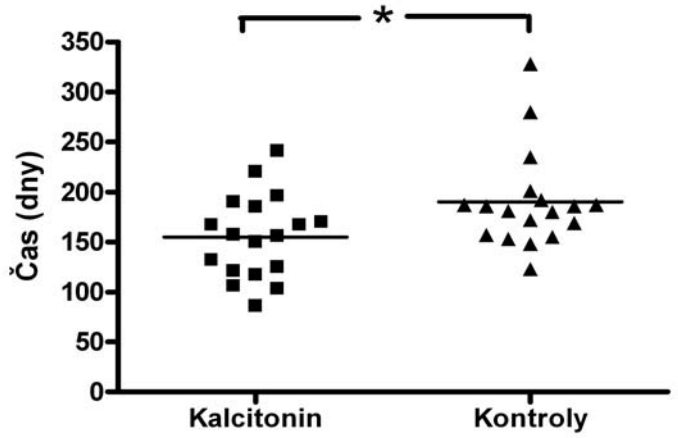
Relativní AUC pro ICTP bylo signifikantně nižší v kalcitoninové skupině ve srovnání s kontrolami během 18-ti měsíčního sledování (0,75 vs. 0,86; $p < 0,05$), což svědčí pro výrazně nižší dlouhodobou kostní resorpci v intervenované skupině, obr. 18.

Během celého sledovaného období nebyly zaznamenány rozdíly ve výskytu ulcerací a amputací mezi intervenovanou a kontrolní skupinou - u sedmi pacientů (38,8 %) v každé skupině byla zjištěna nová ulcerace, u dvou pacientů v každé skupině byla provedena nízká amputace; žádný pacient nepodstoupil vysokou amputaci.

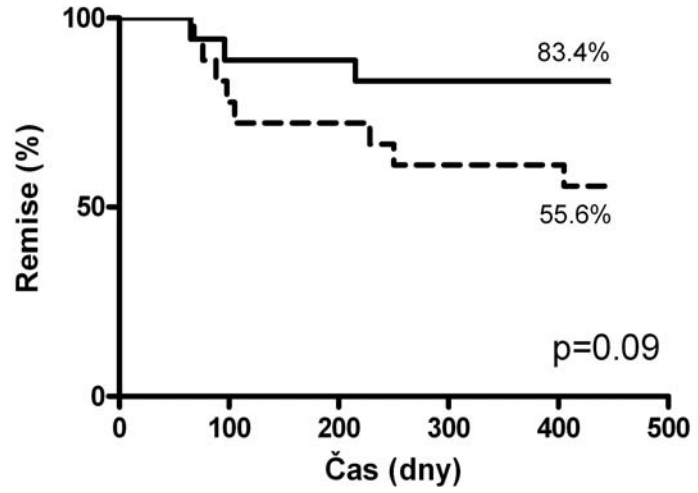
| | Kalcitoninová skupina | Kontroly | P |
|---|---|---|---|
| Počet pacientů | 18 | 18 | - |
| Rozdíl kožních teplot (°C) | 0,8 ± 0,5 | 0,9 ± 0,5 | NS |
| ICTP (µg/l) | 7,8 ± 4,0 | 7,9 ± 3,2 | NS |
| FCF | 3,3 ± 1,6 | 3,3 ± 2,6 | NS |

± SD

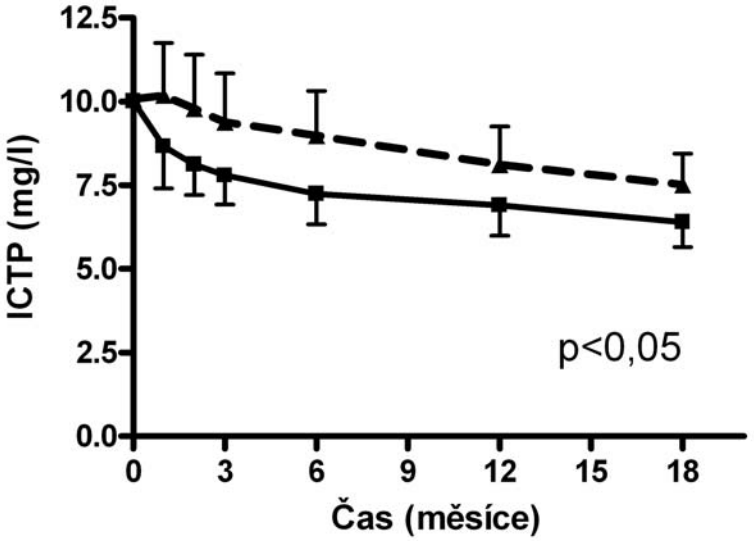
**Tab. 6:** *Parametry aktivity CNO v jednotlivých skupinách v době ukončení odlehčení. ICTP - karboxyterminální telopeptid kolagenu I; FCF - relativní akumulace radiofamaka v nejvíce postižené oblasti nohy - kvantitativní parametr kostní scintigrafie*




**Obr. 16:** *Doba hojení Charcotovy osteoarthropatie v kalcitoninové a kontrolní skupině.*
*Skupiny se signifikantně liší (* p = 0,027)*




**Obr. 17:** *Efekt kalcitoninu na délku remise Charcotovy osteoarthropatie u pacientů v kalcitoninové skupině (plná čára) a u kontrol (přerušovaná čára)*




**Obr. 18:** *Efekt kalcitoninu na kostní resorpci hodnocenou ICTP v kalcitoninové skupině (plná čára) a u kontrol (přerušovaná čára)*
*Relativní AUC pro kalcitoninou skupinu bylo 0,75 vs. 0,86 u kontrol; p < 0,05*

*Diskuze ke studii 2*

Standardní léčba akutní CNO spočívá zejména v maximálním odlehčení postižené končetiny (133). V poslední době ale přibývá prací zabývajících se další terapií akutní fáze CNO, např. účinností rekalcifikační terapie pomocí bisfosfonátů či kalcitoninu (45, 47, 141). Podle našich znalostí doposud nebyla publikována randomizovaná studie hodnotící dlouhodobý klinický efekt rekalcifikační léčby.

V naší studii jsme zjistili pozitivní efekt dlouhodobé léčby kalcitoninem na akutní fázi CNO. Ve srovnání s kontrolami byla tato fáze zkrácena o více jak 1 měsíc. Hodnocení zhojení u CNO je značně problematické, protože neexistují doporučené standardy pro ukončení odlehčení. Dobu odlehčení RCC nebo RWC je ale možné považovat za nejvíce omezující kvalitu života pacienta. Délka terapie odlehčením se v jednotlivých studiích velmi liší, např. v Pinzurově studii byla průměrná doba odlehčení pomocí TCC 5,8 týdne a pacienti byli schopni přejít na speciální obuv až v průměru za 12 týdnů od začátku terapie akutní CNO (139). Ve studii Sinacora (53) byla délka odlehčení ortézou 86 dní a byla závislá na lokalizaci CNO, přičemž nejkratší doba hojení byla zaznamenána u pacientů s CNO v oblasti přednoží (55 dní) a nejdelší pro oblast paty a středonoží (97 a 96 dní). Oproti tomu v Armstrongově studii ponechávali sádrovou ortézu typu TCC po dobu 18,5 týdne, ale celková doba léčby ortézou od jejího zahájení až k definitivnímu návratu k obuvi trvala 28,3 týdnů (15). V naší studii jsme použili k odlehčení nejen TCC, ale také snímatelné ortézy typu RCC a RWC, což mohlo vést k prodloužení doby hojení, protože TCC zajišťuje větší míru spolupráce pacienta s odlehčením než snímatelné typy ortéz. Zkrácení doby hojení tak bylo ovlivněno nejen kalcitoninem, ale i mírou spolupráce pacienta s odlehčením - kratší doba hojení byla u dobře spolupracujících pacientů s odlehčením v intervenované i kontrolní skupině. Poučení pacientů o nutnosti odlehčení byla věnována velká pozornost, takže oproti studii Sinacora, který zaznamenal pouze u 28 % pacientů uspokojivou míru odlehčení (53), bylo v našem souboru uspokojivé odlehčení pozorováno u více než dvou třetin pacientů v obou skupinách.

V naší studii jsme zaznamenali výrazný trend k poklesu počtu rekurencí CNO v kalcitoninové skupině (16,6 %) oproti kontrolní skupině (44,4 %). Tento výrazný procentuální rozdíl byl ale na hranici statistické významnosti, což mohlo být dáno relativně malým počtem pacientů v obou skupinách. Rekurence CNO byla doposud studována jen velmi zřídka. Sinacore popisuje výskyt rekurence v prvním měsíci od ukončení léčby ortézou ve 13 % případů (53), Fabrin ve 30 % případů (7). Efekt rekalcifikační terapie na výskyt rekurence CNO nebyl dle našich znalostí dosud testován.

Při dlouhodobém podávání kalcitoninu byla též zaznamenána nižší dlouhodobá osteoresorpce, kdy byly signifikantně nižší kumulativní hodnoty ICTP oproti kontrolám během osmnácti měsíců sledování. Zejména rychlý pokles ICTP byl v kalcitoninové skupině v prvních třech měsících od zahájení léčby. Předchozí studie sledovali efekt rekalcifikační léčby pouze na akutní fázi CNO (45, 47), dlouhodobý efekt této léčby dle našich znalostí nebyl dosud publikován.

**Studie 3: Využití kvantitativních parametrů dynamické kostní scintigrafie u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií (příloha 8 a 9)**

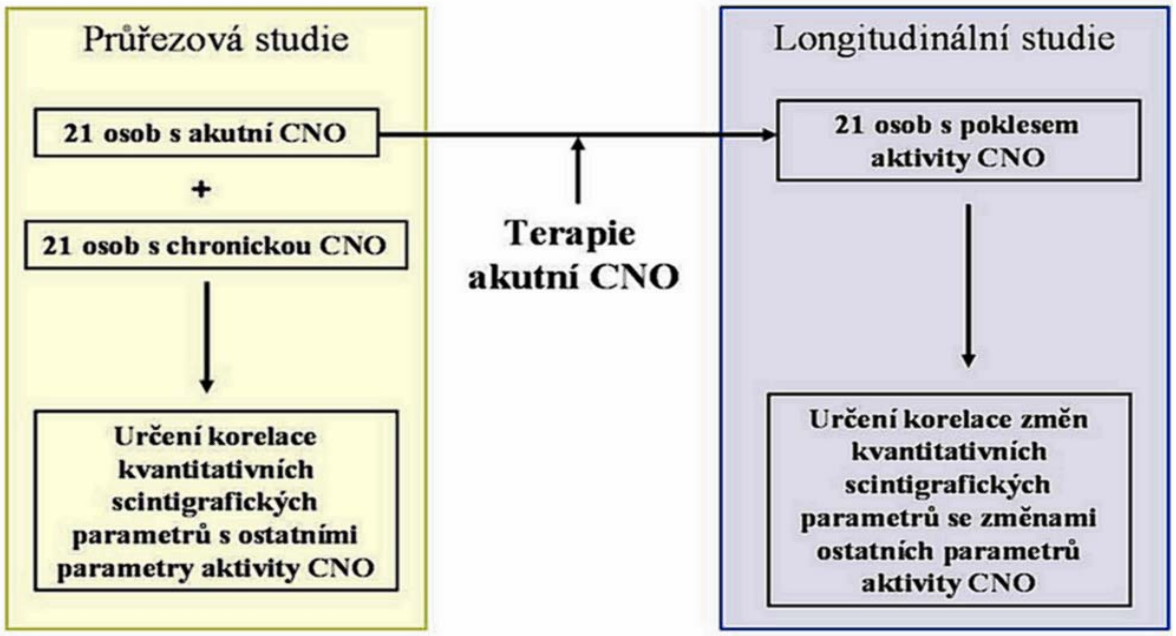
Aktivita CNO je nejčastěji posuzována podle měření rozdílu kožních teplot a markerů kostní remodelace. Tyto parametry ale neodpovídají pouze kostní remodelaci v oblasti nohy. Na druhé straně scintigrafie skeletu může ukázat morfologickou lokalizaci aktivity CNO, není však definována kvantitativně. Cílem naší studie bylo proto definovat nové vhodné kvantitativní parametry kostní scintigrafie a posoudit jejich klinické využití v diagnostice a terapii CNO.

*Charakteristika souboru*

Ve studii bylo retrospektivně zhodnoceno 42 pacientů v různém stádiu CNO, kteří byli léčeni v Centru diabetologie IKEM během tříletého období (1/2003-12/2005). Zařazeni byli všichni pacienti s diabetes mellitus 1. a 2. typu a s diagnózou CNO, která byla stanovena na podkladě klinického a radiologického vyšetření. Akutní CNO byla definována stejně jako v předchozích studiích. Chronická fáze CNO byla definována na rozdíl od akutní fáze menším rozdílem kožních teplot (do 2 °C) a klinickým nálezem nesvědčícím pro aktivitu CNO. Všichni pacienti s chronickou CNO měli v anamnéze akutní fázi CNO a neměli v době vyšetření prokázanou OM. Charakteristiky pacientů jsou uvedeny v tab. 7. Před vstupem do studie pacienti podepsali informovaný souhlas, studie byla schválena místní etickou komisí.

*Schéma studie 3 a statistické zhodnocení výsledků*

Schéma studie je na obr. 19. 42 pacientů s různou aktivitou CNO bylo vyšetřeno v rámci průřezové studie, z těchto bylo 21 v akutní a 21 v chronické fázi CNO. Soubor 21 pacientů s akutní CNO pak byl sledován longitudinálně. Kontrolní vyšetření byla provedena s odstupem nejméně 6 měsíců od zařazení do studie tak, aby došlo k poklesu aktivity CNO.




**Obr. 19:** *Schéma studie zaměřené na posouzení kvantitativních parametrů dynamické kostní scintigrafie u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií*

Pacienti s akutní CNO byli léčeni pomocí odlehčení a rekalcifikační terapií. Pacientům v chronické fázi byla předepsána preventivní obuv jako prevence vzniku ulcerací.

Kvantitativní parametry kostní scintigrafie jsme definovali v kapitole 3.2; hodnotili jsme následující kvantitativní parametry perfúzní i vychytávací fáze kostní scintigrafie: BFV jako poměr vzdálenosti mezi inguinálním vazem a zevním kotníkem a časem průtoku 99mTc MEDP a dva parametry kostní akumulace: FWB jako poměr mezi akumulací radiofarmaka v oblasti postižené nohy k akumulaci v oblasti celého těla a FCF jako poměr mezi přesně definovanou oblastí největší akumulace radiofarmaka v oblasti postižené nohy ku stejné oblasti na druhé, nepostižené noze. Tyto kvantitativní parametry kostní scintigrafie jsme srovnávali se standardními ukazateli aktivity CNO - s markery kostní remodelace (ICTP, KALP) a s rozdílem kožních teplot na postižené a nepostižené končetině.

Ke statistickému zhodnocení rozdílů mezi skupinami byl použit nepárový Studentův t test. Opakovaně měřené hodnoty byly zpracovány párovým Studentovým testem (parametrické veličiny) nebo Mann-Whitneyovým testem (nepametrické veličiny). Korelace byla hodnocena regresní analýzou a Pearsonovým korelačním keoficientem. Pomocí analýzy „residual mean square“ jsme vybrali kvantitativní parametr kostní scintigrafie korelující nejlépe s kostní remodelací a odpovídající proto nejlépe aktivitě CNO. Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0,05$.

| Charakteristika | Akutní CNO | Chronická CNO | Všichni pacienti |
|---|---|---|---|
| Počet pacientů | 21 | 21 | 42 |
| Věk (roky) | 54,3 ± 9,6 | 52,3 ± 10,6 | 53,3 ± 10,1 |
| Pohlaví (muži/ženy) | 13/8 | 12/9 | 25/17 |
| Délka trvání diabetu (roky) | 19,8 ± 10,1 | 17,1 ± 7,5 | 18,5 ± 8,9 |
| Diabetes 2. typu - počet (%) | 14 (66,7) | 14 (66,7) | 28 (66,7) |
| HbA1c (%) | 8,4 ± 1,6 | 8,6 ± 2,0 | 8,5 ± 1,8 |
| VPT (V) | 44,5 ± 8,2 | 43,7 ± 7,7 | 44,1 ± 7,9 |
| ICTP (µg/l) | 9,6 ± 4,2 | 7,0 ± 2,3* | 8,3 ± 3,6 |
| KALP (µg/l) | 15,2 ± 7,9 | 11,2 ± 2,7* | 13,2 ± 6,2 |
| Rozdíl kožních teplot (°C) | 3,2 ± 1,2 | 1,2 ± 0,5** | 2,2 ± 1,4 |

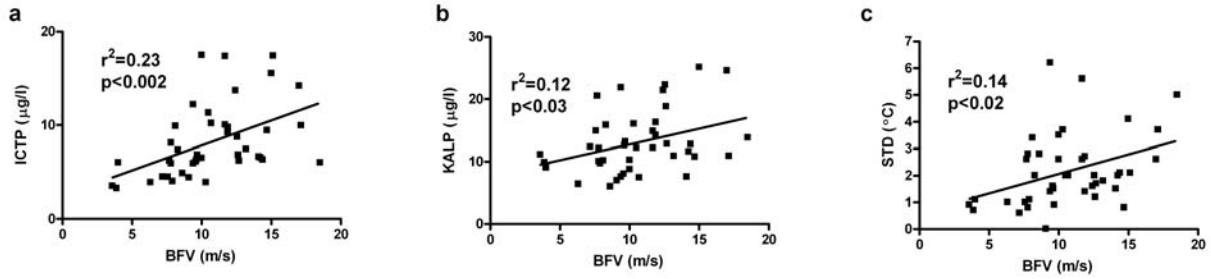
± SD

**Tab. 7:** *Vstupní charakteristiky pacientů ve studii zaměřené na posouzení kvantitativních parametrů dynamické kostní scintigrafie u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií*
** $p < 0,05$; ** $p < 0,001$*

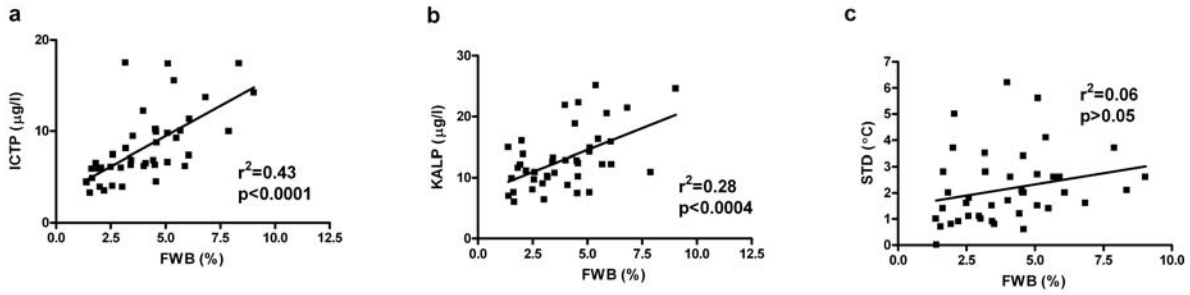
*Výsledky studie 3*

V průřezové studii, která hodnotila celkem 42 pacientů v akutní a chronické fázi CNO, měli pacienti v akutní fázi (n = 21) signifikantně vyšší parametry aktivity CNO ve srovnání s pacienty v chronické fázi (n = 21), což svědčí o spolehlivosti rozložení souboru na akutní a chronickou CNO, viz tab. 7.

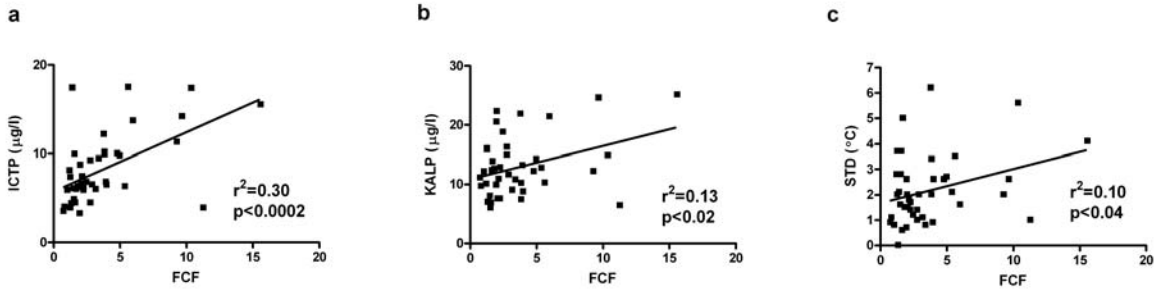
Kvantitativní BFV (parametr krevního průtoku), signifikantně koreloval s ICTP, s KALP i s rozdíly kožních teplot ($p < 0,002$, $p < 0,03$, $p < 0,02$), obr. 20 a, b, c.




**Obr. 20**: *Korelace mezi kvantitativním parametrem kostní scintigrafie BFV a markery kostní remodelace (a, b), respektive rozdílů kožních teplot (c). BFV - rychlost krevního průtoku; ICTP - karboxyterminální telopeptid kolagenu I; KALP - kostní isomer alkalické fosfatázy; STD - rozdíl kožních teplot*




**Obr. 21**: *Korelace mezi kvantitativním parametrem kostní scintigrafie FWB a markery kostní remodelace (a, b), respektive rozdílů kožních teplot (c). FWB - relativní akumulace radiofarmaka v oblasti nohy; ICTP - karboxyterminální telopeptid kolagenu I; KALP - kostní isomer alkalické fosfatázy; STD - rozdíl kožních teplot*




**Obr. 22**: *Korelace mezi kvantitativním parametrem kostní scintigrafie FCF a markery kostní remodelace (a, b), respektive rozdílů kožních teplot (c). FCF - relativní akumulace radiofamaka v nejvíce postižené oblasti nohy; ICTP - karboxyterminální telopeptid kolagenu I; KALP - kostní isomer alkalické fosfatázy; STD - rozdíl kožních teplot*

Signifikantní korelace byly také nalezeny mezi FWB (parametr srovnávající akumulaci radiofarmaka v postižené končetině k celotělové akumulaci) a ICTP, případně KALP ($p < 0{,}0001$, $p < 0{,}0004$), avšak korelace s rozdíly kožních teplot nebyla signifikantní ($p > 0{,}05$), obr. 21 a, b, c. FCF (parametr srovnávající akumulaci radiofarmaka v postižené končetině k nepostižené) dobře koreloval s markery kostní remodelace i s rozdíly kožních teplot ($p < 0{,}0002$, $p < 0{,}02$, $p < 0{,}04$), obr. 22 a, b, c. Při zhodnocení analýzou „residual mean square“ se vzájemně jednotlivé kvantitativní parametry signifikantně nelišily v korelacích se standardními ukazately aktivity CNO.

V longitudinální studii prokázalo opakované stanovení parametrů aktivity CNO její pokles (tab. 8). Dále byla zaznamenána signifikantní korelace poklesu kvantitativních scintigrafických parametrů s poklesem markerů kostní remodelace i s poklesem kožních teplot po terapii CNO a přechodu z akutní do chronické fáze CNO (tab. 9).

| Charakteristika | Akutní fáze | Chronická fáze | P |
|---|---|---|---|
| Počet pacientů | 21 | 21 | - |
| ICTP (µg/l) | 9,6 ± 4,2 | 7,6 ± 3,6 | < 0,001 |
| KALP (µg/l) | 15,2 ±7,9 | 10,8 ± 6,7 | < 0,001 |
| Rozdíl kožních teplot (°C) | 3,2 ± 1,2 | 1,1 ± 0,5 | < 0,001 |
| BFV (m/s) | 11,5 ± 3,7 | 8,1 ± 2,5 | < 0,001 |
| FWB | 5,2 ± 2,9 | 2,7 ± 1,1 | < 0,001 |
| FCF | 6,3 ± 4,7 | 2,6 ± 1,1 | < 0,001 |

± SD

**Tab. 8**: *Parametry aktivity CNO měřené v akutní a chronické fázi u pacientů v longitudinální studii*

| | ΔBFV (m/s) | | ΔFWB | | ΔFCF | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $r^2$ | P | $r^2$ | P | $r^2$ | p |
| Δ ICTP (µg/l) | 0,52 | 0,0002 | 0,41 | 0,0018 | 0,33 | 0,0069 |
| Δ KALP (µg/l) | 0,30 | 0,0105 | 0,35 | 0,0044 | 0,19 | 0,0466 |
| Δ Rozdíl kožních teplot (°C) | 0,25 | 0,0214 | 0,26 | 0,0183 | 0,26 | 0,0192 |

**Tab. 9:** *Korelace změn parametrů kvantitativní scintigrafie s markery kostní remodelace (ICTP, KALP), respektive rozdíly kožních teplot u pacientů v longitudinální studii. Δ změna parametru mezi akutní a chronickou fází CNO*

*Diskuze ke studii 3*

Naše studie byla zaměřena na posouzení nových kvantitativních parametrů kostní scintigrafie v hodnocení aktivity CNO. Tyto parametry mohou být využity k diagnostice časných stádií CNO, k posouzení aktivity CNO v průběhu léčby a k diagnostice rekurence. Včasná diagnóza a léčba CNO výrazně snižuje riziko komplikací (8). V současné době existuje více parametrů sloužících ke stanovení aktivity a monitoraci léčby CNO, ale tyto parametry nejsou optimální.

Předchozí studie ukázaly, že kvantitativní ultrazvukové vyšetření hustoty kosti v oblasti paty u CNO může být užitečné v diagnostice akutní CNO a v hodnocení rizika fraktur v oblasti nohy (46, 48, 49). Ačkoliv u této morfologické metody byly nalezeny úzké korelace s dalšími parametry aktivity CNO, není ultrasonometrie v současné době rozšířenou diagnostickou metodou u pacientů s CNO. Důvodem je především nedostatečná popularizace

metody, která je sice vhodná pro diagnostiku akutní CNO, ale není vhodná pro diagnostiku postmenopauzální osteoporózy, kde distribuce prořídnutí kostí je jiná než u periferní neuropatie.

V poslední době se k posouzení aktivity CNO používá stanovení markerů kostní remodelace (ICTP, KALP), a to zejména k monitoraci efektu rekalcifikační léčby (45, 47, 141). Změny biochemických markerů kostní remodelace nejsou specifické pro CNO, mohou odrážet změny kostní remodelace v kterékoliv části skeletu a mohou být ovlivněny jinými faktory než pouze CNO (142).

Měření rozdílu kožních teplot je nejčastěji používanou metodou k posouzení aktivity CNO (34), ale má také řadu nevýhod. Měření absolutní hodnoty v oblasti postižené nohy není doporučováno z důvodu významných změn teploty v závislosti na diurnálním cyklu. Zvýšení kožní teploty není specifické pro CNO, může být ovlivněno podobně jako kostní markery celou řadou jiných patologických procesů - např. patologií měkkých tkání, OM, edémem, infekcí apod. Rozdíl kožních teplot je závislý také na vnějších faktorech (bandáž postižené končetiny, teplota v místnosti). Zcela obtížně je rozdíl kožních teplot mezi končetinami hodnotitelný u pacientů s oboustranným CNO nebo s postižením druhé končetiny flegmónou, ulcerací či u druhé končetiny amputované (143).

Kvantitativní kostní scintigrafie se zdá být vhodnou metodou jak pro diagnostiku, tak pro monitoraci CNO; dobře spojuje morfologické hodnocení s kvantitativním hodnocením kostní remodelace. Dynamická kostní scintigrafie má uspokojivou specificitu i senzitivitu pro CNO a oproti MRI je běžně dostupná (144).

BFV parametr odráží zvýšený krevní průtok postiženou končetinou, což je jeden z patogenetických faktorů podílející se na vzniku CNO. Některé studie porovnávaly krevní průtok u nohou s periferní neuropatií s CNO a bez CNO (144). Bylo zjištěno, že u pacientů s neuropatií a CNO je zvýšena vasomotorická odpověď na zevní stimuly, např. na poranění, a dochází ke zvýšenému prokrvení, zatímco u pacientů s neuropatií bez CNO může být reakce na poranění opačná (22, 33). Jiní autoři naopak prokázali, že není rozdíl v mikrocirkulaci mezi pacienty s CNO a pacienty s diabetickou neuropatií bez CNO (74). Silná korelace BFV s kostními parametry v průřezové i longitudinální studii poukázaly na to, že zvýšení prokrvení končetiny u pacientů s CNO není závislé pouze na autonomní neuropatii, ale že zde mohou být i jiné faktory, které ovlivňují aktivitu CNO. Pro asociaci prokrvení s aktivitou kostní remodelace také svědčí fakt, že regionální krevní průtok kostí je významným faktorem vychytávání radiofarmaka kostí (145, 146).

FWB parametr kostní scintigrafie posuzuje poměr kostního vychytávání značeného bisfosfonátu v oblasti postižené nohy a celého těla. Navíc hodnotí celou postiženou nohu (nikoliv jen část nohy), což je důležité při vícečetném postižení kostí nohy. FCF parametr srovnává oblast maximálního postižení nohy se stejnou oblastí na druhé končetině, což může pomáhat v monitoraci aktivity CNO při jednostranném postižení, kdy aktivita druhé končetiny je stabilní.

McGill prováděla rovněž hodnocení aktivity CNO pomocí kostní scintigrafie a prokázala, že kostní scintigrafie a rozdíly kožních teplot vzájemně korelovaly a obě metody dobře reagovaly na změnu aktivity CNO během 12 měsíců terapie TCC (40). Scintigrafické parametry porovnávající aktivitu v postižené končetině s aktivitou v nepostižené končetině (bilaterální metoda) korelovaly velmi uspokojivě s kožními teplotami, avšak parametry posuzující hodnoty unilaterálně na jedné končetině s kožními teplotami nekorelovaly. Na rozdíl od naší studie, tato studie testovala menší soubor pacientů (8 pacientů) a do analýz byla zahrnuta opakovaná měření u stejného pacienta. Bilaterální parametry mohly být ovlivněny aktivitou CNO druhé končetiny.

Vztah mezi markery kostního obratu a kvantitativními parametry kostní scintigrafie u dialyzovaných pacientů zkoumal Kurata (147). Na rozdíl od naší studie, Kurata použil jako referenční hodnotu poměr vychytávání radiofarmaka v měkké a kostní tkáni (index kost/měkká tkáň), což mohlo ovlivnit výsledky, protože jakákoliv patologie měkkých tkání (např. otok, infekce) změní vychytávání izotopu v měkké tkáni a ovlivní referenční oblast a příslušné indexy. U pacientů s CNO je často přítomen edém nohy, takže použití tohoto indexu porovnávajícího vychytávání radiofarmaka v kosti a měkké tkáni je pro hodnocení aktivity CNO nevhodné. Navíc autoři měřili oblasti skeletu, které u CNO nemusí být vůbec postiženy, jako např. lebku, páteř (48).

V naší longitudinální studii jsme zaznamenali pokles kvantitativních parametrů kostní scintigrafie i markerů kostního obratu v průběhu léčby CNO, což je v souladu s jinými studiemi (45-47, 141). Navíc změny kvantitativních parametrů kostní scintigrafie korelovaly velmi uspokojivě s dalšími parametry aktivity CNO (ICTP, KALP, rozdílem kožních teplot), takže mohou být použity k monitoraci léčby CNO.

Kvantitativní scintigrafie skeletu má i několik limitací. Jednak, dynamická scintigrafie skeletu není specifickou metodou pouze pro CNO; její senzitivitu a specificitu lze však zvýšit kombinací se scintigrafií se značenými leukocyty. Toto vyšetření je relativně časově náročné a vyžaduje přísné dodržení standardních podmínek a zkušeného pracovníka nukleární

medicíny. A konečně dynamickou scintigrafii skeletu nelze v krátkých intervalech opakovat z důvodů radiační zátěže i z důvodů ekonomických.

V naší studii jsme porovnávali nové parametry kostní scintigrafie s makery kostního obratu (ICTP, KALP), respektive s rozdíly kožních teplot v průřezové i v longitudinální studii. Naše nové kvantitativní parametry úzce korelovaly s markery kostní remodelace a s rozdíly kožních teplot u pacientů v různém stádiu CNO. Jejich hlavní výhodou je spojení morfologické a kvantitativní diagnostiky CNO a jejich využití i u pacientů s oboustrannou CNO, kteří tvoří 9-39 % pacientů (15, 16). Kvantitativní kostní scintigrafie se dle našich výsledků zdá být nadějnou metodou pro stanovení CNO aktivity v praxi.

**Studie 4: Diagnostika autonomní neuropatie pomocí spektrální analýzy variability srdeční frekvence u pacientů s Charcotovou neuroosteoarthropatií (příloha 10)**

Neurovaskulární teorie vzniku CNO předpokládá zvýšený krevní průtok postiženou končetinou především na podkladě přítomnosti autonomní neuropatie, která tak hraje zásadní roli v patogenezi CNO. Cílem naší práce bylo ověřit možnost diagnostiky autonomní neuropatie pomocí SA VSF u pacientů s CNO srovnáním se standardně používanými Ewingovými testy.

*Charakteristika souboru*

Do studie byli zařazeni všichni pacienti s CNO, kteří byli léčeni v Diabetologickém centru IKEM v období 1 roku. Vstupními kritérii byla diagnóza akutní CNO a schopnost pacienta absolvovat nejméně dvě vyšetření Ewingovými testy. Zařazeni byli pacienti s diabetes mellitus 1. i 2. typu. Periferní neuropatie byla stanovena pomocí biothesiometru, kdy 15 pacientů mělo VPT > 25 V a 2 pacienti VPT > 15 V. Akutní CNO byla definována jako oteklá, zarudlá noha s rozdílem kožních teplot více než 2 °C ve srovnání s nepostiženou končetinou. Klinická diagnźa CNO byla potvrzena dynamickou scintigrafií skeletu s 740 MBq 99mTc MEDP. Akutní OM byla vyloučena na základě klinického a laboratorního vyšetření.

Celkem bylo do studie zařazeno 17 pacientů (8 mužů a 9 žen), průměrného věku 50 ± 13 let, s průměrnou dobou trvání diabetu 16 ± 7 let, s BMI 25 ± 4 kg/m$^2$ a průměrnou hodnotou $HbA_{1C}$ 8,9 ± 1,8 %. Diabetická nefropatie byla přítomna u všech pacientů - 8 pacientů mělo pozitivní mikroalbuminurii, 4 měli pozitivní proteinurii a 5 pacientů bylo ve stádiu chronické renální insuficience (3 pacienti byli léčeni pravidelnou hemodialýzou). Retinopatie byla

zaznamenána též u všech pacientů, u osmi neproliferativní a u devíti proliferativní retinopatie. U 9 pacientů ze 17 (52,9 %) byla přítomna povrchová ulcerace. Skupina 123 zdravých dobrovolníků (věk 20-70 let) s normálním nálezem dle Ewingových testů byla vyšetřena ke stanovení referenčních hodnot parametrů SA VSF pomocí modelu lineární regrese. Kontrolní skupina zahrnovala 24 zdravých dobrovolníků (12 mužů a 12 žen, s věkem 52 ± 8 let; BMI 26 ± 3 kg/m$^2$) srovnatelných s pacienty s CNO věkem, pohlavím, BMI, ale s normálním vyšetřením pomocí Ewingových testů.

Studie byla schválena etickou komisí IKEM a Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze; všichni pacienti podepsali informovaný souhlas se studií.

*Schéma studie 4 a statistické zhodnocení výsledků*

Všichni pacienti s akutní CNO a zdraví dobrovolníci byli vyšetřeni modifikovanou baterií Ewingových testů dle American Diabetes Association (148). Hodnoceny byly následující kardiovaskulární reflexní testy - variabilita srdeční frekvence během hlubokého dýchání a ortostázy (změny polohy z leže do stoje), Valsalvův manévr a změna krevního tlaku při ortostáze (změně polohy do stoje). Vyšetření byla zhodnocena pomocí počítačového programu (VariaPulse TF3; Sima Media, Olomouc, Česká Republika). Dále všechny skupiny podstoupily SA VSF, jejíž metodika je uvedena v kapitole 3.3.

Statistické zhodnocení bylo provedeno pomocí BMDP PC 90 (Statistical Solutions, Saugus, Massachusetts, USA). Rozdíly mezi skupinou s CNO a kontrolami byly stanoveny standardními testy (Mann-Whitneyho testem and dvouvýběrovým t-testem). Korelační koeficient mezi optimálním parametrem SA VSF cumpower LFHF 1 + 2 + 3 a věkem byl stanoven počítačem a byl hodnocen model lineární regrese těchto parametrů. Dále bylo vypočteno procento správného zařazení (95 % confidence interval [CI]). McNemarův test byl použit k určení shody mezi baterií Ewingových testů a SA VSF. Za statisticky signifikantní byly brány hodnoty $p < 0,05$.

*Výsledky studie 4*

Autonomní neuropatie, která byla potvrzena nejméně dvěma abnormálními výsledky ze tří Ewingových testů, byla zaznamenána u 14 ze 17 (82,3 %) pacientů s CNO. Cumpower LFHF 1 + 2 + 3, který byl stanoven SA VSF, byl pod limitem u 16 ze 17 (94,1 %) pacientů s CNO. Procentuální podíl pacientů s CNO diagnostikovaný pomocí SA VSF byl vyšší (94 %; 95 % CI, 71-100 %) ve srovnání s Ewingovými testy (82 %; 95 % CI, 57-96 %), nebyl ale zjištěn signifikantní rozdíl mezi oběma metodami. Trvání vyšetření včetně poučení pacienta

bylo v případě Ewingových testů 30 minut a v případě SA VSF 15 minut. Ewingovy testy nemohly být provedeny u dvou pacientů z důvodu špatné spolupráce a z důvodu závažné retinopatie. Na druhou stranu, SA VSF byla dobře tolerována všemi pacienty ve studii.

*Diskuze ke studii 4*

Odlišení CNO od jiných patologických stavů v oblasti nohy (např. OM) je značně problematické, přičemž vyšetření autonomní neuropatie může hrát zásadní roli v diagnostice CNO. K tradičním metodám vyšetření autonomní neuropatie patří baterie Ewingových testů (24, 149, 150). Toto vyšetření je časově náročné, vyžaduje dobrou spolupráci pacienta (128) a hodnotí se celé baterie testů závislých na věku (151, 152). Navíc jeden z Ewingových testů, Valsalvův manévr, nemusí být pacienty dobře tolerován a je kontraindikován u pacientů se závažnou diabetickou retinopatií. Oproti tomu SA VSF vyžaduje minimální spolupráci pacienta (148), lépe kvantitativně hodnotí obě složky autonomní nervové soustavy (153) a má lepší reproducibilitu 24-hodinových indexů variabilit srdeční frekvence ve srovnání s Ewingovými testy. Maximální čas pro vyšetření Ewingovými testy je delší než u SA VSF (15 vs. 30 minut). Tyto výsledky jsou plně v souladu se studií Howorky (128).

Hlavním problémem, proč není SA VSF dostatečně rozšířena, je její standardizace. V naší studii jsme vybrali 5. percentil hodnot 123 zdravých dobrovolníků jako referenční limit, na rozdíl od Zieglera et al, který stanovil jako limit 2,5 percentil u kontrol (154); výsledky této studie proto nelze srovnávat s našimi výsledky. Výběr 5. percentilu jsme provedli na základě počtu vyšetřených subjektů tak, aby byl počet pacientů s hodnotami pod příslušným percentilem dostatečný.

Naše studie prokázala, že existuje úzký vztah mezi výskytem CNO a autonomní neuropatií, protože většina pacientů měla autonomní neuropatii jak na podkladě vyšetření pomocí Ewingových testů (82 %), tak podle SA VSF (94 %). Je však nutné standardizovat metodu SA VSF na větších souborech pacientů.

**Studie 5: Reproducibilita spektrální analýzy variability srdeční frekvence v akutním a chronickém stádiu Charcotovy neuroosteoarthropatie a její asociace s aktivitou kostní remodelace (příloha 11)**

Parametry testů hodnotících autonomní neuropatii závisí na variabilitě srdeční frekvence, kterou mohou ovlivnit stresové faktory. Stanovení diagnózy CNO je pro pacienty velmi stresující, v akutní fázi může být větší vegetativní labilita. Cílem této studie bylo posoudit reproducibilitu vyšetření autonomní neuropatie pomocí SA VSF v akutní a chronické fázi CNO a její vztah k jiným parametrům aktivity CNO.

*Charakteristika souboru*

Do studie byli zařazeni všichni pacienti s akutní CNO léčeni v Diabetologickém centru IKEM během 16-ti měsíčního období. Jednalo se o jiný soubor pacientů s CNO než v předchozí studii, pacienti ale museli splňovat stejná vstupní kritéria. Akutní CNO byla potvrzena pozitivní dynamickou scintigrafií skeletu. Zařazeno bylo celkem 34 pacientů (průměrného věku 51,7 ± 11,1 let; 9 pacientů s diabetem 1. typu a 24 s diabetem 2. typu; 19 mužů a 15 žen; s průměrnou délkou trvání diabetu 14,9 ± 7,1 let). Periferní diabetická neuropatie byla přítomna u všech pacientů. Diabetická retinopatie byla přítomna u 82,4 % pacientů a diabetická nefropatie u 70,6 % pacientů.

Studie byla schválena etickou komisí IKEM a Fakultní Thomayerovy nemocnice v Praze; všichni pacienti podepsali informovaný souhlas se studií.

*Schéma studie 5 a statistické zhodnocení výsledků*

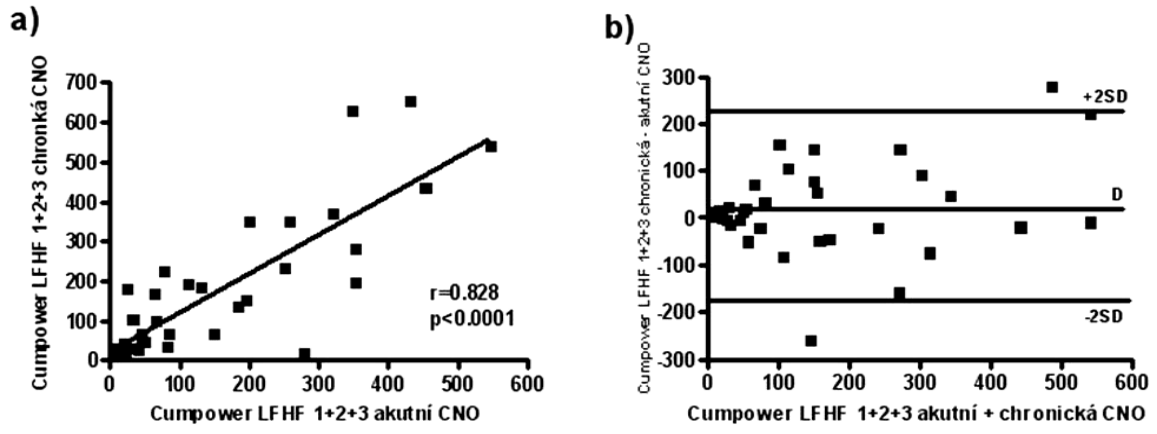
SA VSF a Ewingovy testy byly použity k diagnostice autonomní neuropatie bezprostředně po stanovení diagnózy akutní CNO. Ve stejném období bylo provedeno i zhodnocení dalších parametrů aktivity CNO - kvantitativních parametrů kostní scintigrafie (viz kapitola 3.2), rozdílu kožních teplot a markerů kostní remodelace (ICTP, KALP). Všichni pacienti podstoupili SA VSF, jejíž podrobná metodika je uvedena v kapitole 3.3. Parametr cumpower LFHF 1 + 2 + 3, což je kumulativní parametr nízko- a vysokofrekvenční oblasti všech tří pozic - vleže, vstoji a znovu vleže, byl vybrán k následným analýzám.

Všechna tato vyšetření byla zopakována v chronické fázi CNO, která byla definována nepřítomností klinických známek akutní CNO (edému, erytému) a poklesem scintigrafických i laboratorních parametrů aktivity CNO nejméně jeden rok od zařazení do studie.

Data byla analyzována pomocí Wilcoxonova rank testu a párovým Mann-Whitneyovým testem. Korelační koeficient mezi cumpower LFHF 1 + 2 + 3 a ostatními parametry aktivity CNO byl hodnocen modelem lineární regrese. Bland Altmanova statistika byla použita ke stanovení reproducibility vyšetření parametru cumpower LFHF 1 + 2 + 3 mezi akutním a chronickým stádiem CNO. Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0,05$.

*Výsledky studie 5*

Závažná autonomní neuropatie byla diagnostikována dle Ewingových testů u 31/34 (91,2 %) pacientů a 34/34 (100 %) pacientů dle SA VSF. Nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl mezi vyšetřením SA VSF v akutním a chronickém stádiu (průměrná cumpower LFHF 1 + 2 + 3: 156,8 ± 151,1 vs. 175,5 ± 178,7; NS) a byla zjištěna významná korelace tohoto parametru mezi akutní a chronickou fází ($r = 0,828$, $p < 0,0001$), obr. 23 a. Analýza dle Bland Altmana prokázala dobrou reproducibilitu parametru cumpower LFHF 1 + 2 + 3 mezi akutním a chronickým stádiem CNO, obr. 23 b. Nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v Ewingových testech mezi akutní a chronickou fází CNO. Dále nebyl zjištěn vztah mezi cumpower LFHF 1 + 2 + 3 a dalšími parametry aktivity CNO (ICTP, rozdílem kožních teplot a scintigrafickými parametry).




**Obr. 23:** *Korelace mezi cumpower LFHF 1 + 2 + 3 v akutní a chronické fázi CNO (a); rozdíly změn cumpower LFHF 1 + 2 + 3 mezi akutní a chronickou fází CNO proti průměru použitím Bland Altmanovy statistiky (b). D = průměrný rozdíl cumpower LFHF 1 + 2 + 3 mezi akutní a chronickou fází CNO; SD = standardní odchylka*

*Diskuze ke studii 5*

Naše studie prokázala, že SA VSF může být využita k diagnostice autonomní neuropatie u pacientů s CNO jak v akutní, tak v chronické fázi. Aktivita onemocnění neovlivňuje výsledek tohoto vyšetření.

Kontroverzní výsledky ukazují studie zkoumající přítomnost autonomní neuropatie u pacientů s diabetickou neuropatií a ulcerací nebo s diabetickou neuropatií bez ulcerace (24, 149, 155). Jedním z důvodů těchto rozporuplných výsledků může být nerozpoznání raných stádií CNO. Dalším důvodem může být různé stádium autonomní neuropatie nezávislé na přítomnosti CNO nebo diabetických ulcerací. Stevens zaznamenal pomocí Ewingových testů výskyt stejně závažné autonomní neuropatie jak u pacientů s CNO, tak u pacientů s neuropatickými ulceracemi bez CNO (150). Naopak ve studii Younga et al bylo zjištěno, že autonomní neuropatie u pacientů s CNO byla závažnější než u neuropatických pacientů bez CNO (24). V žádné z uvedených však nebyly provedeny biopsie nervů, což je považováno za zlatý standard v diagnostice autonomní neuropatie (155). V naší studii jsme prokázali přítomnost autonomní neuropatie u všech pacientů s CNO. Potvrdili jsme tak, že autonomní neuropatie hraje v patogenezi CNO zásadní roli (6, 24). Její diagnostika pomocí SA VSF může přispět k potvrzení diagnózy CNO, která je v počátečních stádiích obtížná.

**Studie 6: Atypické lokalizace Charcotovy neuroosteoarthropatie u pacientů s diabetem (příloha 12-14)**

Diagnostika CNO v typické lokalizaci, tj. v oblasti kostí nohy, je obtížná a bývá často zaměněna za jiné diagnózy, např. OM (8) Ještě obtížnější je diagnostika CNO v atypické lokalizaci kolenního kloubu, protože chybí typické klinické příznaky. Cílem práce je prezentovat kazuistiky ojedinělých případů neuropatických fraktur u pacientů s diabetem v atypických lokalizacích CNO v oblasti bérce a kolenního kloubu.

*Metodika studie 6*

V období od 8/2001 do 5/2005 byly v Centru diabetologie IKEM zaznamenány čtyři případy (tří žen a jednoho muže), které splňovaly kritéria diagnózy neuropatických fraktur v jiné lokalizaci než která je typická pro CNO, tedy mimo oblast nohy. Definice atypické fraktury se opírá o přítomnost diabetické neuropatie a o vznik zlomeniny bez zjevného zevního násilí (156). Neuropatie byla diagnostikována měřením vibračního čití biothesiometrem. Dále bylo provedeno neurologické vyšetření a určení stupně neuropatie dle

funkční klasifikace symetrické distální neuropatie. Fraktury byly diagnostikovány pomocí RTG, případně CT nebo MRI. Pacienti byli pravidelně sledováni v podiatrické ambulanci IKEM a jejich léčba probíhala ve spolupráci s ortopedickými a chirurgickými pracovišti.

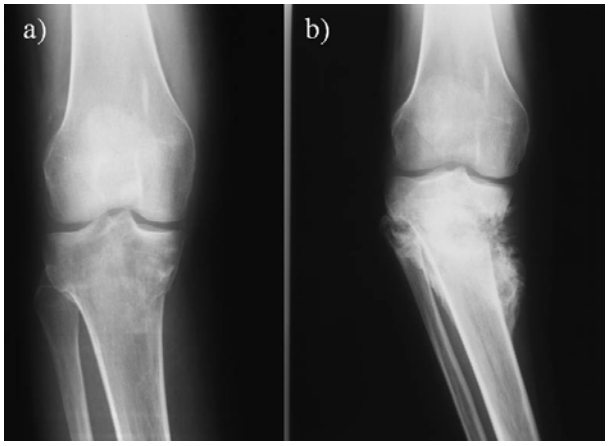
*Jednotlivé kazuistiky*

**První kazuistika** popisuje případ 39-ti leté ženy s diabetes mellitus 1. typu trvajícím 22 let. Pacientka byla dlouhodobě velmi špatně kompenzována a z orgánových komplikací diabetu byla přítomna diabetická proliferativní retinopatie, diabetická nefropatie ve stádiu chronické renální insuficience léčená pravidelnou hemodialýzou. Během pravidelné ambulantní kontroly v diabetologické ambulanci si ošetřující lékař všiml kulhavé chůze pacientky, která udávala výraznou bolestivost pravého kolene trvající asi 14 dní. V anamnéze ale negovala traumatickou příhodu a připustila pouze drobné podvrtnutí nohy asi jeden měsíc před ambulantní kontrolou. Při bližším vyšetření byla zjištěna deformita pravého kolenního kloubu bez známek zánětu. Diabetolog indikoval RTG vyšetření, které odhalilo frakturu laterálního kondylu tibie zasahující do štěrbiny kolenního kloubu PDK (obr. 24). Na základě ortopedického vyšetření byla indikována konzervativní léčba ortézou a výhledově byla navržena totální endoprotéza kolenního kloubu. Dle kontrolního RTG snímku zhotoveného 11 měsíců od zjištění fraktury nebyla fraktura stále úplně zhojena - byla přítomna komprese tibiálního plata a nekalcifikovaný svalek

**Obr. 24:** *RTG nález kompresní fraktury pravé tibie u první kazuistiky*

V sledovaném období pacientka podstoupila úspěšně kombinovanou transplantaci pankreatu a ledviny. Dva roky od zjištění neuropatické fraktury v oblasti pravého kolenního kloubu došlo k progresi CNO v oblasti talokrurálního kloubu LDK a ke vzniku ulcerace v této oblasti, která byla komplikována závažnou infekcí s OM. Vzhledem k ohrožení života při septickém stavu u imunosuprimovaného pacienta byla provedena bércová amputace LDK. Pro ohrožení opěrné pravé končetiny byla nutná trvalá aplikace ortézy v oblasti pravého kolenního kloubu a pacientka byla po většinu času upoutána na invalidní vozík. Po čtyřech letech vznikla fraktura tibie a fibuly v oblasti distální 1/3 bérce PDK během převozu sanitním vozem na lékařskou kontrolu. Vzhledem k předchozí anamnéze doporučen v souladu s ortopedem a traumatologem konzervativní postup.

**Druhá kazuistika** popisuje případ ženy ve věku 33 let s labilním diabetes mellitus 1. typu komplikovaný těžkými hypoglykémiemi, s délkou trvání diabetu 22 let, s diabetickou neproliferativní retinopatií a diabetickou nefropatií ve stádiu chronické renální insuficience. Pacientka byla přijata na lůžkové oddělení v Centru diabetologie IKEM k léčbě SDN pro neuropatický defekt planty LDK. Hojení defektu LDK bylo během hospitalizace komplikováno zimnicí s třesavkou, otokem a zarudnutím kolene a bérce druhé dolní končetiny. V rámci diferenciální diagnostiky postižení druhostranné končetiny byla zvažována infekční gonartritis při generalizaci infekce z defektu LDK a indikována punkce kolenního kloubu, která však infekční etiologii neprokázala. Při RTG vyšetření kolenního kloubu PDK však byla překvapivě zjištěna příčná fraktura tibie v oblasti proximální metafýzy (obr. 25 a). Pacientka negovala bolest při chůzi i traumatickou příhodu v anamnéze. Pravděpodobnou příčinou vzniku patologické fraktury bylo přenesení zátěže na druhostranou končetinu při terapii defektu planty LDK odlehčením snímatelnou fixací a následná aktivace CNO kolenního kloubu PDK. Vzhledem k etiologii fraktury byl zvolen konzervativní postup odlehčení ortézou. Po 12 měsících byla pacientka stále upoutána na vozík, v oblasti fraktury vznikla výrazná deformita s 30 $^{o}$ varositou, která vznikla nedodržováním režimu odlehčení (obr. 25 b). Po stabilizaci a přechodu změn do chronického stádia byla provedena korekční osteotomie.




**Obr. 25:** *Druhá kazuistika – příčná fraktura pravé tibie v době diagnózy (a); vzniklá varozita po 12 měsících (b)*

**Třetí,** 35-ti letá pacientka s diabetem 1.typu, s délkou trvání diabetu 28 let, s diabetickou retinopatií a neuropatií byla vyšetřena pro neuropatickou ulceraci LDK. Při vyšetření byl zjištěn otok levého kolenního kloubu, pro který byla pacientka sledována 4 měsíce ortopedem. RTG vyšetření prokázalo kompresní zlomeninu proximální epifýzy tibie (obr. 26). Po domluvě s ortopedem byla po čtyřech měsících konzervativní léčby provedena totální náhrada levého kolenního kloubu s dobrým efektem.

**Obr: 26:** *Třetí kazuistika - - vstupní RTG*

**Obr. 27:** *Čtvrtá kazuistika - vstupní RTG*

Ve **čtvrtém případě** se jednalo o 57-letého muže s diabetem 1. typu, s délkou trvání diabetu 33 let, s diabetickou retinopatií, ale bez dalších zjištěných komplikací diabetu. Pacient byl vyšetřen pro podezření na CNO v oblasti nohy PDK. Kromě typického klinického obrazu CNO v oblasti nohy byl zjištěn otok a zarudnutí v oblasti pravého kolenní kloubu. RTG vyšetření prokázalo frakturu epifýz tibie i femuru, obr. 27. Vzhledem k rychlé progresi deformity kolenního kloubu při konzervativní léčbě během následujících čtyř měsíců byla indikována traumatologem náhrada kolenního kloubu. Výkon i následná péče proběhla bez komplikací, pacient je schopen normální chůze.

*Diskuze ke studii 6*

Neuropatické fraktury v atypické lokalizaci nejsou často diagnostikovány a existuje jen málo prací zabývajících se touto problematikou (61, 157, 158). Např. Sinha (10) během 21 let sledování 68000 pacientů s diabetem zaznamenal pouze 101 případů CNO v oblasti nohy, ale ani jeden případ v atypické lokalizaci kolenního kloubu. S ohledem na naše výsledky, kdy jsme během necelých čtyř let diagnostikovali neuropatické fraktury na podkladě CNO v oblasti kolenního kloubu u čtyř pacientů, se zdá, že toto onemocnění není v řadě případů správně diagnostikováno.

Jedna z prací týkající se výskytu CNO v oblasti kolenního kloubu (61) popisuje zkušenosti s případem neuropatické fraktury u 27-letého pacienta s diabetem 1. typu, u kterého byl zjištěn čtyři měsíce starý úraz kolene PDK. Pomocí RTG byla zjištěna deprese mediálního tibiálního plata. Případ byl uzavřen jako ruptura menisku - byla provedena arthroskopie s resekcí menisku. Po třech měsících došlo k progresi otoku a RTG známek deprese mediálního tibiálního plata (potvrzeného též pomocí MRI). Kloub byl imobilizován sádrovou fixací, byl podáván pamidronát 60 mg v šesti dávkách. Ani po dalších třech měsících nebyl zjištěn výrazný terapeutický efekt, proto byla provedena totální náhrada kolenního kloubu s příznivým výsledkem. Podobnou zkušenost jsme udělali i u našich čtyř pacientů. U všech případů byla konzervativní léčba málo úspěšná, takže se muselo přistoupit k chirurgickému řešení - u jednoho pacienta byla provedena amputace v bérci, u dvou pacientů náhrada kolenního kloubu s dobrým výsledkem a u jednoho byla nutná korekční osteotomie.

Z našich kazuistik vyplývá, že diagnostika a zvláště pak terapie patologických fraktur na podkladě CNO v oblasti kolenního kloubu je značně problematická. Včasná a správná diagnostika je nutná pro úspěšnou terapii, která je obtížnější a delší než u běžných fraktur.

### *4.2 Problematika ischémie a infekce u syndromu diabetické nohy*

**Studie 7: Rizikové faktory obtížného hojení po nízké amputaci u pacientů se syndromem diabetické nohy se zaměřením na význam měření transkutánního kyslíku (přílohy 15-19)**

Pacienti se SDN mají vysoké riziko amputací (123, 159). Identifikace rizikových faktorů pro amputace pomáhá cíleně dispenzarizovat a edukovat nejrizikovější pacienty (79, 160). Dalším problémem může být hojení po amputaci, zejména nízké v oblasti nohy a kotníku. Určení rizikových faktorů pro obtížné hojení může napomoci zvážení vhodné úrovně amputace i adekvátní poperační péči. Cílem naší studie bylo identifikovat rizikové faktory nehojení po nízkých amputacích a posoudit význam měření $TcpO_2$ před amputačním výkonem u pacientů se SDN.

*Charakteristika souboru*

Do studie byli zařazeni všichni pacienti z Centra diabetologie IKEM, kteří byli indikováni k amputaci nohy pro OM v období 4/2000-7/2003. Celkem bylo studováno 128 pacientů s diabetem, jejichž charakteristiky jsou uvedeny v tab. 10. Nejčastější příčinou amputace byla OM. Z dalších příčin se jednalo o gangrénu, nehojící se ulceraci nebo

| Charakteristika | |
|---|---|
| Počet pacientů | 128 |
| Věk (roky) | 69 ± 12 |
| Pohlaví (muži/ženy) | 89/39 |
| Délka trvání diabetu (roky) | 25,3 ± 7,3 |
| Diabetes 2. typu - počet (%) | 112 (87,5) |
| HbA1c (%) | 8,3 ± 1,5 |
| VPT (V) | 27,9 ± 15,9 |
| Retinopatie - počet (%) | 55 (43) |
| Renální insuficience - počet (%) | 41 (32) |

± SD

**Tab. 10:** *Vstupní charakteristiky pacientů ve studii posuzující rizikové faktory po nízké amputaci u pacientů s diabetem*

deformitu neléčitelnou konzervativně. OM byla diagnostikována pomocí RTG. Ze studie byli vyřazeni pacienti, u kterých nebyla jistota dlouhodobého sledování po amputačním výkonu, nebo pacienti, u kterých byl amputační výkon proveden na jiném chirurgickém pracovišti.

*Schéma studie 7 a statistické zhodnocení výsledků*

Potencionální rizikové faktory nehojení byly vybrány na základě publikovaných rizikových faktorů pro ulcerace a amputace (123, 159, 161): typ diabetu, délka trvání diabetu, kompenzace diabetu hodnocená $HbA_{1C}$ a přítomnost ischemické choroby srdeční (ICHS), přítomnost diabetické polyneuropatie měřená biothesiometrem, ICHDK hodnocená měřením $TcpO_2$ v oblasti postižené nohy a laboratorní zánětlivé parametry - CRP a leukocytóza. Měření $TcpO_2$ proběhlo u všech pacientů těsně před amputačním výkonem dle metodiky popsané v kapitole 3.4. V případě zjištění ICHDK dle $TcpO_2$ byla indikována angiografie, případně provedena PTA nebo bypass. Amputační výkon byl vždy naplánován až po kompletním cévním vyšetření nebo intervenci. Pacienti po amputačním výkonu byli léčeni standardním způsobem.

Pro analýzu potencionálních rizikových faktorů obtížného hojení po nízké amputaci jsme zvolili následující kritéria: za úspěšné hojení bylo považováno zhojení rány nejvýše v úrovni metatarzů (včetně zhojení po reamputaci); jako neuspěšné hojení bylo hodnoceno zhojení rány nad úrovní metatarzů nebo nezhojení rány během 6 měsíců od začátku sledování. Význam měření $TcpO_2$ před amputačním výkonem byl posouzen jednak z hlediska rozdílů mezi úspěšným a neúspěšným hojením po amputaci, jednak z hlediska interakce s jinými rizikovými faktory v postupné regresní analýze.

Data byla analyzována nepárovým dvouvýběrovým t testem. Postupná regresní analýza byla použita k identifikaci nezávislých rizikových faktorů pro obtížné hojení. Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0,05$.

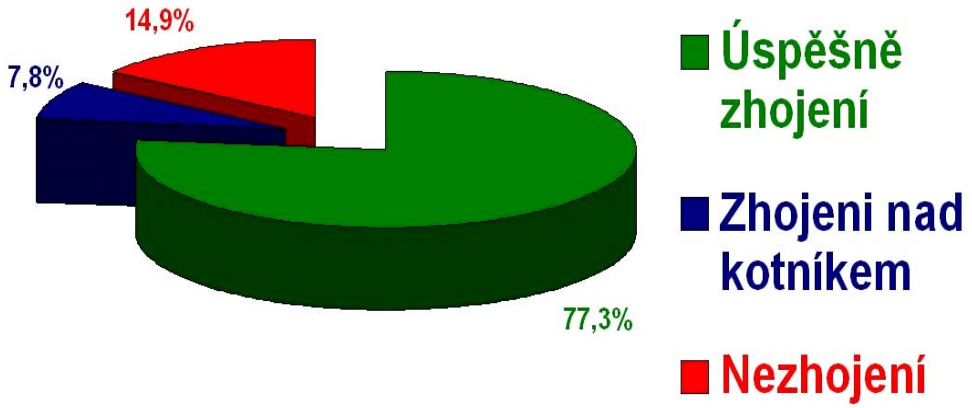
*Výsledky studie 7*

Neúspěšné hojení jsme pozorovali u 29/128 (22,7 %) pacientů - 10 (7,8 %) z nich bylo zhojeno nad úrovní kotníku a 19 (14,9 %) pacientů zůstalo nezhojeno ve sledovaném období, obr. 28. Průměrná doba hojení u všech úspěšně zhojených pacientů (99/128 - 77,3 %) byla 11,49 ± 3,62 týdnů. Reamputace byla provedena u 40/128 (31,3 %) pacientů, z toho 12 (9,4 %) pacientů podstoupilo vysokou reamputaci a 28 (21,9 %) nízkou reamputaci.

Postupná regresní analýza ukázala, že nízká hodnota $TcpO_2$ před amputací (Odds ratio [OR] = 0,653; 95 % CI 0,50-0,853) a elevace CRP (OR = 1,07; 95 % CI 1,02-1,13) jsou

signifikantní rizikové faktory neúspěšného hojení rány po amputačním výkonu u pacientů se SDN. Ostatní hodnocené parametry v této analýze nebyly signifikantní.

$TcpO_2$ před amputačním výkonem bylo signifikantně vyšší u pacientů ve skupině úspěšně zhojených ve srovnání se skupinou neúspěšně zhojených (43,65 ± 8,71 vs. 13,83 ± 6,32 mmHg; $p < 0,001$); CRP bylo signifikantně nižší u pacientů úspěšně zhojených ve srovnání se skupinou neúspěšně zhojených (24,76 ± 15,32 vs. 65,03 ± 20,80 mg/l; $p < 0,001$); rozdíly v ostatních parametrech nebyly signifikantní (tab. 11).




**Obr. 28:** *Výsledky hojení rány po nízké amputaci u pacientů se SDN*

| Veličina | Skupiny | | |
|---|---|---|---|
| | Neúspěšné hojení (n = 29) | Úspěšné hojení (n = 99) | p |
| $TcpO_2$ (mmHg) | 13,83 ± 8,4 | 43,64 ± 10,9 | 0,001 |
| CRP (mg/l) | 65,03 ± 26,4 | 24,75 ± 22,9 | 0,001 |
| Počet leukocytů ($10^9$) | 10,36 ± 2,8 | 9,39 ± 3,4 | NS |
| $HbA_{1C}$ (%) | 8,1 ± 1,1 | 8,0 ± 1,4 | NS |
| Diabetes 2. typu (počet/%) | 26/89,7 | 86/86,9 | NS |
| Délka trvání diabetu (roky) | 26,0 ± 10,7 | 25,2 ± 10,0 | NS |
| ICHS (počet/%) | 13/44,8 | 42/42,4 | NS |
| CMP (počet/%) | 5/17,2 | 17/17,2 | NS |
| Diabetická neuropatie (počet/%) | 25/86,2 | 84/84,8 | NS |

± SD

**Tab. 11:** *Porovnání rizikových faktorů mezi skupinami s neúspěšným a úspěšným hojením rány po nízké amputaci*

*Diskuze ke studii 7*

Studie potvrdila, že nejvýznamnějšími faktory ovlivňujícími výsledek hojení po nízké amputaci u pacientů s diabetem jsou ICHDK hodnocená podle $TcpO_2$ a infekce hodnocená podle hodnoty CRP před amputací.

V minulosti byla publikována celá řada studií zkoumající rizikové faktory pro vznik diabetických ulcerací nebo amputací, ale jen velmi málo studií se zabývalo rizikovými faktory nehojení po amputačních výkonech. Prompers (80) prokázala, že kombinace ICHDK a infekce byla nejdůležitějším nezávislým rizikovým faktorem nehojení diabetických ulcerací. U pacientů bez ICHDK byly výsledky hojení stejné jak pro skupinu s infekcí, tak i bez prokázané infekce v rámci SDN, z čehož vyplývá, že zásadním faktorem ovlivňujícím výsledek hojení je přítomnost ICHDK.

V našem souboru bylo úspěšně zhojeno (pod úrovní kotníku) 77,3 % pacientů ve sledovaném období šesti měsíců od amputace. V literatuře se pohybuje úspěšnost hojení 34-80 % (162-164), autoři však ve většině případů hodnotili pouze výsledky po primární amputaci, kdežto v naší studii jsou zahrnuti i pacienti po nízké reamputaci, ale se zhojením pahýlu během šesti měsíců od primárního výkonu. V našem souboru bylo provedeno 31,3 % reamputací, což také odpovídá údajům z jiných studií, kde se frekvence reamputací pohybuje v rzmezí 30-60 % případů (162, 165).

V naší studii jsme vycházeli ze známých rizikových faktorů pro vznik ulcerace a příčin amputace a posuzovali jejich efekt na hojení ran po amputačních výkonech u pacientů se SDN. Prokázali jsme, že nízké hodnoty $TcpO_2$ a vysoké hodnoty CRP jsou negativními prediktivními faktory hojení po nízké amputaci u SDN. Armstrong (166) prokázal, že pacienti s infekcí a ischémií museli 90x častěji podstoupit vyšší amputaci než pacienti bez těchto rizikových faktorů. Také další retrospektivní studie prokázaly, že revaskularizace dolní končetiny před transmetatarzální amputací výrazně zlepšuje výsledky hojení (167) a naopak neúspěšná revaskularizace tyto výsledky zhoršuje (163).

Většina předchozích studií používala k hodnocení ischémie měření Dopplerem. Velkou výhodou měření $TcpO_2$ je, že se jedná o neinvazivní vyšetření, kdy výsledek měření není ovlivněn mediokalcinózou (jako např. u vyšetření Dopplerem), která je častá u pacientů s diabetem. V této studii jsme se proto zaměřili na použití měření $TcpO_2$ v diagnostice ICHDK před amputačním výkonem. Prokázali jsme, že ve skupině úspěšně zhojených byly signifikantně vyšší hodnoty $TcpO_2$ ve srovnání se skupinou neúspěšně zhojených. Ve skupině pacientů s úspěšným hojením byla průměrná hodnota $TcpO_2$ 43,65 mmHg, přičemž hodnota $TcpO_2$ nad 30 mmHg je považována za silný prediktor úspěšného hojení diabetických ulcerací

v oblasti nohou (87). Předchozí práce Faglii (168) prokázala, že u pacientů se SDN a ICHDK je pro úspěšné hojení po amputaci nutná minimální hodnota $TcpO_2$ 34 mmHg. Při $TcpO_2 > 40$ mmHg je pak neúspěšné hojení ovlivněno spíše jinými faktory než ICHDK, např. rozsahem výkonu a přidruženými onemocněními. Již dříve několik studií prokázalo význam měření $TcpO_2$ pro určení optimální úrovně amputace pro pacienty se SDN (88-90). Wutschert (90) např. prokázal, že hodnota $TcpO_2$ by měla být v místě amputace alespoň 20 mmHg, protože tato hodnota predikuje úspěšné hojení s 80 % přesností.

Měření $TcpO_2$ lze využít také k monitoraci efektu léčby po provedené cévní intervenci (169). U našich pacientů bylo $TcpO_2$ měřeno opakovaně v případě neuspokojivého hojení nebo při předchozí cévní intervenci tak, aby mohla být zavčas indikována nová cévní intervence.

Významným nezávislým rizikovým faktorem obtížného hojení po nízké amputaci byla také infekce hodnocená podle CRP, naopak počet leukocytů nebyl identifikován jako rizikový faktor. V literatuře dosud existují rozpory o významu stanovení CRP a počtu leukocytů u pacientů se SDN. Jirkovská (98) nalezla signifikantně zvýšené hodnoty CRP a leukocytů u pacientů se SDN ve srovnání se zdravými kontrolami, ale zvýšení CRP nad normu bylo zaznamenáno pouze u 31 % pacientů a zvýšení počtu leukocytů u 17 % pacientů se SDN. Lipsky (170) posuzoval vliv různých parametrů na výsledek hojení infikovaných ulcerací u SDN a prokázal v postupné regresní analýze, že pouze leukocytóza a ulcerace hodnocená jako závažná dle Texaské klasifikace (166) jsou nezavislými rizikovými faktory obtížného hojení. Zvýšená hodnota CRP byla signifikantní pro obtížné hojení pouze v univarientní analýze.

Délka trvání diabetu, přítomnost periferní neuropatie a vysoké hodnoty $HbA_{1C}$ se v naší studii neprokázali jako nezávislé rizikové faktory obtížného hojení po nízké amputaci, přestože jsou tyto parametry prokázanými rizikovými faktory pro amputace v jiných studiích (159, 161).

### *4.3 Nové metody léčby syndromu diabetické nohy*

**Studie 8: Biologický debridement u syndromu diabetické nohy (přílohy 20-23)**

Obtížné hojení ran u diabetiků potencují chronická infekce, ischémie, opakovaná traumata při zatěžování končetiny a zejména nekrotická tkáň v ráně. Hojení chronické rány je možné aktivovat „převedením“ na ránu akutní pomocí lokálního čištění – debridementu. Cílem této práce bylo posoudit klinický a antimikrobiální efekt larvální terapie u SDN.

*Charakteristika souboru*

V období od 6/2005 do 2/2008 jsme v Centru diabetologie IKEM léčili pomocí larvální terapie 62 pacientů se SDN (55 mužů a jen 7 žen). Ambulantně bylo léčeno 7 pacientů, ostatní byli léčeni za hospitalizace. Téměř polovina pacientů (30 osob) měla současně závažnější formu ICHDK. Podrobné charakteristiky souboru jsou uvedeny v tab. 12. K larvální léčbě byli indikováni pacienti se SDN, kteří měli ulceraci nohy s nekrotickou spodinou vhodnou k biologickému debridementu nebo pacienti s infikovanou ránou po chirurgických výkonech (např. amputaci, plantární aponeurektomii). Vyřazeni byli všichni pacienti s vysokým rizikem krvácení z rány. Postup při larvální léčbě je uveden podrobně v kapitole 3.6. Všichni pacienti před zahájením léčby podepsali informovaný souhlas.

*Schéma studie 8 a statistické zhodnocení nalezených výsledků*

K larvální terapii byly použity sterilní larvy Bzučivky zelené (Lucilia Sericata), které byly aplikovány v jedné dávce. U tří pacientů byla aplikace s odstupem opakována. Všichni pacienti měli současně komplexní léčbu SDN.

Efekt terapie byl posuzován lékařem podle vzhledu rány po ukončení larvální terapie. K hodnocení byla použita pouze třístupňová škála: zlepšeno - kompletní vyčištění rány od nekróz; beze změny - pouze částečné odstranění nekróz; zhoršeno - došlo k lokální progresi nálezu bezprostředně po aplikaci larev (např. k aktivaci infekce, k progresi nekróz) nebo amputace nad kotníkem během následujících 3 měsíců.

| Charakteristika | |
|---|---|
| Počet pacientů | 62 |
| Věk (roky) | 57,3 ± 11,6 |
| Pohlaví (muži/ženy) | 55/7 |
| Délka trvání diabetu (roky) | 15,4 ± 9,2 |
| Diabetes 2. typu - počet (%) | 51 (82,7) |
| $HbA_{1C}$ (%) | 7,9 ± 1,6 |
| ICHDK (závažná forma - %) | 53,2 |

± SD

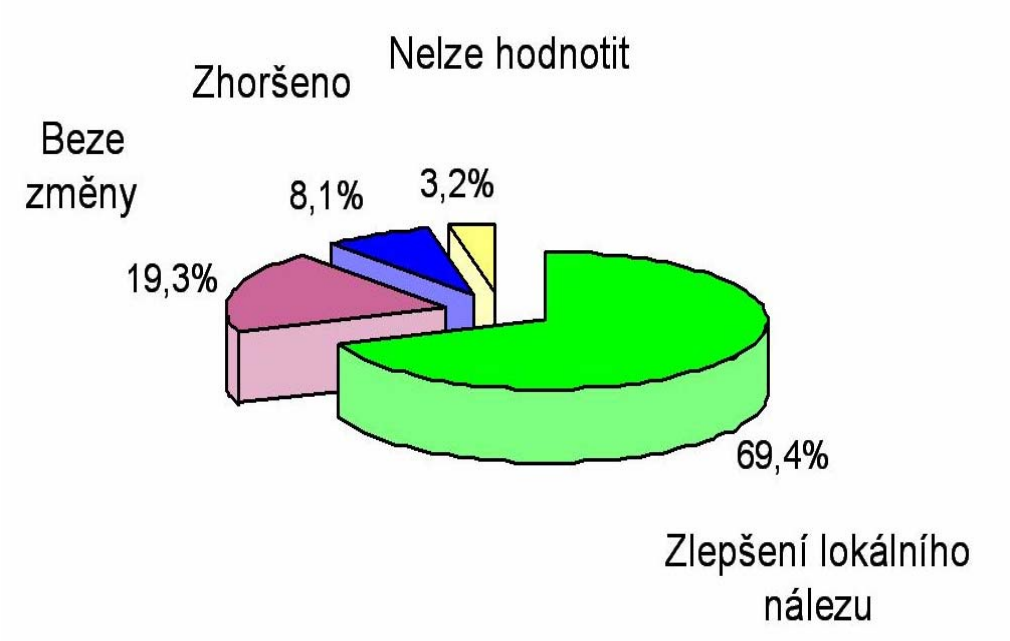
**Tab. 12:** *Vstupní charakteristiky pacientů ve studii posuzující efekt larvální léčby u SDN*

Stěry nebo vzorky tkáně na kultivaci byly odebírány ze spodiny rány po řádném debridementu. Hodnoceny byly kultivační nálezy před a těsně po aplikaci larvální terapie a s odstupem 10 (± 3) dnů. MRSA byl identifikován na podkladě pozitivity mec genu.

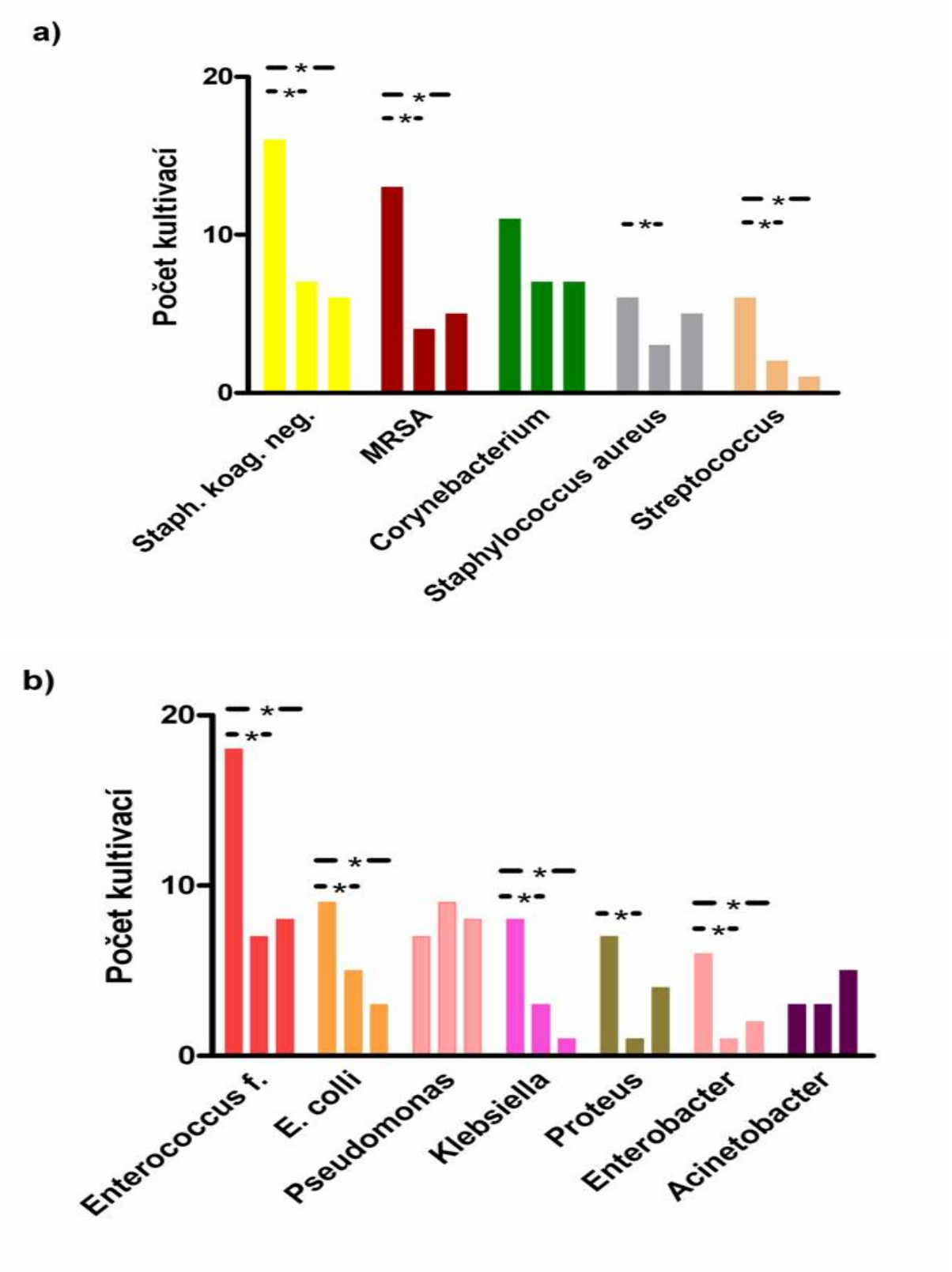
Ke statistickému zhodnocení efektu larvální terapie na mikrobiální infekci byly použity kontingenční tabulky a $\chi^2$ test. Statistické vyznamnosti pak byly stanoveny McNemarovým testem. Statisticky signifikantní byly hodnoty $p < 0,05$.

*Výsledky studie 8*

Larvální léčba byla aplikována po průměrnou dobu 3,25 (3-5) dne, v množství 5-10 larev na $cm^2$. Klinické zlepšení rány bylo pozorováno u 69,4 % pacientů, beze změny zůstalo 19,3 % pacientů a zhoršení jsme zaznamenali u 8,1 % pacientů; výsledek byl nehodnotitelný u 3,2 % pacientů z důvodu úmrtí larev (obr. 29). Příčinou úmrtí larev byla nedostatečná spolupráce pacientů s odlehčením končetiny a s péčí o ránu. Těsně po ukončení larvální léčby byl zjištěn signifikantní pokles výskytu infekce MRSA z 16/62 (25,8 %) na 5/62 (8,1 %) pacientů, $p < 0,01$. Efekt léčby přetrvával i po 10 (± 3) dnech po ukončení larvální léčby, infekce MRSA byla zaznamenána u 6/62 (9,7 %) pacientů, $p < 0,01$.




**Obr. 29:** *Výsledek larvální terapie u pacientů se SDN*




**Obr. 30:** *Kultivační nálezy před (první sloupec každé barvy), těsně po (druhý sloupec každé barvy) a s odstupem 10 ± 3 dny po larvální léčbě (třetí sloupec každé barvy) G+ bakterií (a); G- bakterií (b)*

Obdobné výsledky byly zjištěny pro Enterococcus sp. a pro Staphylococcus koaguláza negativní. Larvální léčba neměla efekt na eradikaci infekce Pseudomonas sp. Přehled výsledků G+ i G- bakterií je uveden na obr. 30. Během larvální terapie nebyly pozorovány žádné závažnější nežádoucí účinky.

*Diskuze ke studii 8*

Naše studie prokázala, že larvální terapie je efektivní a bezpečnou metodou, která může přispět ke zlepšení komplexní léčby ulcerací u pacientů se SDN. Dosud bylo publikováno jen málo studií hodnotících larvální terapii ran na větších souborech. Např. Armstrong (119) na souboru 60 pacientů s neuroischemickou ulcerací při SDN zjistil, že larvální terapie vedla k signifikantnímu zkrácení hojení diabetické nohy (18 vs. 22 týdnů), ke třikrát menší potřebě amputací a ke kratší době ATB terapie (86 vs. 126 dní v kontrolní skupině). Wolff (171) ověřil účinnost larvální terapie u 74 pacientů s nekrotickými ulceracemi nejrůznější etiologie - SDN, bércové vředy, dekubity, nádorové ulcerace, poškození kůže radioterapií a v ojedinělých případech i vaskulitidy apod. 86 % ulcerací bylo larvami účinně vyčištěno, jedna aplikace larev dostačovala u dvou třetin pacientů. Selhání terapie bylo nejčastěji způsobeno předčasným úmrtím larev. Léčba ran u diabetiků byla účinnější než u jiných skupin nemocných, nebyly pozorovány žádné závažné nežádoucí účinky. U 58 % pacientů ze 31 postižených došlo k redukci zápachu z rány, u 25 % se snížila bolestivost, zatímco 41 % pacientů nepociťovalo změnu v bolestivosti a 34 % pacientů sice udávalo její zvýšení, ale v terapii chtěli pokračovat.

V naší studii jsme zaznamenali, že larvální terapie efektivně eliminuje G+ i G- infekci včetně MRSA. Neefektivní je naopak u Pseudomonas sp. Nové přístupy k léčbě infekce jsou podnětné zejména z hlediska rozvíjející se rezistence mikroorganismů na ATB. Nejvíce zkoumanými mikroorganismy v souvislosti s larvální terapií jsou Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa a rezistentní Staphylococcus aureus (MRSA). Larvy mohou eliminovat bakterie z rány ingescí a následnou degradací v trávicím traktu; jinou možností je sekrece inhibičních antimikrobiálních proteinů. O účinné degradaci mikroorganismů rozhoduje také množství larev v ráně; zdá se, že větší hustota larev je nutná pro degradaci G- než pro G+ mikroorganismy (172).

V literatuře jsou popsány největší úspěchy při eradikaci MRSA z ran. Např. Thomas (173) referoval o kazuistikách pacientů s úspěšné léčenými ulceracemi infikovanými MRSA. Efekt larvální terapie byl dobrý i u ulcerací lokalizovaných v patní oblasti, která je

považována za obtížně hojitelnou oblast nohy. Důvodem, proč není léčba larvami při eradikaci MRSA v některých případech úspěšná, může být podle Thomase malý počet larev v ráně, jejich malá životaschopnost nebo nedostatečný počet aplikací larvální terapie. In vitro byla prokázána antibakteriální aktivita sekretů larev Lucilia sericata vůči MRSA, která byla spíše bakteriostatická než baktericidní (173). Bowling (174) prokázal u pacientů se SDN a kolonizací MRSA eliminaci MRSA u 12 ze 13 pacientů (92 %); tito pacienti nebyli léčeni specifickými ATB (vancomycinem nebo linezolidem). K eliminaci MRSA byly v průměru potřebné 3 aplikace larev během 19 dnů. Nebyly pozorovány závažnější vedlejší účinky. MRSA vykultivované z ran v této studii ale nebyli multirezistentní, pouze rezistentní na methicilin.

V naší studii jsme potvrdili neúčinnost larvální terapie na eradiaci infekce Pseudomonas sp. Andersen (175) již dříve prokázal v in vitro studii, že larvy Lucilia sericata mají sníženou dobu přežití za přítomnosti Pseudomonas aeruginosa typu PAO1 WT, ale Staphylococcus aureus a Pseudomonas aeruginosa typu PAO1 RR (deficientní mutant) délku přežívání larev neovlivňují. Pravděpodobným důvodem je rozdíl v biofirmu produkovaném Staphylococcus aureus a Pseudomonas sp. (176).

**Studie 9: Využití řízeného lokálního podtlaku v léčbě syndromu diabetické nohy (přílohy 24 a 25)**

Léčba rozsáhlých ran v oblasti nohy zejména po chirurgických výkonech u pacientů se SDN je často velmi zdlouhavá a výrazně tak snižuje kvalitu života. Cílem práce bylo posoudit efekt léčby řízeným lokálním podtlakem (Vacuum Assisted Closure - V.A.C.) a výskyt jejich komplikací u pacientů se SDN.

*Charakteristika souboru*

V Centru Diabetologie IKEM jsme v období 5/2003-12/2006 léčili pomocí V.A.C. 26 pacientů se SDN. Zařazení pacienti byli průměrného věku 59,7 ± 9,5 let, převážně s diabetus melltus 2. typu (73,1 %), s průměrnou délkou trvání diabetu 13,3 ± 6,3 let. U všech pacientů byla biothesiometrem prokázána těžká periferní neuropatie a u 12 (46,2 %) z nich byla diagnostikována ICHDK. Hlavní indikací k zahájení léčby podtlakem byly zejména rozsáhlé rány po chirurgických výkonech v oblasti nohy - otevřené amputace a plantární aponeurektomie, kdy předpokládaná doba hojení se pohybuje v řádech měsíců s vysokým rizikem reinfekce. Kontraindikací léčby V.A.C. byla přítomnost většího množství nekrotické

tkáně, suché gangrény, obnažené cévy nebo neléčená OM. Metoda léčby V.A.C. je podrobně popsána v kapitole 3.7.

*Schéma studie 9*

Aplikace podtlaku byla vždy zahájena kontinuálním režimem po dobu 2-3 dnů s mírou podtlaku 125-175 mmHg, dále bylo pokračováno s intermitentním režimem s mírou podtlaku 100-150 mmHg s frekvencí převazů každých 5-7 dnů. Kromě léčby řízeným podtlakem byli pacienti léčeni standardními postupy - odlehčením postižené končetiny, v případě přítomnosti infekce v ráně byli léčeni ATB. U pacientů s ICHDK byla indikována angiografie, případně cévní intervence. Hodnotili jsme tyto parametry: délku terapie V.A.C., velikost rány před léčbou a v době ukončení léčby (změnu velikosti rány během V.A.C. terapie), známky hojení rány (vyčištění rány, nárůst granulací) a dobu do úplného zhojení rány. U několika pacientů jsme V.A.C. terapii kombinovali s dalšími moderními přístupy v léčbě SDN, např. s larvální terapií nebo aplikací xenotransplantátu.

*Výsledky studie 9*

Průměrná doba aplikace V.A.C. byla 12,3 dne (od 7 do 23 dnů). Během této doby došlo k průměrnému zmenšení plochy rány o 19,7 % (z průměrné velikosti 20,5 ± 4,1 $cm^2$ na 16,5±3,6 $cm^2$). Pozorovali jsme výrazné vyčištění rány a nárůst granulací. Průměrná doba do úplného zhojení rány byla 88,3 ± 36,7 dní. U tří pacientů nedošlo ke zhojení, 1 zemřel po 4 měsících na komplikace diabetu, které nesouvisely s léčbou SDN. 2 pacienti podstoupili amputační výkon pro progresi infekce při ICHDK, avšak s odstupem několika týdnů od aplikace V.A.C. Nežádoucí účinky léčby se vyskytly jen u 4/26 (15,4 %) pacientů. Ve třech případech se jednalo o bolest v místě aplikace podtlaku, která byla řešena analgetiky a snížením míry podtlaku. V jednom případě se pak jednalo o aktivaci infekce v ráně při nedostatečné parenterální ATB terapii, kdy však po změně ATB došlo ke zlepšení a mohlo se s V.A.C. terapií pokračovat.

*Diskuze ke studii 9*

Naše zkušenosti ukazují, že terapie pomocí V.A.C. může být přínosnou metodou léčby SDN. Zaznamenali jsme průměrné zmenšení plochy rány o téměř 20 %, vyčištění rány a nárůst granulací během necelých dvou týdnů léčby V.A.C. V kombinaci s dalšími terapeutickými metodami dokáže V.A.C. významně urychlit hojení rány a snížit riziko reinfekce, případně amputace.

V literatuře lze v současnosti najít až 300 prací zabývajících se problematikou léčby řízeným podtlakem, ale v drtivé většině se jedná pouze o kazuistická sdělení nebo o sérii několika případů. Dosud byly publikovány pouze čtyři randomizované studie hodnotící efekt řízeného podtlaku na hojení ulcerací u pacientů se SDN, z toho tři byly provedeny pouze na malém počtu pacientů (177-179), a pouze v jednom případě se jednalo o multicentrickou, randomizovanou a kontrolovanou studii na větším počtu pacientů (124). Např. McCallon (179) a Eginton (177) ve studii s deseti pacienty se SDN prokázali rychlejší hojení ve skupině léčené řízeným podtlakem ve srovnání se skupinou léčenou gázovým krytím. Rychlejší nárůst granulační tkáně ve skupině léčené řízeným podtlakem ve srovnání s kontrolami byl zaznamenán také ve studii od Etöze (178), která zahrnovala 24 pacientů se SDN. Armstrong (124) v randomizované studii s V.A.C. u 162 pacientů se SDN nohy prokázal signifikantně více zhojených pacientů ve skupině léčené pomocí V.A.C. ve srovnání se standardní léčbou 56 % vs. 39 %. Dále prokázali signifikantní zkrácení doby léčby a větší nárůst granulační tkáně ve V.A.C. skupině, přičemž komplikace a nežádoucí účinky léčby (nejčastěji infekce) byly srovnatelné u obou skupin. Kromě Armstrongovy práce jsou k dispozici výsledky dalších studií, které prokázaly na větším souboru pacientů výrazné zkrácení doby hojení pomocí řízeného podtlaku, ale u jiného typu ran - dekubitů. Např. Philbeck et al (125) prokázali zkrácení doby hojení ran na souboru 1170 pacientů, kdy V.A.C. terapie vedla ke zkrácení doby hojení z 247 na 97 dnů. Zkrácení doby hojení mělo i ekonomický efekt; náklady na léčbu pacientů klesly při použití metody řízeného podtlaku o 38 %.

Limitací naší studie byla chybějící kontrolní skupina (případně randomizace do dvou skupin) a krátká doba léčby V.A.C. Přesto tato studie potvrdila dobré literární zkušenosti s V.A.C., upřesnila indikace a pomohla rozšířit tuto metodu v České republice.

# 5 Závěry dizertační práce

Závěrem můžeme shrnout výsledky jednotlivých studií v rámci dizertační práce následovně:

***Kostní metabolismus a Charcotova neuroosteoarthropatie:***

1. Léčba nazálním kalcitoninem v randomizované kontrolované studii signifikantně snížila aktivitu CNO v akutní fázi, zejména markery kostního obratu. Stejně účinná byla i u pacientů s CNO v renální insuficienci. Naše nálezy prokázaly, že nazální kalcitonin má příznivý efekt na kostní remodelaci a může být proto součástí komplexní léčby pacientů v akutní fázi CNO. Jedná se o první randomizovanou studii s nazálním kalcitoninem u pacientů s CNO. Oproti doposud publikované léčbě akutní CNO bisfosfonáty má kalcitonin pravděpodobně příznivější efekt na kostní remodelaci a lze jej použít i u pacientů v renální insuficienci, kteří tvořili téměř jednu třetinu pacientů s CNO v naší studii.
2. Dlouhodobé podávání nazálního kalcitoninu signifikantně zkracovalo nezbytnou dobu odlehčení a imobilizace pacientů v akutní fázi CNO a snižovalo kostní resorpci (parametr ICTP) při dalším sledování těchto pacientů. Při léčbě nazálním kalcitoninem byla pozorována tendence ke sníženému výskytu rekurence CNO během patnáctiměsíčního sledování po ukončení akutní fáze. Dlouhodobý efekt antiresorpční léčby na rekurenci a kostní metabolismus CNO dosud nebyl v jiných studiích sledován.
3. Byly zavedeny nové kvantitativní parametry dynamické kostní scintigrafie a ověřena jejich validita jak v diagnostice akutní CNO, tak při dlouhodobé monitoraci aktivity CNO. Výhodou těchto parametrů je ve srovnání s dosud používanými metodami sledování aktivity CNO (např. měřením kožní teploty, stanovením markerů kostního obratu) jejich morfologická lokalizace v postižené oblasti skeletu a tudíž i větší specificita pro CNO - nejsou ovlivněny osteolýzou jiných částí skeletu nebo jinými patologickými procesy. Na rozdíl od dosud publikované práce zabývající se kvantitativní scintigrafií u CNO jsme definovali kvantitativní scintigrafické parametry nezávislé na druhé končetině, která může být u CNO také postižena. Další předností naší práce bylo srovnání kvantitativních scintigrafických parametrů s aktivitou CNO posuzovanou parametry kostního obratu a ne pouze kožní teplotou. Přesné stanovení aktivity CNO může zlepšit objektivitu sledování efektu léčebných opatření a má proto přímý klinický dopad.
4. Byla zavedena nová metoda SA VSF do diagnostiky autonomní neuropatie u pacientů s CNO. Nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi parametry SA VSF a standardně používanými Ewingovými testy. SA VSF na rozdíl od Ewingových testů vyžaduje menší

spolupráci pacienta a kratší dobu vyšetření, proto by měla být preferována. Byla zjištěna dobrá reproducibilita parametru SA VSF (cumpower LFHF 1 + 2 + 3) v akutní a v chronické fázi CNO, tento parametr nebyl ovlivněn aktivitou CNO (hodnocenou markery kostní remodelace a kožní teplotou).

5. Byly prezentovány kazuistiky pacientů s atypickou lokalizací CNO v oblasti kolenního kloubu. Tato lokalizace CNO je v literatuře popsána velmi sporadicky. Naše čtyři kazuistiky demonstrovaly nepřítomnost klinických příznaků u neuropatických fraktur proximální tibie. Jejich diagnóza byla proto pozdní, a došlo k závažným komplikacím - u jednoho pacienta byla nutná vysoká amputace, u dvou náhrada kolenního kloubu a u jednoho korekční osteotomie. Edukace lékařů zaměřená na CNO, zvláště její atypickou lokalizaci, má klinický význam pro včasnou diagnostiku a adekvátní léčbu CNO (nutná imobilizace končetiny, rekalcifikace apod.).

***Problematika ischémie a infekce u syndromu diabetické nohy:***

1. Nezávislými rizikovými faktory obtížného hojení po nízké amputaci u pacientů se SDN byly $TcpO_2$ a CRP měřené před amputačním výkonem. Ostatní zkoumané faktory rizikové pro amputace (např. délka trvání diabetu, přítomnost jiných komplikací diabetu) signifikantní vliv na hojení neměly. Podle rizikových faktorů pro hojení můžeme modifikovat nejen výši amputace, ale i intenzitu pooperační péče.
2. Pacienti s úspěšným hojením rány po nízké amputaci měli signifikantně vyšší hodnoty $TcpO_2$ před amputací ve srovnání s neúspěšně zhojenými pacienty (tj. s pacienty nezhojenými do šesti měsíců od amputace nebo s nutností reamputace nad kotníkem). Naše výsledky podporují zavádění měření $TcpO_2$, které je efektivní neinvazivní diagnostickou metodou pro ICHDK u pacientů se SDN. Tito pacienti mají nespolehlivé klasické známky ICHDK i nespolehlivé hodnoty Dopplerovského vyšetření při mediokalcinóze. Na základě vyšetření $TcpO_2$ můžeme nejen indikovat invazivní cévní vyšetření a způsob intervence, ale také odhadnout výsledek hojení.

***Nové metody léčby syndromu diabetické nohy:***

1. Po larvální léčbě bylo pozorováno zlepšení hojení rány (kompletní vyčištění od nekróz) u 69,4 % pacientů, beze změny (pouze částečné odstranění nekróz) zůstalo 19,3 % pacientů a zhoršení (lokální progresi nálezu) jsme zaznamenali u 8,1 % pacientů; výsledek byl nehodnotitelný (úmrtí larev) u 3,2 % pacientů. Byl zjištěn signifikantní pokles MRSA infekce po larvální léčbě, tento efekt přetrvával i po 10 dnech od ukončení léčby.

Obdobné výsledky byly po larvální léčbě zjištěny i pro Enterococcus sp. a Staphylococcus koaguláza negativní. Larvální léčba neměla efekt na eradikaci infekce Pseudomonas sp. Tyto výsledky povrdily, že larvální terapie je efektivní a bezpečnou metodou debridementu rány, která může přispět ke komplexní léčbě pacientů se SDN.

2. Bylo zjištěno, že u nehojících se ran u pacientů se SDN došlo po aplikaci V.A.C. ke zmenšení plochy rány o 19,7 % a k nárůstu granulační tkáně; 85 % pacientů se následně úspěšně zhojilo. Nezávažné nežádoucí účinky se vyskytly jen u 15 % pacientů (mírná bolest v ráně nebo progrese infekce). Tato studie přispěla k rozšíření terapie lokálním řízeným podtlakem u pacientů se SDN v České republice.

# 6 Souhrn

SDN je jednou z nejčastějších pozdních komplikací diabetu, která nezřídka vede k amputacím dolních končetin u diabetiků a významně ovlivňuje kvalitu života pacientů s diabetem. Na vzniku SDN se podílí celá řada patogenetických pochodů, k nejvýznamnějším patří ischémie a infekce. Jednou z forem SDN je CNO, která je definována jako neinfekční destrukce kostí a kloubů na podkladě neuropatie. Nejčastěji postihuje oblast nohy, má však i atypické lokalizace.

Téma dizertační práce bylo rozděleno do tří celků:

- Kostní metabolismus a CNO
- Problematika ischémie a infekce u SDN
- Nové metody léčby SDN

Problematika kostního metabolismus a CNO byla řešena v 6 studiích, ischémie a infekce u SDN v 1 studii a nové metody léčby SDN ve 2 studiích.

**Kostní metabolismus a CNO**

První dvě studie se věnovaly efektu nazálního kalcitoninu v léčbě pacientů s CNO, který dosud nebyl zkoumán. Cílem první randomizované studie bylo posoudit efekt nazálního kalcitoninu na kostní metabolismus hodnocený markery osteomodelace u pacientů s akutní CNO. Pacienti byli randomizováni do dvou skupin - kalcitoninová skupina, která byla léčena nazálním kalcotininem v dávce 200 IU v kombinaci s 1000 mg kalcia denně, a kontrolní skupina, která byla léčena 1000 mg vápníku denně v monoterapii. Další terapeutická opatření, např. odlehčení končetiny ortézou nebo kontaktní fixací, byla srovnatelná v obou skupinách. Výsledky ukázaly, že v prvních třech měsících byl signifikantně větší pokles markerů kostní remodelace v kalcitoninové skupině oproti kontrolní; obdobný pokles byl zaznamenán i v podskupině devíti pacientů s renální insuficiencí. Tato studie poprvé prokázala, že pacienti s akutní CNO včetně pacientů s renální insuficiencí mohou profitovat z léčby nazálním kalcitoninem, který efektivně snižuje osteolýzu v akutní fázi CNO.

Druhá randomizováná studie s nazálním kalcitoninem byla zaměřena na posouzení efektu nazálního kalcitoninu při dlouhodobém podávání, zejména na efekt na nezbytnou dobu imobilizace pacienta a na výskyt rekurence CNO po skončení terapie akutní fáze. Sledovali jsme dlohodobé ovlivnění aktivity CNO definované markery kostní remodelace. Pacienti byli léčeni stejně jako v předchozí studii, po ukončení akutní fáze CNO byli sledováni 15 měsíců.

Výsledky ukázaly, že pacienti s CNO léčení kalcitoninem mohou dlouhodobě profitovat z této léčby - měli signifikantně kratší dobu nezbytné imobilizace, signifikantně větší dlouhodobý pokles osteoresorpce hodnocený ICTP a sníženou tendenci k rekurenci CNO.

Cílem třetí studie bylo definovat nové vhodné kvantitativní parametry kostní scintigrafie a posoudit jejich klinické využití v hodnocení aktivity CNO. Do studie byli zařazeni pacienti v různém stádiu CNO, podskupina pacientů v akutní fázi CNO byla vyšetřena i s odstupem po terapii v chronické fázi. Aktivita CNO byla sledována pomocí nově definovaných kvantitativních parametrů kostní scintigrafie (perfúzní i vychytávací fáze), markerů kostní remodelace a pomocí měření kožních teplot. Kvantitativní parametry kostní scintigrafie byly definovány následovně: BFV jako poměr vzdálenosti mezi inguinálním vazem a zevním kotníkem a časem průtoku radiofarmaka; FWB jako poměr mezi akumulací radiofarmaka v oblasti postižené nohy k akumulaci v oblasti celého těla a FCF jako poměr mezi přesně definovanou oblastí největší akumulace radiofarmaka v oblasti postižené nohy ku stejné oblasti na druhé, nepostižené noze. Kvantitativní parametry kostní scntigrafie úzce korelovaly s ostatními parametry aktivity CNO (markery kostní remodelace - ICTP, KALP a kožní teplotou) jak u pacientů v různých fázích CNO, tak u pacientů měřených opakovaně v akutní i chronické fázi CNO, a byly proto vhodné pro sledování aktivity onemocnění. Na rozdíl od dříve užívaných ukazatelů aktivity CNO jsou kvantitativní scintigrafické parametry více specifické pro postiženou oblast a umožňují morfologickou i kvantitativní diagnostiku CNO.

V následujích dvou studiích jsme se zaměřili na diagnostiku autonomní neuropatie u pacientů s CNO pomocí SA VSF. Ve čtvrté studii jsme porovnávali vyšetření SA VSF se standardní baterií Ewingových testů u pacientů s akutní CNO. Parametr cumpower LFHF 1 + 2 + 3 byl vybrán jako nejlépe diskriminující parametr SA VSF pro diagnostiku autonomní neuropatie na základě studie se zdravými dobrovolníky. Autonomní neuropatie byla diagnostikována u 94,1 % (dle SA VSF) a 82,3 % (dle Ewingových testů) pacientů s akutní CNO; nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi oběma metodami. Vyšetření SA VSF vyžadovalo menší spolupráci pacienta a zabralo méně času. V páté studii jsme hodnotili reproducibilitu vyšetření autonomní neuropatie pomocí SAVSF v akutní a chronické fázi CNO a její vztah k jiným parametrům aktivity CNO. Výsledky ukázaly, že aktivita CNO neovlivňuje výsledek vyšetření. Nebyl zjištěn vztah mezi parametry SA VSF a jinými parametry aktivity CNO (markery kostního obratu, rozdílem kožních teplot a scintigrafickými

parametry). Vyšetření autonomní neuropatie pomocí SA VSF se jevilo jako spolehlivé a méně náročné než standardní Ewingovy testy.

Cílem šesté práce bylo prezentovat ojedinělé případy atypické lokalizace CNO v oblasti kolenního kloubu formou kazuistických sdělení. Během necelých čtyř let byly diagnostikovány v Centru diabetologie IKEM čtyři případy neuropatických fraktur v oblasti kolenního kloubu. Ani jeden ze čtyř pacientů neměl anamnesticky zjištěnou traumatickou příhodu, klinické příznaky byly většinou nespecifické a diagnóza byla stanovena až při RTG vyšetření, vždy s velkým časovým odstupem od prvních příznaků. Následkem bylo, že intenzivní konzervativní léčba selhala u všech čtyř pacientů, u jednoho pacienta byla nutná vysoká amputace, u dvou náhrada kolenního kloubu a u jednoho korekční osteotomie. Publikace těchto kazuistik poukázaly na možnost lokalizace CNO i v kolenním kloubu a na nutnost včasné diagnostiky tohoto onemocnění.

**Problematika ischémie a infekce u SDN**

Cílem sedmé studii bylo identifikovat rizikové faktory obtížného hojení po nízké amputaci u pacientů se SDN. Zařazení byli pacienti indikováni k nízké amputaci se SDN. Testované potencionální rizikové faktory byly vybrány ze zjištěných rizikových faktorů pro vznik ulcerace nebo amputace. Hodnocení výsledků bylo provedno po 6 měsících od prvního amputačního výkonu. Neúspěšné hojení bylo zaznamenáno u jedné čtvrtiny pacientů. Třetina ze všech pacientů podstoupila reamputaci. Jednotlivé analýzy ukázaly, že nízká hodnota $TcpO_2$ před amputací a elevace CRP byly signifikantní nezávislé rizikové faktory neúspěšného hojení rány po amputačním výkonu u pacientů se SDN. Jiné hodnocené faktory, jako např. neuspokojivá kompenzace či délka trvání diabetu, nebyly signifikantní. Dále byla zjištěna signifikantně vyšší hodnota $TcpO_2$ u úspěšně zhojených pacientů ve srovnání s neúspěšně zhojenými (43,7 vs. 13,8 mmHg).

**Nové metody léčby SDN**

Cílem osmé studie bylo posoudit klinický a antimikrobiální efekt larvální terapie u SDN. K larvální léčbě byly indikováni pacienti s nekrotickými ulceracemi a s rizikem zhoršení po chirurgického debridementu (např. s ICHDK). Larvální léčba byla aplikována po průměrnou dobu 3,3 dne, nejčastěji v jedné dávce. Larvy vyčistily celou ránu od nekróz u téměř 70 % pacientů. Larvální léčba efektivně eliminovala většinu G+ i G- baktérií, po larvální léčbě byl zaznamenán signifikantní pokles infekce MRSA, ale tato léčba byla

neefektivní na eradikaci Pseudomonas sp. Během larvální terapie nebyly pozorovány žádné závažnější nežádoucí účinky.

Cílem deváté studie bylo posoudit efekt léčby řízeným lokálním podtlakem (V.A.C.) u pacientů se SDN a zaznamenat výskyt komplikací této léčby. Hlavní indikací k zahájení léčby podtlakem byly zejména rozsáhlé rány po chirurgických výkonech v oblasti nohy. Během doby léčby (průměrně 12,3 dne) došlo k zmenšení plochy rány o téměř 20 %, bylo pozorováno výrazné vyčištění rány a nárůst granulací. Průměrná doba do úplného zhojení rány byla necelé tři měsíce. Komplikace léčby se vyskytly jen u 15 % léčených pacientů, jednalo se však o nezávažné komplikace, které nevedly k přerušení léčby. Naše zkušenosti přispěly k zavedení V.A.C. terapie v indikaci SDN v České republice.

**Výsledky dizertační práce přispěly ke zlepšení diagnostiky i terapie CNO na podkladě znalostí patogenetických mechanismů tohoto onemocnění. Prioritou bylo zavedení a objektivní posouzení léčby kalcitoninem u pacientů v akutní a chronické fázi CNO. Byly definovány nové kvantitativní scintigrafické parametry pro sledování aktivity CNO a ověřena reproducibilita a efektivnost nové metodiky pro diagnostiku autonomní neuropatie u CNO. Publikace přispěly k edukaci lékařů o atypických lokalizacích CNO. Dále naše výsledky potvrdily význam měření transkutánní tenze kyslíku u pacientů se SDN, zejména s ohledem na indikaci nízkých amputací. Do praxe v České republice byly zavedeny nové terapeutické metody SDN - larvální a V.A.C. terapie a byla ověřena jejich účinnost.**

Publikace Intranasal calcitonin in the treatment of acute Charcot neuroosteoarthropathy: a randomized controlled trial uveřejněná v Diabetes Care byla oceněna Českou diabetologickou společností jako nejlepší zahraniční publikace v oboru diabetologie za rok 2006.

# 7 Poděkování

Jednotlivé studie byly provedeny za přispění Mgr. Jeleny Skibové, MUDr. Vladimíry Fejfarové, PhD, MUDr. Veroniky Woskové, MUDr. Michala Dubského, MUDr. Marie Buncové CSc., Edwarda B. Juda, MD, FRCP, MUDr. Bedřicha Sixty, MUDr. Martina Vargy, MUDr. Petra Herdegena, MUDr. Jany Lupínkové, CSc., MUDr. Josefa Šedivého, MUDr. Davida Hačkajla, Kateřiny Čechové, Blaženy Vodičkové.

**Největší poděkování patří mé školitelce Prof. MUDr. Alexandře Jirkovské, CSc., která mě zasvětila do problematiky syndromu diabetické nohy a prakticky celé diabetologie, odborně dohlížela na mou vědeckou činnost a pomáhala s přípravou odborných publikací po celou dobu doktorandského studia. Její lidský přístup a nevyčerpatelná pracovitost mě motivovaly k ještě usilovnější práci jak na poli vědeckém tak i v péči o nemocné.**

Prof. MUDr. Terezii Pelikánové, DrSc. a Doc. MUDr. Františku Staudkovi, CSc. děkuji za vytvoření dobrého zázemí k postgraduálnímu studiu v Centru diabetologie IKEM.

Dále chci poděkovat kolektivu podiatrických sester - Petře Fexové, Ludmile Řezaninové, Věře Šindelářové, Martě Křížové a Janě Janebové, které při své náročné práci našly dostatek času na provedení jednotlivých studií a velmi pomohly se zavedením nových postupů do klinické praxe.

**Velké poděkování patří také mé rodině. Rodičům, kteří mě podporovali po dobu studia, a hlavně také mé manželce Hance a dětem Terezce a Aničce za jejich porozumění a trpělivost, které mi věnují při náročném spojení rodinného života s vědeckou činností.**

# 8 Seznam použitých zkratek

ATB - antibiotika, antibiotický
BFV - blood flow velocity
BMI - body mass index
CNO - Charcotova neuroosteoarthropatie
CRP- C-reaktivní protein
CT - počítačová tomografie
FCF - foot and contralateral foot ratio
FWB - foot and whole body ratio
$HbA_{1C}$ - glykovaný hemoglobin
ICHDK - ischemická choroba dolní končetiny
ICHS - ischemická choroba srdeční
ICTP - karboxyterminální telopeptid kolagenu I
IGF - insulin like growth factor
IKEM - Institut klinické a experimentální medicíny
IL-1β - interleukin1β
KALP - kostní isomer alkalické fosfatázy
M-CSF - macrophage colony-stimulating factor
MEDP - methylendifosfonát
MRI - magnetická rezonance
MRSA - Methicilin-rezistentní Staphylococcus aureus
NS - není signifikance
OPG - osteoprotegerin
OM - osteomyelitida
P - signifikance
G+; G- - Gramm pozitivní; Gramm negativní
PTA - perkutánní transluminální angioplastika
RANK(-L ) - (ligand) receptorový aktivátor nukleárního faktoru kappa β
RCC - removable contact cast
ROI - region of interest
RTG - rentgenologické vyšetření
RWC - removable walking cast
SA VSF - spektrální analýza variability srdeční frekvence
SDN - syndrom diabetické nohy
SPECT - single photon emission computer tomography
TCC - total contact cast
$TcpO_2$ - transkutánní tenze kyslíku
TGF - transforming growth factor
TNF - tumor necrosis factor
V.A.C. - Vaccum Assisted Closure
VPT - vibration perception treshold

# 9 Seznam použité literatury


1. IWGDF: International Consensus on the Diabetic Foot. 2007
2. Jirkovská A: Syndrom diabetické nohy. Komplexní týmová péče. Praha, Maxdorf, 2006
3. Trautner C, Haastert B, Spraul M, Giani G, Berger M: Unchanged incidence of lower-limb amputations in a German City, 1990-1998. Diabetes Care 2001; 24(5):855-9
4. Morris AD, McAlpine R, Steinke D, Boyle DI, Ebrahim AR, Vasudev N, Stewart CP, Jung RT, Leese GP, MacDonald TM, Newton RW: Diabetes and lower-limb amputations in the community. A retrospective cohort study. DARTS/MEMO Collaboration. Diabetes Audit and Research in Tayside Scotland/Medicines Monitoring Unit. Diabetes Care 1998; 21(5):738-43
5. Moulik PK, Mtonga R, Gill GV: Amputation and mortality in new-onset diabetic foot ulcers stratified by etiology. Diabetes Care 2003; 26(2):491-4
6. Sanders LJ, Frykberg RG: Diabetic neuropathic osteoarthropathy: Charcot foot, in The High Risk Foot in Diabetes Mellitus. Edited by Levin ME, O'Neal LW, Bowker JH. New York, Churchill Livingstone, 1991, pp 297–338
7. Fabrin J, Larsen K, Holstein PE: Long-term follow-up in diabetic Charcot feet with spontaneous onset. Diabetes Care 2000; 23(6):796-800
8. Chantelau E: The perils of procrastination: effects of early vs. delayed detection and treatment of incipient Charcot fracture. Diabet Med 2005; 22(12):1707-12
9. Cavanagh PR, Young MJ, Adams JE, Vickers KL, Boulton AJ: Radiographic abnormalities in the feet of patients with diabetic neuropathy. Diabetes Care 1994; 17(3):201-9
10. Sinha S, Munichoodappa CS, Kozak GP: Neuro-arthropathy (Charcot joints) in diabetes mellitus (clinical study of 101 cases). Medicine (Baltimore) 1972; 51(3):191-210
11. Cofield RH, Morrison MJ, Beabout JW: Diabetic neuroarthropathy in the foot: patient characteristics and patterns of radiographic change. Foot Ankle 1983; 4(1):15-22
12. Smith DG, Barnes BC, Sands AK, Boyko EJ, Ahroni JH: Prevalence of radiographic foot abnormalities in patients with diabetes. Foot Ankle Int 1997; 18(6):342-6
13. Bailey CC, Root HP: Neuropathic foot leasions in diabetes mellitus. N Engl J Med 1947; 236:397-401
14. Clouse ME, Gramm HF, Legg M, Flood T: Diabetic osteoarthropathy. Clinical and roentgenographic observations in 90 cases. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 1974; 121(1):22-34
15. Armstrong DG, Todd WF, Lavery LA, Harkless LB, Bushman TR: The natural history of acute Charcot's arthropathy in a diabetic foot specialty clinic. Diabet Med 1997; 14(5):357-63
16. Clohisy DR, Thompson RC, Jr.: Fractures associated with neuropathic arthropathy in adults who have juvenile-onset diabetes. J Bone Joint Surg Am 1988; 70(8):1192-200
17. Gazis A, Pound N, Macfarlane R, Treece K, Game F, Jeffcoate W: Mortality in patients with diabetic neuropathic osteoarthropathy (Charcot foot). Diabet Med 2004; 21(11):1243-6
18. Mitchell JK: On a new practice in acute and chronic rheumatism. Am J Med Sci 1831; 8:55
19. Charcot JM: Sur quelques anthropathies qui paraissent dépendre dune lesion du cervean ou de la moelle épindere. Arch Physiol Norm Pathol 1868; 1:161-178
20. Jordan WR: Neuritic manifestations in diabetes mellitus. Arch Intern Med 1936; 57:307-358
21. Eloesser L: On the nature of neuropathic affections of the joint. Ann Surg 1917; 66:201
22. Edmonds ME, Roberts VC, Watkins PJ: Blood flow in the diabetic neuropathic foot. Diabetologia 1982; 22(1):9-15
23. Gough A, Abraha H, Li F, Purewal TS, Foster AV, Watkins PJ, Moniz C, Edmonds ME: Measurement of markers of osteoclast and osteoblast activity in patients with acute and chronic diabetic Charcot neuroarthropathy. Diabet Med 1997; 14(7):527-31
24. Young MJ, Marshall A, Adams JE, Selby PL, Boulton AJ: Osteopenia, neurological dysfunction, and the development of Charcot neuroarthropathy. Diabetes Care 1995; 18(1):34-8
25. Rix M, Andreassen H, Eskildsen P: Impact of peripheral neuropathy on bone density in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care 1999; 22(5):827-31
26. Mabilleau G, Petrova NL, Edmonds ME, Sabokbar A: Increased osteoclastic activity in acute Charcot's osteoarthopathy: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand. Diabetologia 2008; 51(6):1035-40
27. Jeffcoate W: Vascular calcification and osteolysis in diabetic neuropathy-is RANK-L the missing link? Diabetologia 2004; 47(9):1488-92
28. Lam J, Abu-Amer Y, Nelson CA, Fremont DH, Ross FP, Teitelbaum SL: Tumour necrosis factor superfamily cytokines and the pathogenesis of inflammatory osteolysis. Ann Rheum Dis 2002; 61 Suppl 2:ii82-3
29. Saidenberg Kermanac'h N, Bessis N, Cohen-Solal M, De Vernejoul MC, Boissier MC: Osteoprotegerin and inflammation. Eur Cytokine Netw 2002; 13(2):144-53

30. Jeffcoate WJ, Game F, Cavanagh PR: The role of proinflammatory cytokines in the cause of neuropathic osteoarthropathy (acute Charcot foot) in diabetes. Lancet 2005; 366(9502):2058-61
31. Kon T, Cho TJ, Aizawa T, Yamazaki M, Nooh N, Graves D, Gerstenfeld LC, Einhorn TA: Expression of osteoprotegerin, receptor activator of NF-kappaB ligand (osteoprotegerin ligand) and related proinflammatory cytokines during fracture healing. J Bone Miner Res 2001; 16(6):1004-14
32. Jeffcoate W, Lima J, Nobrega L: The Charcot foot. Diabet Med 2000; 17(4):253-8
33. Shapiro SA, Stansberry KB, Hill MA, Meyer MD, McNitt PM, Bhatt BA, Vinik AI: Normal blood flow response and vasomotion in the diabetic Charcot foot. J Diabetes Complications 1998; 12(3):147-53
34. Armstrong DG, Lavery LA: Monitoring healing of acute Charcot's arthropathy with infrared dermal thermometry. J Rehabil Res Dev 1997; 34(3):317-21
35. Ewing DJ, Martyn CN, Young RJ, Clarke BF: The value of cardiovascular autonomic function tests: 10 years experience in diabetes. Diabetes Care 1985; 8(5):491-8
36. Bellavere F, Balzani I, De Masi G, Carraro M, Carenza P, Cobelli C, Thomaseth K: Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy. Diabetes 1992; 41(5):633-40
37. Seabold JE, Flickinger FW, Kao SC, Gleason TJ, Kahn D, Nepola JV, Marsh JL: Indium-111-leukocyte/technetium-99m-MDP bone and magnetic resonance imaging: difficulty of diagnosing osteomyelitis in patients with neuropathic osteoarthropathy. J Nucl Med 1990; 31(5):549-56
38. Gold RH, Tong DJ, Crim JR, Seeger LL: Imaging the diabetic foot. Skeletal Radiol 1995; 24(8):563-71
39. Sartoris DJ: Cross-sectional imaging of the diabetic foot. J Foot Ankle Surg 1994; 33(6):531-45
40. McGill M, Molyneaux L, Bolton T, Ioannou K, Uren R, Yue DK: Response of Charcot's arthropathy to contact casting: assessment by quantitative techniques. Diabetologia 2000; 43(4):481-4
41. Tomas MB, Patel M, Marwin SE, Palestro CJ: The diabetic foot. Br J Radiol 2000; 73(868):443-50
42. Palestro CJ, Mehta HH, Patel M, Freeman SJ, Harrington WN, Tomas MB, Marwin SE: Marrow versus infection in the Charcot joint: indium-111 leukocyte and technetium-99m sulfur colloid scintigraphy. J Nucl Med 1998; 39(2):346-50
43. Craig JG, Amin MB, Wu K, Eyler WR, van Holsbeeck MT, Bouffard JA, Shirazi K: Osteomyelitis of the diabetic foot: MR imaging-pathologic correlation. Radiology 1997; 203(3):849-55
44. Myerson MS, Alvarez RG, Lam PW: Tibiocalcaneal arthrodesis for the management of severe ankle and hindfoot deformities. Foot Ankle Int 2000; 21(8):643-50
45. Jude EB, Selby PL, Burgess J, Lilleystone P, Mawer EB, Page SR, Donohoe M, Foster AV, Edmonds ME, Boulton AJ: Bisphosphonates in the treatment of Charcot neuroarthropathy: a double-blind randomised controlled trial. Diabetologia 2001; 44(11):2032-7
46. Piaggesi A, Rizzo L, Golia F, Costi D, Baccetti F, Ciaccio S, De Gregorio S, Vignali E, Trippi D, Zampa V, Marcocci C, Del Prato S: Biochemical and ultrasound tests for early diagnosis of active neuro-osteoarthropathy (NOA) of the diabetic foot. Diabetes Res Clin Pract 2002; 58(1):1-9
47. Pitocco D, Ruotolo V, Caputo S, Mancini L, Collina CM, Manto A, Caradonna P, Ghirlanda G: Six-month treatment with alendronate in acute Charcot neuroarthropathy: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2005; 28(5):1214-5
48. Jirkovska A, Kasalicky P, Boucek P, Hosova J, Skibova J: Calcaneal ultrasonometry in patients with Charcot osteoarthropathy and its relationship with densitometry in the lumbar spine and femoral neck and with markers of bone turnover. Diabet Med 2001; 18(6):495-500
49. Petrova NL, Foster AV, Edmonds ME: Calcaneal bone mineral density in patients with Charcot neuropathic osteoarthropathy: differences between Type 1 and Type 2 diabetes. Diabet Med 2005; 22(6):756-61
50. Armstrong DG, Todd WF, Lavery LA, Harkless LB, Bushman TR: The natural history of acute Charcot's arthropathy in a diabetic foot specialty clinic. J Am Podiatr Med Assoc 1997; 87(6):272-8
51. Baumhauer JF, Wervey R, McWilliams J, Harris GF, Shereff MJ: A comparison study of plantar foot pressure in a standardized shoe, total contact cast, and prefabricated pneumatic walking brace. Foot Ankle Int 1997; 18(1):26-33
52. Sinacore DR, Withrington NC: Recognition and management of acute neuropathic (Charcot) arthropathies of the foot and ankle. J Orthop Sports Phys Ther 1999; 29(12):736-46
53. Sinacore DR: Acute Charcot arthropathy in patients with diabetes mellitus: healing times by foot location. J Diabetes Complications 1998; 12(5):287-93
54. Foltz KD, Fallat LM, Schwartz S: Usefulness of a brief assessment battery for early detection of Charcot foot deformity in patients with diabetes. J Foot Ankle Surg 2004; 43(2):87-92
55. Herbst SA, Jones KB, Saltzman CL: Pattern of diabetic neuropathic arthropathy associated with the peripheral bone mineral density. J Bone Joint Surg Br 2004; 86(3):378-83
56. Stepan JJ, Alenfeld F, Boivin G, Feyen JH, Lakatos P: Mechanisms of action of antiresorptive therapies of postmenopausal osteoporosis. Endocr Regul 2003; 37(4):225-38

57. Jeffcoate WJ: Theories concerning the pathogenesis of the acute charcot foot suggest future therapy. Curr Diab Rep 2005; 5(6):430-5
58. Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Caputo GM: New developments in the biomechanics of the diabetic foot. Diabetes Metab Res Rev 2000; 16 Suppl 1:S6-S10
59. Giurini JM: Applications and use of in-shoe orthoses in the conservative management of Charcot foot deformity. Clin Podiatr Med Surg 1994; 11(2):271-8
60. Jones EA, Manaster BJ, May DA, Disler DG: Neuropathic osteoarthropathy: diagnostic dilemmas and differential diagnosis. Radiographics 2000; 20 Spec No:S279-93
61. Lambert AP, Close CF: Charcot neuroarthropathy of the knee in Type 1 diabetes: treatment with total knee arthroplasty. Diabet Med 2002; 19(4):338-41
62. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude E, Piaggesi A, Bakker K, Edmonds M, Holstein P, Jirkovska A, Mauricio D, Ragnarson Tennvall G, Reike H, Spraul M, Uccioli L, Urbancic V, Van Acker K, van Baal J, van Merode F, Schaper N: High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. Diabetologia 2007; 50(1):18-25
63. Kumar S, Ashe HA, Parnell LN, Fernando DJ, Tsigos C, Young RJ, Ward JD, Boulton AJ: The prevalence of foot ulceration and its correlates in type 2 diabetic patients: a population-based study. Diabet Med 1994; 11(5):480-4
64. Litzelman DK, Marriott DJ, Vinicor F: Independent physiological predictors of foot lesions in patients with NIDDM. Diabetes Care 1997; 20(8):1273-8
65. McNeely MJ, Boyko EJ, Ahroni JH, Stensel VL, Reiber GE, Smith DG, Pecoraro RF: The independent contributions of diabetic neuropathy and vasculopathy in foot ulceration. How great are the risks? Diabetes Care 1995; 18(2):216-9
66. Reiber GE, Smith DG, Wallace CM, Vath CA, Sullivan K, Hayes S, Yu O, Martin D, Maciejewski M: Footwear used by individuals with diabetes and a history of foot ulcer. J Rehabil Res Dev 2002; 39(5):615-22
67. Uccioli L, Faglia E, Monticone G, Favales F, Durola L, Aldeghi A, Quarantiello A, Calia P, Menzinger G: Manufactured shoes in the prevention of diabetic foot ulcers. Diabetes Care 1995; 18(10):1376-8
68. Rathur HM, Boulton AJ: The neuropathic diabetic foot. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007; 3(1):14-25
69. Partanen J, Niskanen L, Lehtinen J, Mervaala E, Siitonen O, Uusitupa M: Natural history of peripheral neuropathy in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1995; 333(2):89-94
70. Quattrini C, Jeziorska M, Tavakoli M, Begum P, Boulton AJ, Malik RA: The Neuropad test: a visual indicator test for human diabetic neuropathy. Diabetologia 2008; 51(6):1046-50
71. Tentolouris N, Achtsidis V, Marinou K, Katsilambros N: Evaluation of the self-administered indicator plaster neuropad for the diagnosis of neuropathy in diabetes. Diabetes Care 2008; 31(2):236-7
72. Turner DE, Helliwell PS, Burton AK, Woodburn J: The relationship between passive range of motion and range of motion during gait and plantar pressure measurements. Diabet Med 2007; 24(11):1240-6
73. Zimny S, Schatz H, Pfohl M: The role of limited joint mobility in diabetic patients with an at-risk foot. Diabetes Care 2004; 27(4):942-6
74. Frykberg RG, Lavery LA, Pham H, Harvey C, Harkless L, Veves A: Role of neuropathy and high foot pressures in diabetic foot ulceration. Diabetes Care 1998; 21(10):1714-9
75. Wu SC, Armstrong DG: The role of activity, adherence, and off-loading on the healing of diabetic foot wounds. Plast Reconstr Surg 2006; 117(7 Suppl):248S-253S
76. Yavuz M, Erdemir A, Botek G, Hirschman GB, Bardsley L, Davis BL: Peak plantar pressure and shear locations: relevance to diabetic patients. Diabetes Care 2007; 30(10):2643-5
77. Bus SA, Yang QX, Wang JH, Smith MB, Wunderlich R, Cavanagh PR: Intrinsic muscle atrophy and toe deformity in the diabetic neuropathic foot: a magnetic resonance imaging study. Diabetes Care 2002; 25(8):1444-50
78. Brash PD, Foster J, Vennart W, Anthony P, Tooke JE: Magnetic resonance imaging techniques demonstrate soft tissue damage in the diabetic foot. Diabet Med 1999; 16(1):55-61
79. Winkley K, Stahl D, Chalder T, Edmonds ME, Ismail K: Risk factors associated with adverse outcomes in a population-based prospective cohort study of people with their first diabetic foot ulcer. J Diabetes Complications 2007; 21(6):341-9
80. Prompers L, Schaper N, Apelqvist J, Edmonds M, Jude E, Mauricio D, Uccioli L, Urbancic V, Bakker K, Holstein P, Jirkovska A, Piaggesi A, Ragnarson-Tennvall G, Reike H, Spraul M, Van Acker K, Van Baal J, Van Merode F, Ferreira I, Huijberts M: Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: focus on the differences between individuals with and without peripheral arterial disease. The EURODIALE Study. Diabetologia 2008; 51(5):747-55
81. ADA: Peripheral arterial disease in people with diabetes. Diabetes Care 2003; 26(12):3333-41

82. Williams DT, Price P, Harding KG: The influence of diabetes and lower limb arterial disease on cutaneous foot perfusion. J Vasc Surg 2006; 44(4):770-5
83. Criqui MH, Fronek A, Klauber MR, Barrett-Connor E, Gabriel S: The sensitivity, specificity, and predictive value of traditional clinical evaluation of peripheral arterial disease: results from noninvasive testing in a defined population. Circulation 1985; 71(3):516-22
84. Marinelli MR, Beach KW, Glass MJ, Primozich JF, Strandness DE, Jr.: Noninvasive testing vs clinical evaluation of arterial disease. A prospective study. Jama 1979; 241(19):2031-4
85. Jirkovska A, Boucek P, Woskova V, Bartos V, Skibova J: Identification of patients at risk for diabetic foot: a comparison of standardized noninvasive testing with routine practice at community diabetes clinics. J Diabetes Complications 2001; 15(2):63-8
86. Williams DT, Harding KG, Price P: An evaluation of the efficacy of methods used in screening for lower-limb arterial disease in diabetes. Diabetes Care 2005; 28(9):2206-10
87. Pecoraro RE, Ahroni JH, Boyko EJ, Stensel VL: Chronology and determinants of tissue repair in diabetic lower-extremity ulcers. Diabetes 1991; 40(10):1305-13
88. Ballard JL, Eke CC, Bunt TJ, Killeen JD: A prospective evaluation of transcutaneous oxygen measurements in the management of diabetic foot problems. J Vasc Surg 1995; 22(4):485-90; discussion 490-2
89. Bunt TJ, Holloway GA: TcPO2 as an accurate predictor of therapy in limb salvage. Ann Vasc Surg 1996; 10(3):224-7
90. Wutschert R, Bounameaux H: Determination of amputation level in ischemic limbs. Reappraisal of the measurement of TcPo2. Diabetes Care 1997; 20(8):1315-8
91. Berendt T, Byren I: Bone and joint infection. Clin Med 2004; 4(6):510-8
92. Frykberg RG: A summary of guidelines for managing the diabetic foot. Adv Skin Wound Care 2005; 18(4):209-14
93. Lipsky BA: Evidence-based antibiotic therapy of diabetic foot infections. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26(3-4):267-76
94. Lipsky BA: A report from the international consensus on diagnosing and treating the infected diabetic foot. Diabetes Metab Res Rev 2004; 20 Suppl 1:S68-77
95. Lavery LA, Armstrong DG, Murdoch DP, Peters EJ, Lipsky BA: Validation of the Infectious Diseases Society of America's diabetic foot infection classification system. Clin Infect Dis 2007; 44(4):562-5
96. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Mohler MJ, Wendel CS, Lipsky BA: Risk factors for foot infections in individuals with diabetes. Diabetes Care 2006; 29(6):1288-93
97. Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Tredwell J, Boulton AJ: Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-Hispanic whites from a diabetes disease management cohort. Diabetes Care 2003; 26(5):1435-8
98. Jirkovska A, Fejfarova V, Hosova J, Striz I, Kalanin J, Skibova J: Analysis of the inflammation reaction and selected indicators of immunity in patients with an infected diabetic ulcer. Cas Lek Cesk 2002; 141(15):483-6
99. Jeandrot A, Richard JL, Combescure C, Jourdan N, Finge S, Rodier M, Corbeau P, Sotto A, Lavigne JP: Serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations to distinguish mildly infected from non-infected diabetic foot ulcers: a pilot study. Diabetologia 2008; 51(2):347-52
100. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, LeFrock JL, Lew DP, Mader JT, Norden C, Tan JS: Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Plast Reconstr Surg 2006; 117(7 Suppl):212S-238S
101. Citron DM, Goldstein EJ, Merriam CV, Lipsky BA, Abramson MA: Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. J Clin Microbiol 2007; 45(9):2819-28
102. Fejfarova V, Jirkovska A, Petkov V, Boucek P, Skibova J: Comparison of microbial findings and resistance to antibiotics between transplant patients, patients on hemodialysis, and other patients with the diabetic foot. J Diabetes Complications 2004; 18(2):108-12
103. Grayson ML, Gibbons GW, Habershaw GM, Freeman DV, Pomposelli FB, Rosenblum BI, Levin E, Karchmer AW: Use of ampicillin/sulbactam versus imipenem/cilastatin in the treatment of limb-threatening foot infections in diabetic patients. Clin Infect Dis 1994; 18(5):683-93
104. Newman LG, Waller J, Palestro CJ, Schwartz M, Klein MJ, Hermann G, Harrington E, Harrington M, Roman SH, Stagnaro-Green A: Unsuspected osteomyelitis in diabetic foot ulcers. Diagnosis and monitoring by leukocyte scanning with indium in 111 oxyquinoline. Jama 1991; 266(9):1246-51
105. Lipsky BA: Osteomyelitis of the foot in diabetic patients. Clin Infect Dis 1997; 25(6):1318-26
106. Shone A, Burnside J, Chipchase S, Game F, Jeffcoate W: Probing the validity of the probe-to-bone test in the diagnosis of osteomyelitis of the foot in diabetes. Diabetes Care 2006; 29(4):945

107. Berendt AR, Peters EJ, Bakker K, Embil JM, Eneroth M, Hinchliffe RJ, Jeffcoate WJ, Lipsky BA, Senneville E, Teh J, Valk GD: Diabetic foot osteomyelitis: a progress report on diagnosis and a systematic review of treatment. Diabetes Metab Res Rev 2008; 24 Suppl 1:S145-61
108. Embil JM, Trepman E: Microbiological evaluation of diabetic foot osteomyelitis. Clin Infect Dis 2006; 42(1):63-5
109. Lavery LA, Sariaya M, Ashry H, Harkless LB: Microbiology of osteomyelitis in diabetic foot infections. J Foot Ankle Surg 1995; 34(1):61-4
110. Lipsky BA, Berendt AR, Embil J, De Lalla F: Diagnosing and treating diabetic foot infections. Diabetes Metab Res Rev 2004; 20 Suppl 1:S56-64
111. Sella EJ, Grosser DM: Imaging modalities of the diabetic foot. Clin Podiatr Med Surg 2003; 20(4):729-40
112. Berendt AR, Lipsky B: Is this bone infected or not? Differentiating neuro-osteoarthropathy from osteomyelitis in the diabetic foot. Curr Diab Rep 2004; 4(6):424-9
113. Armstrong DG, Nguyen HC, Lavery LA, van Schie CH, Boulton AJ, Harkless LB: Off-loading the diabetic foot wound: a randomized clinical trial. Diabetes Care 2001; 24(6):1019-22
114. Armstrong DG, Lavery LA, Holtz-Neiderer K, Mohler MJ, Wendel CS, Nixon BP, Boulton AJ: Variability in activity may precede diabetic foot ulceration. Diabetes Care 2004; 27(8):1980-4
115. Faglia E, Mantero M, Caminiti M, Caravaggi C, De Giglio R, Pritelli C, Clerici G, Fratino P, De Cata P, Dalla Paola L, Mariani G, Poli M, Settembrini PG, Sciangula L, Morabito A, Graziani L: Extensive use of peripheral angioplasty, particularly infrapopliteal, in the treatment of ischaemic diabetic foot ulcers: clinical results of a multicentric study of 221 consecutive diabetic subjects. J Intern Med 2002; 252(3):225-32
116. Jacqueminet S, Hartemann-Heurtier A, Izzillo R, Cluzel P, Golmard JL, Ha Van G, Koskas F, Grimaldi A: Percutaneous transluminal angioplasty in severe diabetic foot ischemia: outcomes and prognostic factors. Diabetes Metab 2005; 31(4 Pt 1):370-5
117. Staffa R, Leypold J, Kriz Z: Pedal bypass for limb salvage. Acta Chir Belg 2005; 105(5):491-6
118. Young MJ, Cavanagh PR, Thomas G, Johnson MM, Murray H, Boulton AJ: The effect of callus removal on dynamic plantar foot pressures in diabetic patients. Diabet Med 1992; 9(1):55-7
119. Armstrong DG, Salas P, Short B, Martin BR, Kimbriel HR, Nixon BP, Boulton AJ: Maggot therapy in "lower-extremity hospice" wound care: fewer amputations and more antibiotic-free days. J Am Podiatr Med Assoc 2005; 95(3):254-7
120. Wayman J, Nirojogi V, Walker A, Sowinski A, Walker MA: The cost effectiveness of larval therapy in venous ulcers. J Tissue Viability 2000; 10(3):91-4
121. Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM: A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. Curr Eye Res 2005; 30(7):505-15
122. Nelson RG, Gohdes DM, Everhart JE, Hartner JA, Zwemer FL, Pettitt DJ, Knowler WC: Lower-extremity amputations in NIDDM. 12-yr follow-up study in Pima Indians. Diabetes Care 1988; 11(1):8-16
123. Trautner C, Haastert B, Giani G, Berger M: Incidence of lower limb amputations and diabetes. Diabetes Care 1996; 19(9):1006-9
124. Armstrong DG, Lavery LA: Negative pressure wound therapy after partial diabetic foot amputation: a multicentre, randomised controlled trial. Lancet 2005; 366(9498):1704-10
125. Philbeck TE, Jr., Whittington KT, Millsap MH, Briones RB, Wight DG, Schroeder WJ: The clinical and cost effectiveness of externally applied negative pressure wound therapy in the treatment of wounds in home healthcare Medicare patients. Ostomy Wound Manage 1999; 45(11):41-50
126. Banwell PE: Topical negative pressure therapy in wound care. J Wound Care 1999; 8(2):79-84
127. Espensen EH, Nixon BP, Lavery LA, Armstrong DG: Use of subatmospheric (VAC) therapy to improve bioengineered tissue grafting in diabetic foot wounds. J Am Podiatr Med Assoc 2002; 92(7):395-7
128. Howorka K, Pumprla J, Schabmann A: Optimal parameters of short-term heart rate spectrogram for routine evaluation of diabetic cardiovascular autonomic neuropathy. J Auton Nerv Syst 1998; 69(2-3):164-72
129. Ducher M, Cerutti C, Gustin MP, Abou-Amara S, Thivolet C, Laville M, Paultre CZ, Fauvel JP: Noninvasive exploration of cardiac autonomic neuropathy. Four reliable methods for diabetes? Diabetes Care 1999; 22(3):388-93
130. Kalani M, Brismar K, Fagrell B, Ostergren J, Jorneskog G: Transcutaneous oxygen tension and toe blood pressure as predictors for outcome of diabetic foot ulcers. Diabetes Care 1999; 22(1):147-51
131. Schaper NC, Huijberts M, Pickwell K: Neurovascular control and neurogenic inflammation in diabetes. Diabetes Metab Res Rev 2008; 24 Suppl 1:S40-4

132. Young MJ, Breddy JL, Veves A, Boulton AJ: The prediction of diabetic neuropathic foot ulceration using vibration perception thresholds. A prospective study. Diabetes Care 1994; 17(6):557-60
133. Rajbhandari SM, Jenkins RC, Davies C, Tesfaye S: Charcot neuroarthropathy in diabetes mellitus. Diabetologia 2002; 45(8):1085-96
134. Selby PL, Young MJ, Boulton AJ: Bisphosphonates: a new treatment for diabetic Charcot neuroarthropathy? Diabet Med 1994; 11(1):28-31
135. Mashiba T, Turner CH, Hirano T, Forwood MR, Jacob DS, Johnston CC, Burr DB: Effects of high-dose etidronate treatment on microdamage accumulation and biomechanical properties in beagle bone before occurrence of spontaneous fractures. Bone 2001; 29(3):271-8
136. Cranney A, Tugwell P, Zytaruk N, Robinson V, Weaver B, Shea B, Wells G, Adachi J, Waldegger L, Guyatt G: Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. VI. Meta-analysis of calcitonin for the treatment of postmenopausal osteoporosis. Endocr Rev 2002; 23(4):540-51
137. Still K, Phipps RJ, Scutt A: Effects of risedronate, alendronate, and etidronate on the viability and activity of rat bone marrow stromal cells in vitro. Calcif Tissue Int 2003; 72(2):143-50
138. Farley J, Dimai HP, Stilt-Coffing B, Farley P, Pham T, Mohan S: Calcitonin increases the concentration of insulin-like growth factors in serum-free cultures of human osteoblast-line cells. Calcif Tissue Int 2000; 67(3):247-54
139. Pinzur MS, Lio T, Posner M: Treatment of Eichenholtz stage I Charcot foot arthropathy with a weightbearing total contact cast. Foot Ankle Int 2006; 27(5):324-9
140. Bates M, Petrova NL, Edmonds ME: How long does it take to progress from cast to shoes in the management of Charcot osteoarthropathy? (Abstract). Diabetologia 2006; 49(S2):27
141. Bem R, Jirkovska A, Fejfarova V, Skibova J, Jude EB: Intranasal calcitonin in the treatment of acute Charcot neuroosteoarthropathy: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2006; 29(6):1392-4
142. Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J: Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. J Bone Miner Res 1997; 12(1):59-65
143. Armstrong DG, Lavery LA, Liswood PJ, Todd WF, Tredwell JA: Infrared dermal thermometry for the high-risk diabetic foot. Phys Ther 1997; 77(2):169-75; discussion 176-7
144. Edmonds ME, Clarke MB, Newton S, Barrett J, Watkins PJ: Increased uptake of bone radiopharmaceutical in diabetic neuropathy. Q J Med 1985; 57(224):843-55
145. Siegel BK, Donovan RL, Alderson PO, Mack GR: Skeletal uptake of 99mTc-diphosphonate in relation to local bone blood flow. Radiology 1979; 120:121-3
146. Genant HK, Bautovich GJ, Singh M, Lathrop KA, Harper PV: Bone-seeking radionuclides: an in vivo study of factors affecting skeletal uptake. Radiology 1974; 113:373-382
147. Kurata S, Ishibashi M, Nishida H, Hiromatsu Y, Hayabuchi N: A clinical assessment of the relationship between bone scintigraphy and serum biochemical markers in hemodialysis patients. Ann Nucl Med 2004; 18(6):513-8
148. ADA: Autonomic nervous system testing (consensus statement). Diabetes Care 1992; 15(S3):1095
149. Gilmore JE, Allen JA, Hayes JR: Autonomic function in neuropathic diabetic patients with foot ulceration. Diabetes Care 1993; 16(1):61-7
150. Stevens MJ, Edmonds ME, Foster AV, Douglas SL, Watkins PJ: Paradoxical blood flow responses in the diabetic neuropathic foot: an assessment of the contribution of vascular denervation and microangiopathy. Diabet Med 1992; 9(1):49-54
151. O'Brien IA, O'Hare P, Corrall RJ: Heart rate variability in healthy subjects: effect of age and the derivation of normal ranges for tests of autonomic function. Br Heart J 1986; 55(4):348-54
152. Wieling W, van Brederode JF, de Rijk LG, Borst C, Dunning AJ: Reflex control of heart rate in normal subjects in relation to age: a data base for cardiac vagal neuropathy. Diabetologia 1982; 22(3):163-6
153. Jensen-Urstad K, Reichard P, Jensen-Urstad M: Decreased heart rate variability in patients with type 1 diabetes mellitus is related to arterial wall stiffness. J Intern Med 1999; 245(1):57-61
154. Ziegler D, Piolot R, Strassburger K, Lambeck H, Dannehl K: Normal ranges and reproducibility of statistical, geometric, frequency domain, and non-linear measures of 24-hour heart rate variability. Horm Metab Res 1999; 31(12):672-9
155. May O, Arildsen H: Assessing cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes mellitus: how many tests to use? J Diabetes Complications 2000; 14(1):7-12
156. Petrova NL, Edmonds ME: Charcot neuro-osteoarthropathy-current standards. Diabetes Metab Res Rev 2008; 24 Suppl 1:S58-61
157. Robillard R, Gagnon PA, Alarie R: Diabetic Neuroarthropathy: Report of Four Cases. Can Med Assoc J 1964; 91:795-804
158. Tani Y, Inoue K, Kasahara H, Nishioka J, Hukuda S: Asymptomatic big toe changes in diabetic patients with early Charcot knees--a report of 2 cases. Acta Orthop Scand 1996; 67(3):302-4

159. Adler AI, Boyko EJ, Ahroni JH, Smith DG: Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy, and foot ulcers. Diabetes Care 1999; 22(7):1029-35
160. Mountford WK, Soule JB, Lackland DT, Lipsitz SR, Colwell JA: Diabetes-related lower extremity amputation rates fall significantly in South Carolina. South Med J 2007; 100(8):787-90
161. Moss SE, Klein R, Klein BE: The prevalence and incidence of lower extremity amputation in a diabetic population. Arch Intern Med 1992; 152(3):610-6
162. Taylor LM, Jr., Porter JM: The clinical course of diabetics who require emergent foot surgery because of infection or ischemia. J Vasc Surg 1987; 6(5):454-9
163. Yeager RA, Moneta GL, Edwards JM, Williamson WK, McConnell DB, Taylor LM, Jr., Porter JM: Predictors of outcome of forefoot surgery for ulceration and gangrene. Am J Surg 1998; 175(5):388-90
164. Nehler MR, Whitehill TA, Bowers SP, Jones DN, Hiatt WR, Rutherford RB, Krupski WC: Intermediate-term outcome of primary digit amputations in patients with diabetes mellitus who have forefoot sepsis requiring hospitalization and presumed adequate circulatory status. J Vasc Surg 1999; 30(3):509-17
165. Murdoch DP, Armstrong DG, Dacus JB, Laughlin TJ, Morgan CB, Lavery LA: The natural history of great toe amputations. J Foot Ankle Surg 1997; 36(3):204-8; discussion 256
166. Armstrong DG, Lavery LA, Harkless LB: Validation of a diabetic wound classification system. The contribution of depth, infection, and ischemia to risk of amputation. Diabetes Care 1998; 21(5):855-9
167. La Fontaine J, Reyzelman A, Rothenberg G, Husain K, Harkless LB: The role of revascularization in transmetatarsal amputations. J Am Podiatr Med Assoc 2001; 91(10):533-5
168. Faglia E, Clerici G, Caminiti M, Quarantiello A, Curci V, Morabito A: Predictive values of transcutaneous oxygen tension for above-the-ankle amputation in diabetic patients with critical limb ischemia. Eur J Vasc Endovasc Surg 2007; 33(6):731-6
169. Caselli A, Latini V, Lapenna A, Di Carlo S, Pirozzi F, Benvenuto A, Uccioli L: Transcutaneous oxygen tension monitoring after successful revascularization in diabetic patients with ischaemic foot ulcers. Diabet Med 2005; 22(4):460-5
170. Lipsky BA, Sheehan P, Armstrong DG, Tice AD, Polis AB, Abramson MA: Clinical predictors of treatment failure for diabetic foot infections: data from a prospective trial. Int Wound J 2007; 4(1):30-8
171. Wolff H, Hansson C: Larval therapy--an effective method of ulcer debridement. Clin Exp Dermatol 2003; 28(2):134-7
172. Steenvoorde P, Jukema GN: The antimicrobial activity of maggots: in-vivo results. J Tissue Viability 2004; 14(3):97-101
173. Thomas S, Andrews AM, Hay NP, Bourgoise S: The anti-microbial activity of maggot secretions: results of a preliminary study. J Tissue Viability 1999; 9(4):127-32
174. Bowling FL, Salgami EV, Boulton AJ: Larval therapy: a novel treatment in eliminating methicillin-resistant Staphylococcus aureus from diabetic foot ulcers. Diabetes Care 2007; 30(2):370-1
175. Andersen A, Joergensen B, Karlsmark T, Kirketerp-Moeller K, Rasmussen TB, Bjarnsholt T, Givskov M, Krogfelt KA: Maggot debridement therapy (MDT) in diabetic foot wounds – Quorum sensing dependent bacterial niches may promote infection or MDT failure. (Abstract). Abstract book 2006:O21
176. van der Plas MJ, Jukema GN, Wai SW, Dogterom-Ballering HC, Lagendijk EL, van Gulpen C, van Dissel JT, Bloemberg GV, Nibbering PH: Maggot excretions/secretions are differentially effective against biofilms of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa. J Antimicrob Chemother 2008; 61(1):117-22
177. Eginton MT, Brown KR, Seabrook GR, Towne JB, Cambria RA: A prospective randomized evaluation of negative-pressure wound dressings for diabetic foot wounds. Ann Vasc Surg 2003; 17(6):645-9
178. Etoz A, Ozgenel Y, Ozcan M: The use of negative pressure wound therapy on diabetic foot ulcers: a preliminary controlled trial. Wounds 2004; 16(8):264-269
179. McCallon SK, Knight CA, Valiulus JP, Cunningham MW, McCulloch JM, Farinas LP: Vacuum-assisted closure versus saline-moistened gauze in the healing of postoperative diabetic foot wounds. Ostomy Wound Manage 2000; 46(8):28-32, 34

# 10 Přehled vlastních publikací

**Články publikované v zahraničních časopisech:**

1. Bem R, Jirkovska A, Fejfarova V, Skibova J, Jude EB: Intranasal calcitonin in the treatment of acute Charcot neuroosteoarthropathy: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2006; 29(6):1392-4 **IF 2006 = 7,912**

2. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B, Herdegen P: Determinants and estimation of wound healing achievement after minor amputation in patients with diabetic foot. EWMA Journal 2006; 6(2):27

Spoluautor:

1. Jirkovska A, Boucek P, Wu S, Hosova J, Bem R, Fejfarova V, Skibova J: Power spectral analysis of heart rate variability in patients with Charcot's neuroarthropathy. J Am Podiatr Med Assoc 2006; 96(1):1-8 **IF 2006 = 0,549**

Participace na článku:

1. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude EB, Piaggesi A, Bakker K, Edmonds M, Holstein P, Jirkovska A, Mauricio D, Ragnarson-Tennvall G, Reike H, Spraul M, Uccioli L, Urbancic V, Van Acker K, Van Baal J, Van Merode F, Schaper N: High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. Diabetologia 2007; 50(1):18-25

2. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude EB, Piaggesi A, Bakker K, Edmonds M, Holstein P, Jirkovska A, Mauricio D, Tennvall G, R., Reike H, Spraul M, Uccioli L, Urbancic V, Van Acker K, Van Baal J, Van Merode F, Schaper N: Optimal organization of health care in diabetic foot disease: introduction to the Eurodiale study. Int J Low Extrem Wounds 2007; 6(1):11-17

3. Prompers L, Schaper N, Apelqvist J, Edmonds M, Jude EB, Mauricio D, Uccioli L, Urbancic V, Bakker K, Holstein P, Jirkovska A, Piaggesi A, Ragnarson-Tennvall G, Reike H, Spraul M, Van Acker K, Van Baal J, Van Merode F, Ferreira I, Huijberts M: Prediction of outcome in individuals with diabetic foot ulcers: focus on the differences between individuals with and without peripheral arterial disease. The EURODIALE Study. Diabetologia 2008; 51(5):747-755

4. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude E, Piaggesi A, Bakker K, Edmonds M, Holstein P, Jirkovska A, Mauricio D, Tennvall GR, Reike H, Spraul M, Uccioli L, Urbancic V, Van Acker K, Van Baal J, Van Merode F, Schaper N: Delivery of care to diabetic patients with foot ulcers in daily practice: results of the Eurodiale Study, a prospective cohort study. Diabetic Medicine 2008; 25(6):700-707

5. Prompers L, Huijberts M, Schaper N, Apelqvist J, Bakker K, Edmonds M, Holstein P, Jude E, Jirkovska A, Mauricio D, Piaggesi A, Reike H, Spraul M, Acker KV, Baal SV, Merode FV, Uccioli L, Urbancic V, Tennvall GR: Resource utilisation and costs

associated with the treatment of diabetic foot ulcers. Prospective data from the Eurodiale Study. Diabetologia 2008; 51(10):1826-34

**Autor kapitoly v monografii:**

1. Bém R, Hrášek J, Pavlů J: Obecné principy léčby odlehčením, in Syndrom diabetické nohy. Edited by Jirkovská A. Prague, Maxdorf, 2006, pp 99-107

2. Bém R, Hrášek J, Pavlů J: Obuv pro pacienty s diabetem a další protetické pomůcky, in Syndrom diabetické nohy. Edited by Jirkovská A. Prague, Maxdorf, 2006, pp 108-120

**Články publikované v tuzemských časopisech:**

1. Bém R: Neuropatické fraktury u pacientů s diabetem. Bulletin HPB 2003; 11(1):8-10

2. Bém R: Neuropatické fraktury v atypické lokalizaci u pacientů s diabetem. Lékařské listy 2003; 52(22):28-29

3. Bém R: Periferní cévní postižení, senzorická neuropatie a ulcerace nohy - nezávislé rizikové faktory amputací dolní končetiny u diabetu. Kazuistiky v diabetologii. (Klinické studie v diabetologii) 2004; 2(Suppl 1):13-15

4. Bém R, Hrášek J, Pavlů J: Protetická péče o pacienty s diabetickou nohou – speciální vložky a obuv jako součást prevence a léčby diabetické nohy. Bulletin HPB 2004; 12(Suppl 1):66-68

5. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Neuropatické defekty- diagnostika a léčba. Diagnóza 2005; 1(1):7-9

6. Bém R: Kdy začít s léčbou inzulínem u diabetu 2. typu? Diastyl 2005; 1(2):26

7. Bém R: Syndrom diabetické nohy. Sestra 2006; 16(Suppl 1):5-6

8. Bém R: Obuv pro pacienty s diabetem. Diastyl 2006; 2(1):26-29

9. Bém R, Fejfarová V, Jirkovská A: Terapie syndromu diabetické nohy pomocí řízeného podtlaku (V.A.C. - Vacuum Assisted Closure). Prakt Lek 2006; 86(5):268-70

10. Bém R, Fejfarová V, Jirkovská A: Neuropatické fraktury v oblasti kolenního kloubu u pacientů s diabetem. DMEV 2006; 9(2):63-67

11. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Aktuality v diagnostice a léčbě Charcotovy osteoarthropatie. Bulletin HPB 2006; 14(4):156-159

Spoluautor:

1. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Křížová M, Šindelářová V, Fexová P, Skibova J: Komplikace léčby syndromu diabetické nohy pomocí snímatelných kontaktních fixací se zaměřením na osteomyelitidu. Prakt Lek 2005; 85(6):348-352

2. Fejfarová V, Křížová M, Jirkovská A, Bém R, Pavlů J: Moderní prostředky k fixaci a odlehčení diabetické nohy. Diagnóza 2005; 1(1):13-15

3. Fejfarová V, Skořepová M, Jirkovská A, Bém R, Křížová M, Mášová I, Skibova J: Diagnostika a léčba myotických infekcí. Bulletin HPB 2006; 14(4):147-150

4. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Pavlů J, Křížová M: Léčba syndromu diabetické nohy kontaktními fixacemi. Bulletin HPB 2007; 15(4):93-95

5. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Pavlů J, Křížová M: Porovnání léčby syndromu diabetické nohy kontaktními fixacemi a ortézami typu Walker. Bulletin HPB 2007; 15(4):92-93

6. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R: Diabetická makroangiopatie. Sestra v diabetologii 2007; 3(1):27-28

7. Jirkovská A, Bém R: Charcotova osteoarthropatie – aktuální stav diagnostiky i terapie. Bulletin HPB 2005; 13(3-4):104-106

8. Jirkovská A, Bém R, Novotný K, Řezaninová L, Čechová K: Larvální léčba ran se zaměřením na syndrom diabetické nohy. Prakt Lek 2007; 87(9):559-562

9. Sedivy J, Petkov V, Jirkovska A, Stambergova A, Ulbrichova Z, Lupinkova J, Fejfarova V, Bem R: Optimization of amoxicillin/clavulanate therapy based on pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters in patients with diabetic foot infection. Klin Mikrobiol Infekc Lek 2004; 10(4):167-75

10. Sixta B, Herdegen P, Bém R, Fejfarová V: Léčení osteomyelitidy u syndromu diabetické nohy. Bulletin HPB 2001; 9(4):150-152

11. Sixta B, Herdegen P, Bém R, Pelikánová T: Zkušenosti s xenotransplantáty při hojení diabetické nohy. Bulletin HPB 2003; 11(1):37-38

12. Sixta B, Herdegen P, Bém R: Neobvyklá chirurgická léčba syndromu diabetické nohy. Bulletin HPB 2004; 12(Suppl 1):58-59

13. Wohl P, Pelikánová T, Bém R, Wohl P: Metabolický syndrom X. Practicus 2003; 2(4):42-45

**Přednášky s publikovanými abstrakty v zahraničí:**

1. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Intranasal calcitonin in the treatment of Acute Charcot neuroosteoarthropathy including patients with renal insufficiency: a randomized controlled trial. (Abstract). Diabetologia 2005; 48(S1):A82
   41st Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Atény, Řecko 12.-15. 9. 2005

2. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B: Determinants and estimation of wound healing achievement after minor amputation in patients with diabetic foot. (Abstract) EWMA Abstract book 2006:58
   16th Conference of European Wound Management Association, Praha 18.-20. 5. 2006

3. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Effect of intranasal calcitonin on healing times in patients with acute Charcot foot: A randomized controlled trial. (Abstract). DFSG Abstract book 2006:27
   6th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Elsinore, Dánsko, 10.-13. 9. 2006

4. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Long-term effects of intranasal calcitonin on healing times and recurrence of acute Charcot foot: a randomized controlled trial. (Abstract). Diabetologia 2006; 49(S1):99-100
   42nd Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Kodaň, Dánsko 14.-17. 9. 2006

5. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Is intranasal calcitonin effective for treating Charcot neuroosteoarthropathy on a long-term basis? (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2007:59
   5th International Symposium on The diabetic foot, Noordwijkerhout, Holansko, 9.-12. 5. 2007

6. Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Maggot debridement therapy in patients with diabetic foot. (Abstract). EWMA Journal 2008; 8(S2):27
   18th Conference of European Wound Management Association, Lisabon, Portugalsko, 14.-16. 5. 2008

7. Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Effect of maggot debridement therapy on diabetic foot infection. (Abstract). DFSG abstract book 2008; 7(1):63
   7th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Lucca , Itálie, 11.-13. 9. 2008

Spoluautor:

1. Dubský M, Jirkovská A, Bém R, Sixta B, Wosková V, Fejfarová V, Řezaninová L: Use of allogenic dermoepidermal grafts can accelerate healing of diabetic foot disease. (Abstract). EWMA Journal 2008; 8(S2):59
   18th Conference of European Wound Management Association, Lisabon, Portugalsko, 14.-16. 5. 2008

2. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Křížová M: Comparison of complications of offloading methods (Total Contact Cast vs. Removable Cast Walker) with focus on osteomyelitis. (Abstract). DFSG Abstract book 2006:62
   6th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Elsinore , Dánsko, 10.-13. 9. 2006

3. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Skibova J: Podiatry in the Czech Republic. (Abstract). EWMA Abstract book 2006:67
   16th Conference of European Wound Management Association, Praha 18.-20. 5. 2006

4. Fejfarová V, Jirkovská A, Křížová M, Bém R, Skibova J: Total contact cast in the treatment of the diabetic foot – its risk and benefit with focused on osteomyelitis. (Abstract). EWMA Abstract book 2006:58
   16th Conference of European Wound Management Association, Praha 18.-20. 5. 2006

5. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Krížová M, Petkov V, Skibová J: The occurrence of resistant pathogens and it´s effect on clinical end-points in patiens with the diabetic foot. (Abstract). DFSG Abstract Book 2008; 7(1):62
   7th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Lucca , Itálie, 11.-13. 9. 2008

6. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Skibova J: Calcium regulating hormone and vitamins in patients with Charcot osteoarthropathy. (Abstract). DFSG Abstract book 2005:31
   5th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Kassandra, Řecko, 7.-10. 9. 2005

7. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Skibova J: Diabetic Foot Care Teams Czech republic. (Abstract). EWMA Abstract book 2006:67
   16th Conference of European Wound Management Association, Praha 18.-20. 5. 2006

8. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Skibova J: Vitamin D deficiency and its dependence on renal insuficiency in patiens with Charcot neuroosteoarthropathy. (Abstract). DFSG Abstract book 2006:26
   6th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Elsinore, Dánsko, 10.-13. 9. 2006

9. Jirkovská A, Bém R, Fejfarová V, Skibova J: Longitudinal Study of Vitamin D Insufficiency and it's Association with Osteoclastic Activity in Patients with Charcot Osteoarthropathy. (Abstract). Diabetes 2007; 56(S1):A67-68
   67th Scientific sessions of Američan Diabetes Association, Chicago, USA, 22.-26. 6. 2007

10. Jirkovská A, Bém R, Dubský M, Wosková V, Sixta B, Hačkajlo D, Řezaninová L, Fejfarová V: Follow-up of amputation rate and related factors in diabetic foot center. (Abstract). EWMA Journal 2008; 8(S2):24
    18th Conference of European Wound Management Association, Lisabon, Portugalsko, 14.-16. 5. 2008

11. Jirkovská A, Bém R, Dubský M, Fejfarová V, Wosková V, Skibová J.: The difference in bone density between Type 1 and non-obese Type 2 diabetic patients with Charcot neuro-osteoarthropathy (Abstract). DFSG Abstract Book 2008; 7(1):34
    7th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Lucca , Itálie, 11.-13. 9. 2008

12. Sixta B, Řezaninová L, Bém R, Jirkovská A: The role of skin xenografts in the treatment of diabetic foot. (Abstract). DFSG Abstract book 2006:40
    6th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Elsinore, Dánsko, 10.-13. 9. 2006

13. Sixta B, Varga M, Jirkovská A, Bém R, Hačkajlo D: Analysis of minor amputation and other surgical interventions in patients with diabetic foot regarding to necessity of their re-hospitalisation. (Abstract). EWMA Journal 2008; 8(S2):25
    18th Conference of European Wound Management Association, Lisabon, Portugalsko, 14.-16. 5. 2008

**Postery s publikovanými abstrakty v zahraničí:**

1. Bém R, Sixta B, Herdegen P, Jirkovská A, Fejfarová V: Usefulness of transcutaneous oxygen tension measurement to predict the healing after amputation in patients with osteomyelitis in diabetic foot. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2003:118
   4th International Symposium on The Diabetic Foot, Noordwijkerhout, Holansko, 22.-24. 5. 2003

2. Bém R, Jirkovská A, Sixta B, Herdegen P, Fejfarová V: Evaluation of transcutaneous oxygen tension measurement for predicting the wound healing after amputation in patients with osteomyelitis in diabetic foot. (Abstract). Diabetes and metabolism 2003; 29(S2):4S294
   18th International Diabetes Federation Congress, Paris, Francie, 24.-29.8. 2003

3. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Rare case reports of Charcot osteoarthropathy of the knee complicated by severe fractures in patients with diabetes. (Abstract). DFSG Abstract book 2004:105
   4th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Regensburg, Německo, 2.-5. 9. 2004

4. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B: Risk factors for unsuccessful healing after minor amputation in patients with diabetic foot. (Abstract). DFSG Abstract book 2005:83
   5th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Kassandra, Řecko, 7.-10. 9. 2005

5. Bém R, Jirkovská A: Acute Charcot of the knee joint in patients with diabetic neuropathy- how do we diagnose? 2005
   4th Minkowski Advanced Postgraduate Course in Clinical Diabetes, Kaunas, Litva, 29.9.- 1.10. 2005

6. Bém R, Jirkovská A, Buncová M, Fejfarová V, Skibova J: The role of quantitative bone scanning in the assessment of bone turnover activity in patients with Charcot foot. (Abstract). Diabet Med 2006; 23(S4):499
   19th International Diabetes Federation Congress, Kapské Město, JAR, 3.-7.12. 2006

7. Bem R, Jirkovská A, Buncová M, Fejfarová V, Skibová J: Quantitative bone scanning in the assessment of bone turnover activity in patients with Charcot foot (Abstract). Diabetes 2007; 56(S1):A284
   67th sessions of American Diabetes Association, Chicago, USA, 22.-26. 6. 2007

8. Bém R, Jirkovská A, Dubský M, Fejfarová V, Lupínková J, Skibová J: Reproducibility of power spectral analysis of heart rate variability in acute and chronic phase of Charcot's neuroarthropathy. (Abstract). Diabetologia 2008; 51(S1):S500-501
   44th Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Řím, Itálie, 7.-11. 9. 2008

Spoluautor:

1. Dubský M, Jirkovská A, Bém R, Fejfarová V, Skibová J, Sixta B, Rezaninová L.: Assesment of Acellular Porcine Dermis as a New Local Treatment of Diabetic Foot Ulcers (Abstract). DFSG Abstract Book 2008; 7(1):86
   7th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Lucca, Itálie, 11.-13. 9. 2008

2. Fejfarová V, Jirkovská A, Havlová V: Tle short and long- lasting effect of structured educational program for patients with type 2 diabetes. (Abstract). Diabetes and metabolism 2003; 29(S2):4S392
   18th International Diabetes Federation Congress, Paris, Francie, 24.-29.8. 2003

3. Fejfarová V, Jirkovská A, Křížová M, Bém R: Complications of TCC treatment with the focus on osteomyelitis. (Abstract). DFSG Abstract book 2004:118
   4th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Regensburg, Německo, 2.-5. 9. 2004

4. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Mášová I, Skibova J: Is there any difference between microscopic and culture mycotic findings from hyperkeratosis and diabetic foot ulcers? (Abstract). DFSG Abstract book 2005:125
   5th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Kassandra, Řecko, 7.-10. 9. 2005

5. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Skibova J: Risk and benefit of total contact cast treatment of the diabetic foot related to osteomyelitis. (Abstract). Diabetologia 2005; 48(S1):A354-355
   41st Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Atény, Řecko 12.-15. 9. 2005

6. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Skibova J, Petkov V: The relation of bacterial antibiotic resistence to lower limb amputations in patiens with the diabetic foot. (Abstract). Diabet Med 2006; 23(S4):498
   19th International Diabetes Federation Congress, Kapské Město, JAR, 3.-7.12. 2006

7. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Hačkajlo D, Skibova J, Lacigová S, Trešlová L: The differences in the type of foot ulcers and related amputation rate among three foot centers. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2003:112
   4th International Symposium on The Diabetic Foot, Noordwijkerhout, Holansko, 22.-24. 5. 2003

8. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Hačkajlo D, Skibova J: Differences in diabetes control and self-monitoring between diabetic patients who have undergone amputation and those with diabetic foot without amputation. (Abstract). Diabetes and metabolism 2003; 29(S2):4S395
   18th International Diabetes Federation Congress, Paris, Francie, 24.-29.8. 2003

9. Jirkovská A, Fejfarová V, Bém R, Hačkajlo D, Skibova J, Lacigová S: Differences in patient characteristics and outcomes of therapy between a regional and non-regional foot centre. (Abstract). DFSG Abstract book 2004:100
   4th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Regensburg, Německo, 2.-5. 9. 2004

10. Jirkovská A, Bém R, Fejfarová V, Skibova J: Vitamin D deficiency and its association with osteoclastic activity in patients with Charcot osteoarthropathy. (Abstract). Diabet Med 2006; 23(S4):496
    19th International Diabetes Federation Congress, Kapské Město, JAR, 3.-7.12. 2006

11. Jirkovská A, Bém R, Hačkajlo D, Sixta B, Fejfarová V, Řezaninová L, Čechová K: Analysis of outcomes related to admissions of patiens with diabetic foot to diabetology department. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2007:129
    5th International Symposium on The diabetic foot, Noordwijkerhout, Holansko, 9.-12. 2007

12. Sedivy J, Jirkovská A, Matala H, Stambergova A, Ulbrichova Z, Lupinkova J, Fejfarová V, Bém R: The importance of minimal inhibition concentration and pharmacokinetic parameters of antibiotics used in the treatment of diabetes foot infections. (Abstract). Diabetologia 2003; 40(S2):A320
    18th International Diabetes Federation Congress, Paris, Francie, 24.-29.8. 2003

13. Sixta B, Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Risk factors for unsuccessful healing after minor amputation in patients with diabetic foot. (Abstract). Diabet Med 2006; 23(S4):494
    19th International Diabetes Federation Congress, Kapské Město, JAR, 3.-7.12. 2006

14. Sixta B, Varga M, Jirkovská A, Bém R, Hačkajlo D, Skibova J: Analysis of minor amputation and other surgical interventions in patients with diabetic foot regarding to necessity of their re-hospitalisation. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2007:253
    5th Symposium on The diabetic foot, Noordwijkerhout, Holansko, 9.-12. 2007

15. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Kožnar B: Comparison of vascular intervention between diabetic patients with non-healing diabetic ulcers and diabetic patients with clinically manifest lower limb ischaemia. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2003:132
    4th International Symposium on The Diabetic Foot, Noordwijkerhout, Holansko, 22.-24. 5. 2003

16. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Dubský M, Čechová K, Řezaninová L: The Neuropad: a simple test to evaluate of diabetic neuropathy and risk of diabetic foot ulcer. (Abstract) EWMA Journal 2008; 8(S2):161
    18th Conference of European Wound Management Association, Lisabon, Portugalsko, 14.-16. 5. 2008

17. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Dubský M., Cechová K., Peregrin J, Koznar B: Is ankle-brachial pressure index sufficient test for indication of percutaneous transluminal angioplasty in patients with diabetic foot ulcers? (Abstract). DFSG Abstract Book 2008; 7(1):68
    7th Scientific Meeting of Diabetic Foot Study Group, Lucca , Itálie, 11.-13. 9. 2008

**Přednášky s publikovanými abstrakty v tuzemsku:**

1. Bém R: Neuropatické fraktury u pacientů s diabetem. (Abstract). Bulletin HPB 2003; 11(1):8
   2. mezioborové sympozium Syndrom diabetické nohy, Praha, 28.3. 2003

2. Bém R, Hrášek J, Pavlů J: Protetická péče o pacienty s diabetickou nohou – speciální vložky a obuv jako součást prevence a léčby diabetické nohy. (Abstract). Bulletin HPB 2004; 12(S1):66
   3. mezioborové sympozium s mezinárodní účastí, Syndrom diabetické nohy, Praha 21.5. 2004

3. Bém R: Syndrom diabetické nohy. 2004
   Interoborové sympozium, Praha, 10.12. 2004

4. Bém R: Pozdní komplikace diabetu. Role sestry při edukaci pacienta s pozdními komplikacemi diabetu. Psychosociální aspekty léčby diabetu. (Abstract). Abstract book 2004:O1
   3. cyklus seminářů pro sestry v diabetologii. Praha, 10.-11.12.2004

5. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Neuropatické defekty- diagnostika a léčba. (Abstract). Diagnóza 2005; 1(1):7
   Mezioborové sympozium Hojení ran, Praha 8.-9.4. 2005

6. Bém R: Syndrom diabetické nohy. 2005
   Diabetes mellitus – vše pro praxi, Poděbrady, 28.5. 2005

7. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Jude EB: Nasální kalcitonin v léčbě akutní Charcotovy neuroosteoarthropatie: randomizovaná kontrolovaná studie. (Abstract). DMEV 2006; 9(S2):16
   XLII. Diabetologické dny v Luhačovicích 20.-22. 4. 2006

8. Bém R, Jirkovská A: Syndrom diabetické nohy. (Abstract). Abstracta 2006:25
   Kurz diabetologie pro praktické lékaře. Praha, 28.-29.4.2006

9. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Aktuality v diagnostice a léčbě Charcotovy osteoarthropatie. (Abstract). Bulletin HPB 2006; 14(4):156-159
   4. mezioborové sympozium s mezinárodní účastí, Syndrom diabetické nohy, Praha 3.11. 2006

10. Bém R: Charcotova osteoarthropatie u pacientů s diabetem. (Abstract). Abstract book 2006
    IV. celostátní kongres České společnosti pro léčbu rány, Pardubice 25.-26.11. 2006.

11. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Wosková V: Dlouhodobý efekt léčby nasálním kalcitoninem u pacientů s Charcotovou osteoarthropatií. Randomizovaná kontrolovaná studie. (Abstract). DMEV 2007; 10(S1):24
    XLIII. Diabetologické dny v Luhačovicích 19.-21. 4. 2007

12. Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Larvální terapie syndromu diabetické nohy. (Abstract). Hojení ran 2008; 2(1):18
    VI. celostátní kongres s mezinárodní účastí České společnosti pro léčbu a hojení ran, Pardubice, 25.-26.1. 2008

13. Bém R: Pozdní komplikace diabetu. 2008
    XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

14. Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Larvální terapie syndromu diabetické nohy a její vliv na eliminaci MRSA u diabetických ulcerací. (Abstract). DMEV 2008; 11(S1):19
    XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

Spoluautor:

1. Engelmann V, Buncová M, Bém R: Korelace vývoje scintigrafie skeletu a klinických nálezů pacientů s Charcotovou osteoarthropatií. (Abstract). Abstract book 2003
   40.dny nukleární medicíny s mezinárodní účastí. Pardubice, 2.-4.10.2003

2. Fejfarová V, Jirkovská A, Křížová M, Bém R, Pavlů J: Nové metody v odlehčení končetin u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). Abstract book 2004
   III. celostátní kongres České společnosti pro léčbu rány, Pardubice 26.-27.11. 2004

3. Fejfarová V, Křížová M, Jirkovská A, Bém R, Pavlů J: Moderní prostředky k fixaci a odlehčení diabetické nohy. (Abstract). Diagnóza 2005; 1(1):13-15
   Mezioborové sympozium Hojení ran, Praha 8.-9.4. 2005

4. Fejfarová V, Jirkovská A, Křížová M, Bém R: Komplikace léčby snímatelnými kontaktními fixacemi se zaměřením na osteomyelitidu. (Abstract). DMEV 2005; 8(S1):17
   XLI. Diabetologické dny v Luhačovicích 21.-23. 4. 2005

5. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Křížová M, Šindelářová V, Mášová I, Skibova J: Mykotické infekce u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2006; 9(S2):21
   XLII. Diabetologické dny v Luhačovicích 20.-22. 4. 2006

6. Fejfarová V, Skořepová M, Jirkovská A, Bém R, Křížová M, Mášová I, Skibova J: Diagnostika a léčba myotických infekcí. (Abstract). Bulletin HPB 2006; 14(4):147-150
   4. mezioborové sympozium s mezinárodní účastí, Syndrom diabetické nohy, Praha 3.11. 2006

7. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Petkov V, Skibova J: Vliv MRSA a ostatních rezistentních patogenů na amputace dolních končetin u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). Hojení ran 2008; 2(1):22
   VI. celostátní kongres s mezinárodní účastí České společnosti pro léčbu a hojení ran, Pardubice, 25.-26.1. 2008

8. Fexová P, Řezaninová L, Janebová J, Jirkovská A, Bém R: Vlastní zkušenosti s měřením transkutánní tenze kyslíku u syndromu diabetické nohy. 2008
   XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

9. Jirkovská A, Lacigová S, Fejfarová V, Bém R, Hačkajlo D, Skibova J, Rušavý Z: Srovnání péče o pacienty se syndromem diabetické nohy ve spádové a v neregionální podiatrické ambulanci. (Abstract). DMEV 2005; 8(S1):24
   XLI. Diabetologické dny v Luhačovicích 21.-23. 4. 2005

10. Jirkovská A, Bém R, Fejfarová V, Skibova J: Regulace kalciového metabolismu u pacientů s Charcotovou osteoarthropatií. (Abstract). DMEV 2006; 9(S2):27
    XLII. Diabetologické dny v Luhačovicích 20.-22. 4. 2006

11. Jirkovská A, Bém R, Fejfarová V, Dubský M, Wosková V, Řezaninová L, Fexová P: Charcot – nemoc stále neznámá. (Abstract). Hojení ran 2008; 2(1):25
    VI. celostátní kongres s mezinárodní účastí České společnosti pro léčbu a hojení ran, Pardubice, 25.-26.1. 2008

12. Jirkovská A, Bém R, Dubský M, Hačkajlo D, Sixta B, Wosková V, Řezaninová L, Čechová K: Amputace a cévní intervence u pacientů se syndromem diabetické nohy v diabetologickém centru. (Abstract). DMEV 2008; 11(S1):19
    XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

13. Řezaninová L, Fexová P, Bém R, Wohl P: Péče o pacienty se syndromem diabetické nohy. (Abstract). 2007
    XIV. kongres české internistické společnosti ČLS JEP ve spolupráci s dalšími odbornými společnostmi. Praha, 16.-19.9.2007

14. Řezaninová L, Fexová P, Bém R, Jirkovská A: Vlastní zkušenosti s V.A.C. terapií u syndromu diabetické nohy. 2008
    XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

15. Sixta B, Herdegen P, Bém R, Fejfarová V: Léčení osteomyelitidy u syndromu diabetické nohy. (Abstract). Bulletin HPB 2001; 9(4):150-152
    Mezioborové sympozium Syndrom diabetické nohy, Praha, 30.11. 2001

16. Sixta B, Herdegen P, Bém R: Zkušenosti s xenotransplantáty při hojení diabetické nohy. (Abstract). Bulletin HPB 2003; 11(1):37-38
    2. mezioborové sympozium Syndrom diabetické nohy, Praha, 28.3. 2003

17. Sixta B, Herdegen P, Bém R: Neobvyklá chirurgická léčba syndromu diabetické nohy. (Abstract). Bulletin HPB 2004; 12(S1):58-59
    3. mezioborové sympozium s mezinárodní účastí, Syndrom diabetické nohy, Praha 21.5. 2004

18. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Kožnar B: Je nehojící se diabetická ulcerace bez klinicky manifestní ischemické choroby dolních končetin vhodnou indikací k angiografii? (Abstract). DMEV 2003; 6(S1):64
    XXXIX. Diabetologické dny v Luhačovicích 24.-26. 4. 2003

19. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Dubský M, Čechová K, Řezaninová L: Diagnostika neuropatie a posouzení rizika diabetických ulcerací indikačním testem Neuropad. (Abstract). DMEV 2008; 11(S1):35-36
    XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

**Postery s publikovanými abstrakty v tuzemsku:**

1. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Patologické fraktury na podkladě diabetické neuropatie. (Abstract). DMEV 2003; 6(S1):17
   XXXIX. Diabetologické dny v Luhačovicích 24.-26. 4. 2003

2. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Klementová M: Využití lokálního podtlaku v léčbě pacientů se syndromem diabetické nohy- první zkušenosti s V.A.C. terapií. (Abstract). DMEV 2004; 7(S1):11
   XL. Diabetologické dny v Luhačovicích 22.-24. 4. 2004

3. Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B, Herdegen P: Rizikové faktory neúspěšného hojení rány po nízké amputaci u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2005; 8(S1):11-12
   XLI. Diabetologické dny v Luhačovicích 21.-23. 4. 2005

Spoluautor:

1. Dubský M, Jirkovská A, Bém R, Sixta B, Fejfarová V, Řezaninová L: Použití allogenních dermoepidermálních krytí urychluje hojení ran u syndromu diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2008; 11(S1):56-58
   XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

2. Fejfarová V, Jirkovská A, Křížová M, Bém R, Skibova J: Srovnání léčby pacientů s neuropatickými ulceracemi, akutní Charcotovou osteoarthropatií a neuropatickými frakturami pomocí kontaktních fixací. (Abstract). DMEV 2004; 7(S1):15
   XL. Diabetologické dny v Luhačovicích 22.-24. 4. 2004

3. Fejfarová V, Jirkovská A, Bém R, Křížová M, Skibova J: Komplikace léčby snímatelnými kontaktními fixacemi a ortézami walker se zaměřením na osteomyelitidu. . DMEV 2008; 11(S1):56
XLIV. Diabetologické dny v Luhačovicích 16.-19. 4. 2008

4. Herdegen P, Sixta B, Bém R, Fejfarová V: Léčení osteomyelitidy u syndromu diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2003; 6(S1):23-24
XXXIX. Diabetologické dny v Luhačovicích 24.-26. 4. 2003

5. Jirkovská A, Bém R, Hačkajlo D, Sixta B, Wosková V, Řezaninová L, Čechová K: Analýza tříletých zkušeností z hospitalizací pacientů se syndromem diabetické nohy – kde jsou rezervy? (Abstract). DMEV 2007; 10(S1):48-49
XLIII. Diabetologické dny v Luhačovicích 19.-21. 4. 2007

6. Šedivý J, Jirkovská A, Hatala M, Štamberková A, Ulbrichova Z, Lupinkova J, Fejfarová V, Bém R: Předpoklad úspěšnosti antibiotické léčby nemocných se syndromem diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2003; 6(S1):52-53
XXXIX. Diabetologické dny v Luhačovicích 24.-26. 4. 2003

7. Wosková V, Jirkovská A, Bém R, Čechová K, Peregrin J, Kožnar B: Význam dopplerovského vyšetření pro indikaci PTA u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2007; 10(S1):50
XLIII. Diabetologické dny v Luhačovicích 19.-21. 4. 2007

# 11 Seznam příloh dizertační práce

Příloha č. 1: Bem R, Jirkovska A, Fejfarova V, Skibova J, Jude EB: Intranasal calcitonin in the treatment of acute Charcot neuroosteoarthropathy: a randomized controlled trial. Diabetes Care 2006; 29(6):1392-4 IF 2006 = 7,912

Příloha č. 2: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Intranasal calcitonin in the treatment of Acute Charcot neuroosteoarthropathy including patients with renal insufficiency: a randomized controlled trial. (Abstract). Diabetologia 2005; 48(S1):A82

Příloha č. 3: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Jude EB: Nasální kalcitonin v léčbě akutní Charcotovy neuroosteoarthropatie: randomizovaná kontrolovaná studie. (Abstract). DMEV 2006; 9(S2):16

Příloha č. 4: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Effect of intranasal calcitonin on healing times in patients with acute Charcot foot: A randomized controlled trial. (Abstract). DFSG Abstract book 2006:27

Příloha č. 5: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Long-term effects of intranasal calcitonin on healing times and recurrence of acute Charcot foot: a randomized controlled trial. (Abstract). Diabetologia 2006; 49(S1):99-100

Příloha č. 6: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J: Is intranasal calcitonin effective for treating Charcot neuroosteoarthropathy on a long-term basis? (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2007:59

Příloha 7: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Wosková V: Dlouhodobý efekt léčby nasálním kalcitoninem u pacientů s Charcotovou osteoarthropatií. Randomizovaná kontrolovaná studie. (Abstract). DMEV 2007; 10(S1):24

Příloha 8: Bém R, Jirkovská A, Buncová M, Fejfarová V, Skibova J: The role of quantitative bone scanning in the assessment of bone turnover activity in patients with Charcot foot. (Abstract). Diabet Med 2006; 23(S4):499

Příloha 9: Bem R, Jirkovská A, Buncová M, Fejfarová V, Skibová J: Quantitative bone scanning in the assessment of bone turnover activity in patients with Charcot foot (Abstract). Diabetes 2007; 56(S1):A284

Příloha 10: Jirkovska A, Boucek P, Wu S, Hosova J, Bem R, Fejfarova V, Skibova J: Power spectral analysis of heart rate variability in patients with Charcot's neuroarthropathy. J Am Podiatr Med Assoc 2006; 96(1):1-8 IF 2006 = 0,549

Příloha 11: Bém R., Jirkovská A., Dubský M., Fejfarová V., Lupínková J., Skibová J.: Reproducibility of power spectral analysis of heart rate variability in acute and chronic phase of Charcot’s neuroarthropathy. (Abstract), Diabetologia 2008; 51(S1):S500-501

Příloha 12: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Rare case reports of Charcot osteoarthropathy of the knee complicated by severe fractures in patients with diabetes. (Abstract). DFSG Abstract book 2004:105

Příloha 13: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V: Patologické fraktury na podkladě diabetické neuropatie. (Abstract). DMEV 2003; 6(S1):17

Příloha 14: Bém R, Fejfarová V, Jirkovská A: Neuropatické fraktury v oblasti kolenního kloubu u pacientů s diabetem. DMEV 2006; 9(2):63-67

Příloha 15: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B, Herdegen P: Determinants and estimation of wound healing achievement after minor amputation in patients with diabetic foot. EWMA Journal 2006; 6(2):27

Příloha 16: Bém R, Sixta B, Herdegen P, Jirkovská A, Fejfarová V: Usefulness of transcutaneous oxygen tension measurement to predict the healing after amputation in patients with osteomyelitis in diabetic foot. (Abstract). The Diabetic Foot Programme and Abstract book 2003:118

Příloha 17: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B: Risk factors for unsuccessful healing after minor amputation in patients with diabetic foot. (Abstract). DFSG Abstract book 2005:83

Příloha 18: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B, Herdegen P: Rizikové faktory neúspěšného hojení rány po nízké amputaci u pacientů se syndromem diabetické nohy. (Abstract). DMEV 2005; 8(S1):11-12

Příloha 19: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Skibova J, Sixta B: Determinants and estimation of wound healing achievement after minor amputation in patients with diabetic foot. (Abstract) EWMA Abstract book 2006:58

Příloha 20: Jirkovská A, Bém R, Novotný K, Řezaninová L, Čechová K: Larvální léčba ran se zaměřením na syndrom diabetické nohy. Prakt Lek 2007; 87(9):559-562

Příloha 21: Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Maggot debridement therapy in patients with diabetic foot. (Abstract). EWMA Journal 2008; 8(S2):27

Příloha 22: Bém R, Jirkovská A, Novotný K, Fejfarová V, Dubský M, Řezaninová L, Fexová P: Larvální terapie syndromu diabetické nohy a její vliv na eliminaci MRSA u diabetických ulcerací. (Abstract). DMEV 2008; 11(S1):19

Příloha 23: Bém R., Jirkovská A., Novotný K.,Fejfarová V., Dubský M., Řezaninová L., Fexová P.: Effect of maggot debridement therapy on diabetic foot infection. (Abstract). DFSG Abstract book 2008; 7(1):63

Příloha 24: Bém R, Fejfarová V, Jirkovská A: Terapie syndromu diabetické nohy pomocí řízeného podtlaku (V.A.C. - Vacuum Assisted Closure). Prakt Lek 2006; 86(5):268-70

Příloha 25: Bém R, Jirkovská A, Fejfarová V, Klementová M: Využití lokálního podtlaku v léčbě pacientů se syndromem diabetické nohy- první zkušenosti s V.A.C. terapií. (Abstract). DMEV 2004; 7(S1):11