



**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**  
**3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA**



Klinika nefrologie transplantcentrum IKEM

**Lidmila Francová**

**Rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění  
po transplantaci ledviny**

*Risk factors of cardiovascular disease after renal  
transplantation*

Diplomová práce

Praha, 2010

Autorka práce: Lidmila Francová

Studijní program: Všeobecné lékařství (M5103)

Magisterský studijní obor: Všeobecné lékařství

Vedoucí práce: **MUDr. Olga Marečková, CSc.**

Pracoviště vedoucího práce: **Klinika nefrologie transplantcentrum**

**IKEM**

Datum a rok obhajoby: červen 2010

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem předkládanou práci zpracovala samostatně a použila jen uvedené prameny a literaturu. Současně dávám svolení k tomu, aby tato diplomová práce byla používána ke studijním účelům.

Prohlašuji, že odevzdaná tištěná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do Studijního informačního systému (SIS 3.LF UK) jsou totožné.

V Praze dne 17. 6. 2010

Lidmila Francová

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala své školitelce MUDr. Olze Marečkové, CSc. za vedení a předání cenných zkušeností v oblasti klinického výzkumu a také za její důvěru v mou práci, která vyústila v prezentaci výsledků této diplomové práce na mezinárodním fóru. Děkuji též prof. MUDr. Vladimíru Teplanovi, DrSc. za ochotu přijmout mě do výzkumného grantu. Dále můj dík patří sesterskému týmu dokumentace a clearancové laboratoře KN TC IKEM, za všechny jmenuji alespoň Milenu Štollovou.

Děkuji též svému manželovi Pavlovi za uvedení do problematiky statistiky a typografie dokumentů.

Nakonec bych ráda poděkovala tvůrcům open-source software, který jsem použila při zpracování textů, a to především projektu OpenOffice.org, ve kterém jsem práci psala.

# Obsah

ÚVOD.....	6
CÍLE.....	7
1 RIZIKOVÉ FAKTORY.....	8
1.1 KLASICKÉ RIZIKOVÉ FAKTORY.....	9
1.1.1 Věk.....	9
1.1.2 Pohlaví.....	9
1.1.3 Kouření.....	10
1.1.4 Hypertenze.....	11
1.1.5 Dyslipidémie.....	14
1.1.6 Obezita.....	15
1.1.7 Metabolický syndrom.....	16
1.1.8 Homocystein.....	17
1.2 NETRADIČNÍ RIZIKOVÉ FAKTORY.....	17
1.2.1 Molekuly o malé hmotnosti.....	18
1.2.2 Molekuly o střední hmotnosti.....	18
1.2.3 Charakteristiky jednotlivých markerů.....	19
2 METODIKA.....	22
2.1 SBĚR DAT.....	22
2.2 LABORATORNÍ METODY.....	22
2.3 STATISTICKÉ METODY.....	22
2.4 KONTROLNÍ SKUPINA.....	23
3 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA SOUBORU.....	24
3.1 VĚK.....	24
3.2 POHLAVÍ.....	24
3.3 KOUŘENÍ.....	24
3.4 OBEZITA/NADVÁHA A BMI.....	25
3.5 DOBA DIALÝZY.....	26
3.6 DIABETICKÁ NEFROPATIE.....	26
3.7 HOMOCYSTEIN.....	27
3.8 SOUHRN OBECNÉ CHARAKTERISTIKY.....	27
4 VÝSLEDKY A DISKUSE.....	28
4.1 PAPP-A.....	28
4.2 sRAGE.....	30
4.3 MMP-2.....	31
4.4 MMP-9.....	31
4.5 SOUHRN NOVÝCH MARKERŮ.....	32
ZÁVĚR.....	34
SOUHRN.....	35
SUMMARY.....	38
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	41
SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ.....	46

## Úvod

Při zpracovávání své diplomové práce jsem získala nové zkušenosti z oblasti klinické medicíny a vědeckého výzkumu. Vždy jsem více inklinovala k interním oborům a díky vstřícnosti paní doktorky Marečkové jsem získala možnost spolupracovat s Klinikou nefrologie IKEM.

V České republice se v současné době léčí náhradou funkce ledvin, dialýzou a transplantací, 924 nemocných na milion obyvatel. Z toho 469 nemocných je v hemodialyzačním a 39 v peritoneálním programu dialýzy. Bylo provedeno 416 úspěšných transplantací. To vše za rok 2007 dle Statistické ročenky České nefrologické společnosti.

Chronické selhání ledvin vyžadující náhradu funkce se v ekonomicky vyspělých zemích vyskytuje u 0,05 až 0,1 % populace. Náklady na léčbu ale představují 1-2 % všech nákladů na zdravotní péči. Jde tedy o problém nejen medicínský, ale i ekonomický. Proto je velmi zásadní zabývat se riziky, která jsou spojená s náhradou funkce ledvin.

Má práce je součástí výzkumného grantu číslo NR 9398 s názvem „Netradiční rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění po transplantaci ledviny“ vedené Prof. MUDr. Vladimírem Teplanem, DrSc.

U nemocných v chronickém selhání ledvin je vysoký výskyt kardiovaskulárních onemocnění. Jsou zde jednak obecně uznávané rizikové faktory, ale nově se diskutují i tzv. netradiční rizikové faktory, které jsou charakteristické pro chronické selhání ledvin. Cílem výše zmíněného grantu je zjistit asociaci těchto rizikových faktorů s parametry aterosklerózy. Určit změny a vzájemné korelace a souvislost změn s rozvojem funkce štěpu a typem použité imunosupresní léčby.

Jasný cíl, klinický dopad a preventivní zaměření byly hlavní motivací pro zvolení tohoto tématu práce.

## Cíle

Tato diplomová práce je vedlejším produktem výše zmíněného grantu. Má za cíl popsat klasické a nové rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění před transplantací ledviny i po ní, nalézt změny a vzájemné korelace změn s rozvojem funkce štěpu a typem použité imunosupresní léčby.

Práce obecně charakterizuje soubor 120 pacientů. Zjišťuje asociaci a změny markerů rizikových faktorů v časovém horizontu jednoho roku po transplantaci.

Konkrétně to znamená charakteristiku souboru pacientů, jejich počet, věkové rozložení, zastoupení pohlaví a zda jsou kuřáky. Hodnocení tíže hypertenze, dyslipidemie a obezity.

Z nových rizikových faktorů budeme sledovat hodnoty solubilního receptoru produktů pokročilé glykace (sRAGE), těhotenského plazmatického proteinu A (PAPP-A), metaloproteináz (MMP) a homocysteinu.

Pacienti měli celkové kontroly po 3, 6 a 12 měsících od transplantace. V současné době pokračuje sběr dat. Moje práce zpracovává data před transplantací a tři měsíce po ní.

# 1 Rizikové faktory

Rizikové faktory můžeme obecně definovat jako charakteristiky, které se častěji vyskytují u osob zdravých, respektive osob bez klinické manifestace určitého onemocnění, ale ohrožených rozvojem tohoto onemocnění v pozdějším věku.

Byla identifikována řada rizikových faktorů a panuje shoda v klasifikaci základních rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění. Dělíme je na modifikovatelné a nemodifikovatelné (tabulka 1).

Ke klasickým rizikům přistupují také faktory životního stylu jako je např. strava energeticky bohatá a/nebo satureovaná tuky a cholesterolem, kouření, etylismus a nízká fyzická aktivita (CÍFKOVÁ, 2006).

V dalších kapitolách se blíže zabývám jednotlivými klasickými a novými rizikovými faktory, které jsou důležité pro mou práci.

*Tabulka 1: Rizikové faktory spojené se zvýšeným rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění*

modifikovatelné	<ul style="list-style-type: none"><li>• hypertenze</li><li>• dyslipidémie (zvýšený celkový cholesterol, snížený HDL-cholesterolu a zvýšené TAG)</li><li>• zvýšená glykemie/diabetes</li><li>• nadváha/obezita</li><li>• trombogenní faktory</li><li>• markery chronického zánětu</li></ul>
nemodifikovatelné	<ul style="list-style-type: none"><li>• věk</li><li>• pohlaví</li><li>• předčasný výskyt kardiovaskulárních onemocnění v rodině nebo v osobní anamnéze</li><li>• genetické markery</li></ul>



## ***1.1 Klasické rizikové faktory***

### **1.1.1 Věk**

Ve vyšších věkových skupinách stoupají patologické změny spojené s aterosklerózou, hypertenzí a diabetem. Při procesu stárnutí též dochází ke změnám ve složení organismu. Zmenšením celkové tělesné vody a zvětšením distribučního prostoru jsou senioři ohroženi větší závažností deficitu tekutin. Také změny v oběhovém systému jsou výrazné. Jsou to např. pokles průtoku krve jednotlivými orgány, pokles poddajnosti levé komory srdeční, degenerativní změny chlopní, pokles kapacity převodního systému, snížení elasticity tepen s poruchou funkce pružníku, zhoršení citlivosti baroreceptorů a zhoršená adaptace na zátěž. Proto je zde riziko náhlé dekompenzace zdravotního stavu.

Změny ve vylučovacím systému jsou nejvíce patrné na poklesu glomerulární filtrace. V osmdesáti letech dochází k jejímu poklesu asi o 50 %. Pokles maximální koncentrační schopnosti je asi o 25 % v sedmém deceniu. Poruchy ledvinné exkrece, snadnější retence farmak a změna jejich citlivosti činí farmakoterapii ve stáří riskantnější (KALVACH, 2006).

### **1.1.2 Pohlaví**

Ženy před menopauzou mají 2,5-4,5krát nižší relativní riziko úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění. Snížená incidence kardiovaskulárních onemocnění u žen vůči mužům je známá také v populacích s rozdílnou životní úrovní. Výskyt ischemické choroby srdeční se u žen ve srovnání s muži opoždí o 10-15 let a rozdíly v morbiditě a mortalitě se vyrovnávají přibližně ve věku 75 let. Příčiny této nerovnosti jsou v ochranném působení ženských pohlavních hormonů, především estrogenů.

Estrogeny mají vazorelaxační účinek, a to díky zvýšené expresi syntázy oxidu dusnatého, snížené expresi receptoru pro angiotenzin a endotelin 1, zvýšené expresi cyklooxygenázy a produkci prostacyklinu. Estrogeny také zasahují do metabolismu lipidů. Zvyšují tvorbu VLDL a hladiny TAG, rovněž zvyšují LDL-

receptory v játrech. Taktéž zasahují do metabolismu homocysteinu, neboť u postmenopauzálních žen dochází ke zvyšování hladiny homocysteinu; přesný mechanismus ale není dosud známý.

Estrogeny ovlivňují permeabilitu endotelu, inhibují migraci, proliferaci hladkých svalových buněk cév a syntézu kolagenu. Estrogeny podporují i novotvorbu cév stimulací angiogenetických růstových faktorů.

Na druhé straně mají ale i nepříznivé účinky. Podání estrogenů bylo spojeno se vzestupem aktivit metaloproteináz (MMP-9) cévní stěny. Nežádoucí účinek se též projevil oslabením vazivové slupky ateromu vedoucí k jeho nestabilitě a následné manifestaci aterotrombotických příhod.

V současnosti převládá názor, že estrogeny mají prokoagulační účinky. Ty jsou zvláště nápadné při souběhu dalších rizikových faktorů trombózy. Hormonální substituční terapie a kouření zvyšuje incidenci trombotických komplikací asi 20krát (ŽÁK, 2004a).

### **1.1.3 Kouření**

Žádný jiný relativně odstranitelný rizikový faktor nezabíjí tolik lidí jako kouření. Bylo prokázáno nejen to, že kouření škodí, ale také to, že zanechání kouření lidem pomáhá. Kouření škodí nejen kuřákům, ale i v podobě pasivního kouření jejich blízkým, zejména dětem. Vědecké studie přinesly věrohodné důkazy o nebezpečnosti pasivního kouření. Odhaduje se, že v České republice zemře předčasně v důsledku kouření 22 000 lidí, což představuje 62 zbytečných úmrtí denně.

Současné názory na vztah kouření a kardiovaskulárních nemocí se opírají o tisíce prací. Z nich vyplývá, že riziko vzniku kardiovaskulárních nemocí vzrůstá s počtem vykouřených cigaret. Týká se to jak mužů, tak žen. Výsledky některých studií dokonce poukazují na vyšší ohrožení u žen. Byla prokázána interakce mezi kouřením a dalšími rizikovými faktory, jako je zvýšený cholesterol, diabetes a změny na EKG.

Mechanismus, kterým se kouření uplatňuje při vzniku a horším průběhu srdečně-cévních nemocí, je stále předmětem studia a diskuse. Uplatňuje se chronický i akutní vliv kouření. Bezprostředním účinkem nikotinu jsou adheze trombocytů, koronární konstriktce a tachykardie. Kouření má také přímý vliv na vznik a akceleraci arteriosklerotických procesů. Studie na dvojčatech (jedno kouřilo, druhé ne) prokázaly, že plaky na karotidách byly u jedinců kouřících 3krát větší než u nekouřících osob.

Kouření je nejen medicínský problém, ale i závažný problém ekonomický, psychologický, legislativní a politický (HOLČÍK-KOUPILOVÁ, 2004).

#### **1.1.4 Hypertenze**

Arteriální hypertenze pro svou vysokou prevalenci (25-35 %) v dospělé populaci a v průmyslově vyspělých státech představuje závažný zdravotní problém. Hovoříme o tzv. neinfekční epidemii. Prevalence hypertenze je také závislá na věku, pohlaví a rase. Výskyt hypertenze výrazně narůstá s věkem. Ve věku nad 50 let tímto onemocněním trpí více než 50 % obyvatel. U žen je až do klimakteria méně častá než u mužů, pak její výskyt narůstá a v 6. a 7. deceniu převyšuje procento výskytu u mužů (CÍFKOVÁ-STŘÍBRNÁ, 2006).

Prevalence hypertenze v ČR v dospělé populaci ve věku 25-64 let se pohybuje kolem 35% s největším nárůstem ve vyšších věkových skupinách (CÍFKOVÁ-STŘÍBRNÁ, 2006).

Hypertenze obecně zdvojnásobuje riziko kardiovaskulárních onemocnění a výrazně akceleruje aterosklerózu. Je považována za významný rizikový faktor pro ischemickou chorobu srdeční, cévní mozkové příhody, ischemickou chorobu dolních končetin, srdeční a renální selhání. Riziko těchto komplikací narůstá kontinuálně s výškou krevního tlaku (TK), a to již v rozmezí tzv. vysokých normálních hodnot, tj. systolický krevní tlak 130-139 mmHg a diastolický krevní tlak 85-89 mmHg (CÍFKOVÁ-STŘÍBRNÁ, 2006).

Podle doporučení Evropské společnosti pro hypertenzi a Evropské kardiologické společnosti z roku 2003 považujeme za arteriální hypertenzi

(systolicko-diastolickou) u osob nad 18 let opakovaně zjištěné zvýšení TK nad hodnoty 140/90 mmHg nebo vyšší alespoň u dvou ze tří měření TK, pořízených při dvou různých návštěvách.

Hypertenzi můžeme klasifikovat podle výše tlaku krve, podle vývojových stadií (toto dělení bylo Světovou zdravotnickou organizací již opuštěno) a podle etiologie (tabulka 2).

*Tabulka 2: Klasifikace normotenze a hypertenze podle výšky krevního tlaku*

	systolický TK (mmHg)	diastolický TK (mmHg)
normotenze <ul style="list-style-type: none"> <li>• optimální TK</li> <li>• normální TK</li> <li>• vyšší normální TK</li> </ul>	pod 140 <ul style="list-style-type: none"> <li>• pod 120</li> <li>• 120-129</li> <li>• 130-139</li> </ul>	pod 90 <ul style="list-style-type: none"> <li>• pod 80</li> <li>• 80-84</li> <li>• 85-89</li> </ul>
hypertenze <ul style="list-style-type: none"> <li>• stupeň 1 (mírná)</li> <li>• stupeň 2 (středně závažná)</li> <li>• stupeň 3 (těžká)</li> </ul>	nad nebo rovno 140 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 140-159</li> <li>• 160-179</li> <li>• nad nebo rovno 180</li> </ul>	nad nebo rovno 90 <ul style="list-style-type: none"> <li>• 90-99</li> <li>• 100-109</li> <li>• nad nebo rovno 110</li> </ul>

Klasifikace hypertenze podle etiologie se dělí na hypertenzi primární (esenciální), kde sice známe řadu patogenetických mechanismů, avšak vlastní vyvolávající příčina je neznámá, a sekundární hypertenzi nebo také symptomatickou hypertenzi, u nichž zvýšení TK je jen příznakem jiného primárního onemocnění se známou příčinou (renální, renovaskulární endokrinní, atd.).

Esenciální hypertenze je multifaktoriální onemocnění. Tlak krve je zde určován komplexní interakcí tří základních mechanismů : genetických faktorů, vlivů zevního prostředí a aktivity endogenních regulačních mechanismů.

Genetické faktory zahrnují asi 20-40 % variability TK u člověka. U esenciální hypertenze se nejvíce podílí geny, které interagují mezi sebou navzájem a také s faktory zevního prostředí. Jedná se tedy o polygenní a multifaktoriální typ

dědičnosti. Monogenní typ dědičnosti je vzácný a je vyhrazen pouze pro pár forem sekundární hypertenze.

Z faktorů zevního prostředí se na patogenezi esenciální hypertenze uplatňuje především nadměrný přívod kuchyňské soli, nedostatečný přívod draslíku, nadměrný energetický příjem s vývojem obezity, etylismus a opakující se stresové situace.

Z endogenních vlivů se vedle centrálního a periferního sympatoadrenálního nervového systému uplatňuje celá řada humorálních působků (tabulku 3). Tyto působky mají buď vazokonstrikční, natriumretenční a zároveň stimulační růst nebo působí vazorelaxačně, natriureticky a antiproliferačně. Hypertenze může obecně vzniknout v důsledku absolutního nebo relativního nadbytku vazopresorických nebo nedostatku vazorelaxačních působků, což vede ke zvýšení periferní cévní rezistence (HORKÝ-WIDIMSKÝ, 2004).

*Tabulka 3: Hlavní vazoaktivní humorální působky podílející se na regulaci krevního tlaku a patogenezi hypertenze*

vazokonstrikční působky	vazodilatační působky
<ul style="list-style-type: none"><li>• katecholaminy</li><li>• renin-angiotenzinový systém</li><li>• vazopresin</li><li>• endotelin</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• dopamin</li><li>• kalikrein-kininový systém</li><li>• natriuretické peptidy (ANP, BNP)</li><li>• oxid dusnatý</li></ul>

Je dlouho známo, že špatně korigovaná hypertenze představuje rozhodující rizikový faktor urychlující progresi chronických nefropatií autologních i transplantovaných ledvin. Na druhé straně různé intervenční studie prokázaly, že dobře kontrolovaná hypertenze progresi onemocnění výrazně zpomaluje. Výsledky studie MDRD (Modification of diet in renal disease) ukázaly, že progresi renálního selhání byla nejpomalejší u nemocných s nejnižším krevním tlakem. Poznatky ze studie MDRD vytvořily současná doporučení léčby nemocných v chronickém selhání ledvin, a to dosáhnout cílového krevního tlaku 130/80 (VIKLICKÝ, 2006a).

### 1.1.5 Dyslipidémie

Pro komplexnost metabolických odchylek v lipidovém spektru je možné používat označení dyslipoproteinémie. Ten vyjadřuje skutečnost, že u nemocných nemusí být přítomné pouhé zvýšení jedné nebo více hodnot lipidů a lipoproteinů – jde spíše o nerovnováhu poměrů v celém lipidovém spektru. Obě označení – hyperlipoproteinémie a dyslipoproteinémie – se však běžně používají jako synonyma.

Hyperlipoproteinémie představuje skupinu metabolických onemocnění hromadného výskytu, která jsou charakterizovaná zvýšenou koncentrací lipidů a lipoproteinů v plazmě. Vznikají v důsledku zvýšené syntézy nebo sníženého katabolismu lipoproteinových částic, které transportují tuky v plazmě.

Hyperlipoproteinémie jsou primární geneticky podmíněné, a sekundární, které jsou průvodním znakem základního onemocnění (př. hypotyreózy, nefrotického syndromu, diabetu a dalších). Hyperlipoproteinémie není obezita; zvýšené množství podkožního a viscerálního tuku může, ale nemusí být provázeno zvýšenými koncentracemi lipidů a lipoproteinů v plazmě (ČEŠKA-ASCHERMANN, 2004).

Výskyt hyperlipoproteinémie je nejenom spojený s výrazným zvýšením rizika rozvoje aterosklerotických změn, ale může se výrazně podílet i na progresi chronické renální insuficience a chronické rejekce po transplantaci (TEPLAN, 2006).

Zásadní význam pak měly velké epidemiologické studie, které prokázaly souvislost výskytu aterosklerózy a jejích komplikací s hodnotami celkového cholesterolu – především LDL-cholesterolu a nízkých koncentrací HDL-cholesterolu. Posledními z lipidů, u kterých se prokázalo spojení se zvýšeným kardiovaskulárním onemocněním, byly triglyceridy (ČEŠKA-ASCHERMANN, 2004).

### 1.1.6 Obezita

Podstatou obezity je nahromadění tukové tkáně v důsledku dlouhodobé pozitivní energetické bilance. V České republice se za posledních 15 let zvýšil podíl obézních z necelé pětiny na zhruba čtvrtinu. Obézní je u nás tedy každý čtvrtý dospělý. Nepochybnou příčinou tak značného rozšíření obezity je převaha příjmu energie nad jejím výdejem. Náš životní způsob, většina povolání, způsoby trávení volného času, velká míra stresu a uklidňující vliv potravy vytvářejí silně obezitogenní populaci.

V etiologii a patogenezi obezity je mnoho nejasného. Obezitu vyvolává kombinace faktorů zevních a genetických.

Pro genetické faktory svědčí rodinný výskyt a vedle skutečně dědičných faktorů má vliv i rodinné prostředí a zvyklosti. Existují některé velmi vzácné geneticky zakotvené monogenní syndromy spojené s obezitou. Pro běžně se vyskytující formy obezity platí ale dědičnost polygenně podmíněná. Dosud ale nebyl objeven přesvědčivý genetický faktor.

Mezi typické faktory prostředí patří přejídání – jak kvantitativně (velké množství stravy), tak kvalitativně (potraviny s vysokým obsahem tuku a nízký příjem vlákniny). Typický obézní pacient žije ve stresu, má malý energetický výdej a tendenci uklidňovat se jídlem. Proto je tak důležitá v prevenci i léčbě obezity fyzická aktivita.

Pro diagnostiku obezity se používá stanovení tělesné hmotnosti vážením a zjištěná hodnota je vztažena k tělesné výšce (tzv. BMI – body mass index). Hmotnost může být ovlivněna hydratací, zejména při edémech. BMI také nezohledňuje množství svalové hmoty. Z mnoha indexů tělesné hmotnosti se prosadil právě BMI právě kvůli své jednoduchosti a dosažitelnosti. Na základě řady epidemiologických studií bylo stanoveno normální BMI v rozmezí 18,5-25. Obezita je definována nad 30 a nadváha je v rozmezí 25-30 (tabulka 4).

Tabulka 4: Kategorie BMI a sdružených zdravotních rizik

BMI	Kategorie	Rizika
18,5-24,9	norma	minimální
25,0-29,9	nadváha	nízká až lehce vyšší
30,0-34,9	I.stupeň	zvýšená
35,0-39,9	II.stupeň	vysoká
nad 40	III.stupeň	velmi vysoká

prognózy pacienta vyžaduje rozlišit mezi fyziologickým a patologickým ukládáním tuku. U žen především v oblasti hýždí a stehen, tzv. gynoidní obezita (typ hruška) a u mužů hromadění tukové tkáně v dutině břišní, tzv. androidní, abdominální obezita (typ jablko). Androidní obezita je rizikovým faktorem pro rozvoj metabolického syndromu. Nejlepším ukazatelem androidní distribuce tuku je obvod pasu. Rizikové jsou hodnoty u mužů nad 94 cm (zvýšené riziko) a nad 102 cm (vysoké riziko). U žen je to 80 cm a 88 cm.

Metabolické komplikace obezity jsou sdruženy pod pojmem metabolický syndrom (viz níže). Nechápe se dnes jako komplikace, protože mají společnou patogenezi. Obezita je příčinou diabetu 2. typu a hypertenze. Stejně však i opačně - hypertenze či diabetes 2. typu výrazně předpovídají vzestup hmotnosti. Nemá cenu hledat, co je příčina a co následek. Je důležité, že riziko metabolických projevů obezity významně klesá již při poklesu hmotnosti o 5-10%. Proto dnes převažuje léčebná strategie mírného hmotnostního úbytku, která je dosažitelná pro každého pacienta (SVAČINA, 2006a).

### **1.1.7 Metabolický syndrom**

Metabolický syndrom, nazývaný též metabolický syndrom X, Reavenův syndrom nebo syndrom inzulinové rezistence, je jedním z nejčastějších onemocnění. Při použití dnes platných definic je výskyt onemocnění v dospělé evropské populaci 30%.

Dnes se pokládá za primární porucha inzulinové rezistence a ostatní složky k ní mají vazbu. Dle nové definice IDF (International Diabetes Federation) z roku 2005 zahrnuje centrální obezitu a pacient by měl splňovat alespoň dvě z následujících čtyř kritérií:

- krevní tlak nad 130/85 mmHg,
- glykemii nad 6,0 mmol/l,
- triacylglyceroly nad 1,7 mmol/l,



- HDL-cholesterol u žen nad 1,25 mmol/l, u mužů nad 1,0 mmol/l (SVAČINA, 2006b).

### **1.1.8 Homocystein**

Homocystein je neesenciální sírná aminokyselina, je meziproduktem metabolické přeměny methioninu na cystein. Již v polovině devadesátých let bylo prokázáno, že hyperhomocysteinémie je nezávislým rizikovým faktorem onemocnění kardiovaskulárního aparátu.

Hyperhomocysteinémie koreluje s úrovní hypertenze. Pravděpodobný mechanismus účinku zahrnuje homocysteinem indukovanou vazokonstrikci, renální dysfunkci, zvýšenou reabsorpci sodíku a pokles poddajnosti arterií.

Hyperhomocysteinémie je též cytotoxická vůči cévní stěně. Díky tomu indukuje aterotrombózu a oxidační stres.

Pacienti s chronickou renální insuficiencí vykazovali 2-4krát vyšší koncentrace celkového homocysteinu než kontrolní osoby. Existuje zde těsná korelace koncentrací homocysteinu a kreatininu s glomerulární filtrací. U onemocnění ledvin je zvýšená hladina homocysteinu v důsledku poruchy metabolismu homocysteinu, nikoli kvůli jeho snížené exkreci. Po transplantaci ledviny se hyperhomocysteinémie přisuzuje vlivu cyklosporinu (ŽÁK, 2004b).

## **1.2 Netradiční rizikové faktory**

Chronické onemocnění ledvin je spojeno se zadržováním některých solutů, které jsou běžně odstraňovány močí. Za normálních podmínek obsahuje glomerulární filtrát molekuly o hmotnosti do 58 000 Da. Kromě toho jsou ledvinami metabolizovány (ne filtrovány) i některé molekuly větší. Všechny tyto substance mohou být při renálním selhání zadržovány a mohou se přímo či nepřímo podílet na uremické toxicitě.

Zvýšení koncentrací některých uremických toxinů má za následek vznik řady patofyziologických mechanismů, které vedou ke vzniku metabolických a imunitních abnormalit a v konečném důsledku pak k uremickým příznakům.

Uremický syndrom je soubor příznaků vyplývajících z multiorgánového a multisystémového postižení. V současnosti jsou uremické toxiny předmětem intenzivního, ale dosud neuzavřeného základního i klinického výzkumu.

Nejjednodušší klasifikace uremických solutů vyplývá z jejich fyzikální a chemické definice. Je třeba poznamenat, že toto rozdělení není zcela přesné a terminologie není dosud uzavřena (VIKLICKÝ, 2006).

### **1.2.1 Molekuly o malé hmotnosti**

Molekuly o malé hmotnosti do 500 Da jsou většinou ve vodě rozpustné látky, které jsou snadno odstranitelné při dialýze. Například urea, ve vodě rozpustná malá molekula, nemá toxický efekt, a tak nepředstavuje velké riziko sama o sobě, avšak věrně odráží chování ostatních malých molekul, protože má jejich farmakokinetiku. Nejdůležitějšími reprezentanty malých molekul jsou toxické guanidiny a jejich deriváty, polyaminy, metylaminy a puriny. Dimetylgarginin pravděpodobně způsobuje kardiovaskulární komplikace a encefalopatie. Metylaminy pak oxidativní stres a aterogenezi (VIKLICKÝ, 2006).

### **1.2.2 Molekuly o střední hmotnosti**

Současná klasifikace rozděluje uremické toxiny o střední molekulové hmotnosti na látky navázané na bílkoviny a na střední molekuly. Typickými reprezentanty skupiny látek navázaných na bílkoviny jsou homocystein a konečné produkty pokročilé glykace (AGEs).

Hyperhomocysteinemie je rizikovým faktorem vzniku kardiovaskulárních onemocnění a přispívá k progresi chronického renálního selhání. Rovněž zvýšené hladiny AGEs, heterogenní skupiny derivátů aminokyselin vznikající glykací, jsou považovány za rizikové pro rozvoj aterosklerotických komplikací, protože zvyšují oxidační stres. Hromadění AGEs v tkáních má nepříznivé účinky, které se spojují buď přímo s poškozením struktury, fyzikálních vlastností a metabolismu, nebo působí přes AGEs specifický receptor na povrchu buněk RAGE, který se nachází na buňkách endotelu, monocyttech, makrofázích apod.

Typické střední molekuly mají molekulovou hmotnost 500-12 000 Da. Většinou jde o malé peptidy a proteiny o nevelké molekulové hmotnosti. Reprezentanty této skupiny jsou  $\beta$ 2-mikroglobulin (způsobující amyloidózu u nemocných léčených dialýzou), zánětlivé cytokiny, některé AGEs a složky komplementu. Tyto molekuly jsou zdravými ledvinami filtrovány, ale i metabolizovány v tubulech, takže jejich koncentrace v moči jsou velmi malé. Při poruše glomerulární i tubulární funkce ale jejich koncentrace v krvi stoupá (VIKLICKÝ, 2006b).

### 1.2.3 Charakteristiky jednotlivých markerů

Těhotenský plazmatický protein A, zkratka PAPP-A (Pregnancy Associated Plasma Protein A), je nový marker vaskulárního poškození a následných komplikací způsobených aterosklerotickými pláty (KALOUSOVÁ, 2007). Patří do skupiny velkých molekul. Původně byl identifikován v plazmě těhotných žen a použit na screening Downova syndromu v prvním trimestru (WALD 1995). V těhotenství je nejvíce syntetizován v placentě (BONNO 1994). Taktéž byla detekována velmi malá koncentrace PAPP-A v séru netěhotných žen, a dokonce i mužů (OVERGAARD, 1999). PAPP-A byl prokázán v erodovaných aterosklerotických plátech, jeho sérová hodnota je také zvýšena u pacientů s akutním koronárním syndromem (BAYES-GENIS, 2001) a u chronicky dialyzovaných (FIALOVÁ, 2004). Sérová koncentrace PAPP-A před transplantací je prediktorem kardiovaskulárních onemocnění a chronické rejekční nefropatie po transplantaci (LAUZURICA, 2005).

Konečné produkty pokročilé glykace, AGEs (Advanced Glycation End Products) vznikají v lidském organismu neenzymatickou glykací proteinů. Jsou degradovány makrofágy a vylučovány ledvinami (DOLHOFER-BLIESNER, 1995). Tvoří se i za fyziologických podmínek, s věkem se jejich tvorba zvyšuje. Jejich patologické zvýšení je prokázáno u těchto chorob: diabetes melitus, ateroskleróza, chronické onemocnění ledvin a u neurodegenerativních onemocnění (KALOUSOVÁ, 2002, MIYATA, 2000).

Jejich toxické účinky jsou zprostředkovány přes receptor RAGE. Naopak solubilní receptor (sRAGE) je inhibitorem toxických účinků AGEs. Byla prokázána negativní korelace sérových AGEs s renální funkcí u nemocných s chronickým onemocněním ledvin i po transplantaci ledviny. Po úspěšné transplantaci zvýšené hodnoty sérových AGEs s rozvíjející se funkcí štěpu sice klesají, nevracejí se však na hodnoty před dialyzační léčbou (MAREČKOVÁ, 2006).

U nemocných s chronickým onemocněním ledvin je sérová hladina sRAGE zvýšená a toto zvýšení pozitivně koreluje se zvýšenou hodnotou kreatininu a negativně s hodnotou glomerulární filtrace (KALOUSOVÁ, 2006).

Matrix metaloproteinázy 2 a 9 (MMP-2 a MMP-9) jsou dalšími z řady uremických toxinů. Patří do rodiny enzymů, jejichž funkcí je degradace extracelulární matrix. Předpokládá se, že hrají roli v remodelaci a destrukci tkáně, např. u revmatoidní artritidy, progresi tumorů, ale i u kardiovaskulárních onemocnění (SHAPIRO, 1998). Metaloproteinázy 2 i 9 jsou gelatinázy, které mají schopnost degradovat kolagen typu IV bazální membrány, kolagen V, agrecan a elastin. Angiogeneze, zánět a fibrotické pochody jsou základními patofyziologickými pochody, ve kterých metaloproteinázy hrají významnou roli (LELONGT, 2001).

MMP-2 má větší význam u pacientů s chronickou transplantační nefropatií než u akutních rejekcí. Hladina MMP-2 je asociována s hladinou cystatinu C, kreatininu, proteinurií, dny od transplantace a vznikem posttransplantačního diabetu mellitu. Hladina této metaloproteinázy je tedy kritická pro přežití štěpu (CHANG, 2008). Další studie potvrzují tyto nové vztahy. Hladiny MMP-2 byly významněji zvýšeny u pacientů s chronickou transplantační nefropatií než u pacientů s akutní rejekcí, stabilní funkcí štěpu a zdravými kontrolami. Byla zde nalezena závislost mezi MMP-2 a proteinurií (RODRIGO, 2000).

MMP-9 hraje důležitou roli v akutní rejekci štěpu. Má větší degradační aktivitu proti kolagenu typu IV a V než MMP-2 (OLSON, 1998). MMP-9 je také signifikantně asociována se stenózou karotid, protože remodelace extracelulární

matrix hraje důležitou roli ve vývoji aterosklerózy. Asociace aterosklerózy a hladin MMP-9 je významnější v pokročilejších nálezech ateroskleroticky změněných tepen (ROMERO, 2008).

## 2 Metodika

### 2.1 *Sběr dat*

Sesbíraná data jsou dělena podle vztahu v čase od doby transplantace. Soubor čítá celkem 142 pacientů, jejichž transplantace proběhla od dubna 2007 do dubna 2008. Sběr dat je prováděn Klinikou nefrologie transplantcentrum IKEM.

Všichni pacienti byli informováni a svůj souhlas se sběrem dat vyjádřili písemně. Záměr a sběr dat byly taktéž diskutovány a schváleny etickou komisí IKEM.

V mém souboru se zabývám daty před transplantací (0M) a tři měsíce po transplantaci (3M). Hlavní část práce spočívá v zjištění závislostí mezi daty před transplantací a tři měsíce po ní. Uvádím i porovnání se zdravými kontrolami (viz grafy v kapitole 4).

Základní charakteristika obsahuje grafy a rozvrstvení souboru podle věku, pohlaví, BMI, kuřáctví a doby strávené na dialýze. Dále pak pokračuji s výsledky nových markerů (viz grafy v kapitole 3).

### 2.2 *Laboratorní metody*

Jako materiál pro analýzu bylo použito krevní sérum. Nové markery byly měřeny pomocí ELISA kitů (enzyme-linked immunosorbent essay). Byly použity standardní kity.

Renální funkce je měřena jako inulinová clearance v ml/s/1,73 m<sup>2</sup>.

Běžné biochemické parametry byly stanoveny standardními metodami klinické biochemie doporučenými International Federation of Clinical Chemistry, s použitím autoanalyzátorů.

### 2.3 *Statistické metody*

Ke statistickému vyhodnocení dat jsem používala program Excel. Dále pak s laskavou pomocí statistického oddělení IKEM program MedCalc. Výsledky jsou

vyjádřeny jako průměr plus minus směrodatná odchylka (SD); v případě velké interindividuální variability jako medián.

Nové markery byly hodnoceny dvouvýběrovým t-testem, párovým t-testem a výpočtem korelačního koeficientu dle Pearsona a Spearmana. Výsledky jsou považovány za statisticky významné pro  $p < 0,05$ .

## **2.4 Kontrolní skupina**

Kontrolní skupinu tvořilo 21 zdravých osob. V době studie nežívaly vyšetřované osoby žádné speciální potravinové doplňky.

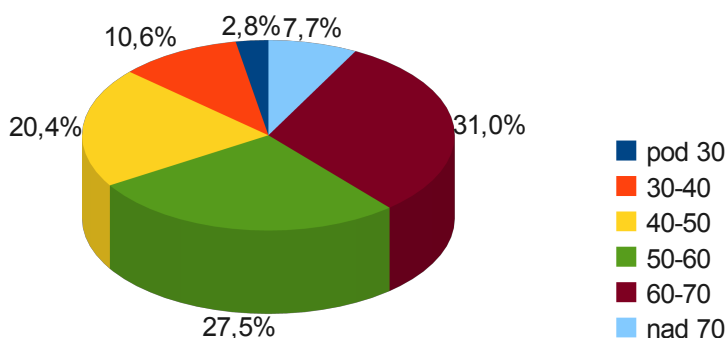
Charakteristika kontrolní skupiny byla takováto: z celkového počtu 21 osob bylo 9 mužů a 12 žen. Průměrný věk byl  $59,4 \pm 9$ , což odpovídá i studované populaci, BMI  $24,9 \pm 2,9$  a sérová hladina kreatininu  $82,6 \pm 11$   $\mu\text{mol/l}$ .

## 3 Obecná charakteristika souboru

### 3.1 Věk

Věk pacientů byl téměř rovnoměrně rozložen mezi věkové kategorie 40-50, 50-60 a 60-70 let. Nejpočetnější skupinu pak tvořili pacienti s věkem mezi 60-70 let (obrázek 1).

Obrázek 1: Věk



### 3.2 Pohlaví

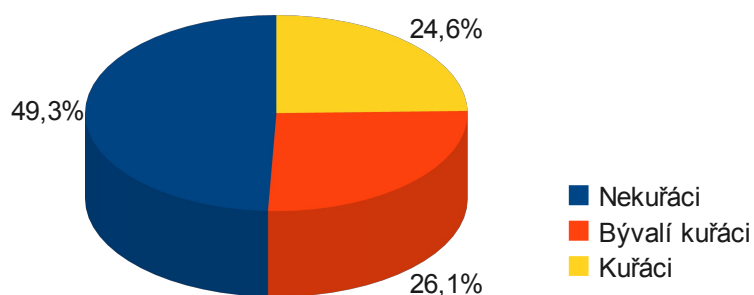
Z celkového počtu 142 pacientů bylo 98 mužů a 44 žen. Což je v procentuálním zastoupení 69% mužů a 31% žen.

### 3.3 Kouření

V obecné charakteristice jsme sledovali i kuřáctví resp. nekuřáctví pacientů jako významného rizikového faktoru pro vznik srdečně-cévních onemocnění. V současné době  $\frac{3}{4}$  souboru nekouří, patří k nim i bývalí kuřáci, kteří nyní nekouří. Čtvrtina pacientů kouří. Procentuální vyjádření je znázorněno v následujícím grafu (obrázek 2).



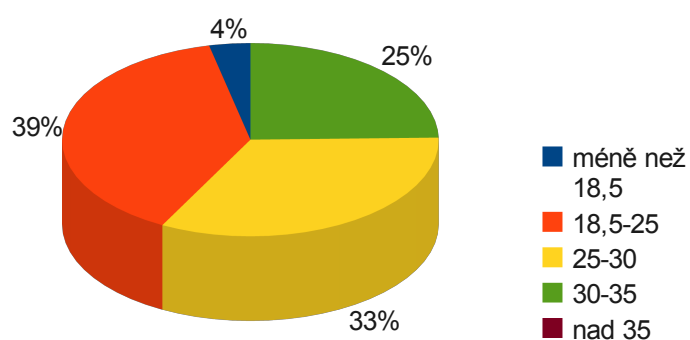
Obrázek 2: Kouření



### 3.4 Obezita/nadváha a BMI

Problematika obezity byla diskutována v kapitole 2.1.6. Z celkového počtu 142 pacientů mělo BMI v rozmezí normy 39% a nadváhou trpí jen o pár procent méně pacientů. Čtvrtina pacientů je obézních ve stadiu I. Pozitivní je, že v souboru nejsou pacienti s obezitou vyšší (obrázek 3).

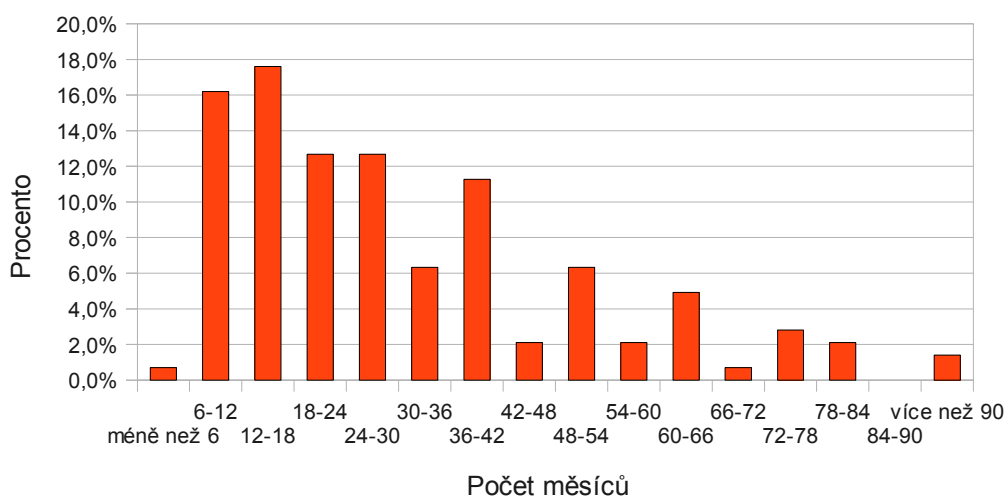
Obrázek 3: Body mass index



### 3.5 Doba dialýzy

Nejčastěji pacienti stráví na dialýze od 6 měsíců po 1,5 roku, celkem je to 34% všech dialyzovaných pacientů. O něco méně pak v rozmezí 1,5 roku až 2,5 roku, zde je to celkem 25%. Výrazný pík je pak v kategorii 3-3,5 roku (obrázek 4).

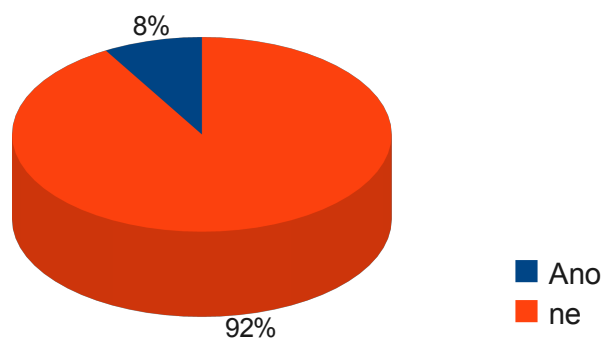
Obrázek 4: Dialýza



### 3.6 Diabetická nefropatie

Z celkem 142 pacientů mělo 12 pacientů stanovenou základní diagnózu diabetické nefropatie (obrázek 5).

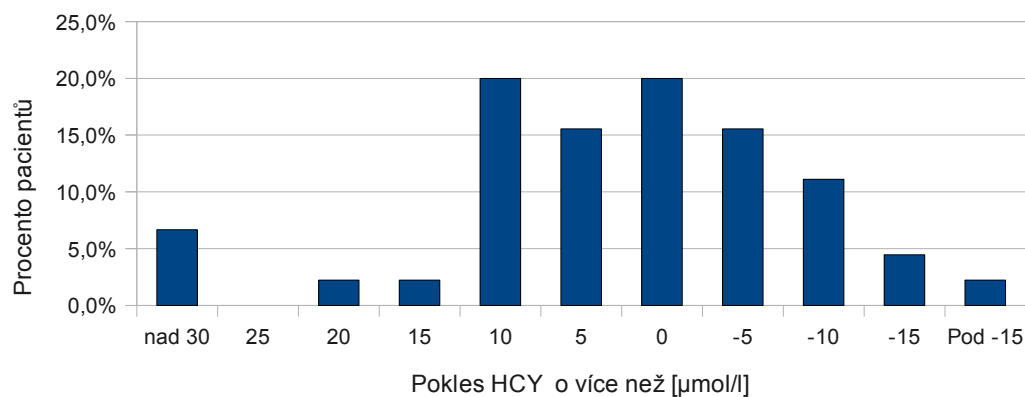
Obrázek 5: Diabetická nefropatie



### 3.7 Homocystein

Pokles homocysteinu byl zaznamenán u 67% pacientů, nejvýraznější byl v kategorii do 10  $\mu\text{mol/l}$ . Naopak ke zvýšení homocysteinu došlo u 33% pacientů (obrázek 6).

Obrázek 6: Homocystein



### 3.8 Souhrn obecné charakteristiky

Tabulka 5: Souhrn obecné charakteristiky

Charakteristika [jednotka]	Pacienti
BMI [ $\text{kg/m}^2$ ]	26,4 $\pm$ 4,4
Kuřáci [%]	24,6
Diabetická nefropatie [%]	8,5
Hypertenze [%]	86
Hypertenze (aritmetický průměr počtu léků)	2,5
Dialýza [měsíce]	30,1 $\pm$ 20,8
Celkový cholesterol [mmol/l]	4,9 $\pm$ 1,4
Albumin [g/l]	39,9 $\pm$ 4,0
Statiny [%]	40,1
Fibráty [%]	0,7
Imunosuprese [%] (kortikosteroid+mykofenolát mofetil+takrolimus)	58,7

## 4 Výsledky a diskuse

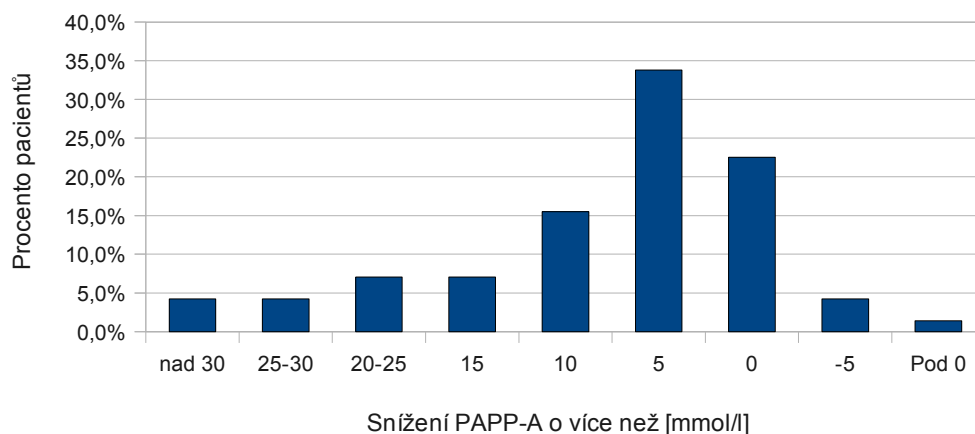
Z nových markerů jsem hodnotila změny hladiny PAPP-A, sRAGE, MMP-2, MMP-9 a také homocysteinu.

Sběr dat stále pokračuje, proto je velmi obtížné získat údaje od všech vybraných pacientů. V současné době jsem měla k dispozici odběry od poloviny pacientů, a to z časového úseku před transplantací a tři měsíce po ní.

### 4.1 PAPP-A

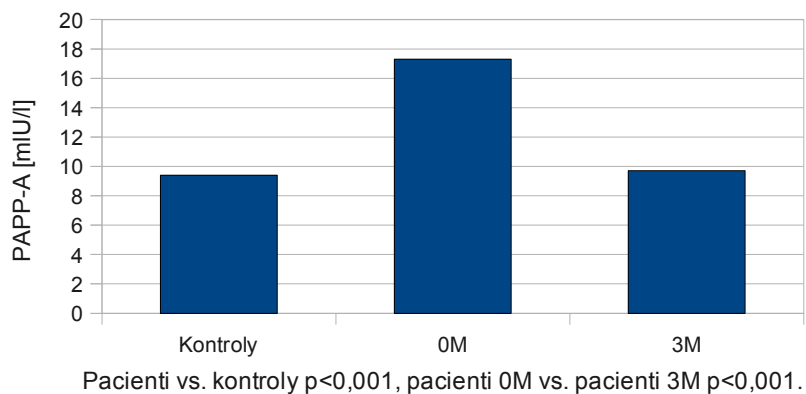
U 34% pacientů došlo ke snížení Těhotenského plazmatického proteinu-A o 5 jednotek a u 16% o deset jednotek (obrázek 7).

Obrázek 7: PAPP-A rozvrstvení



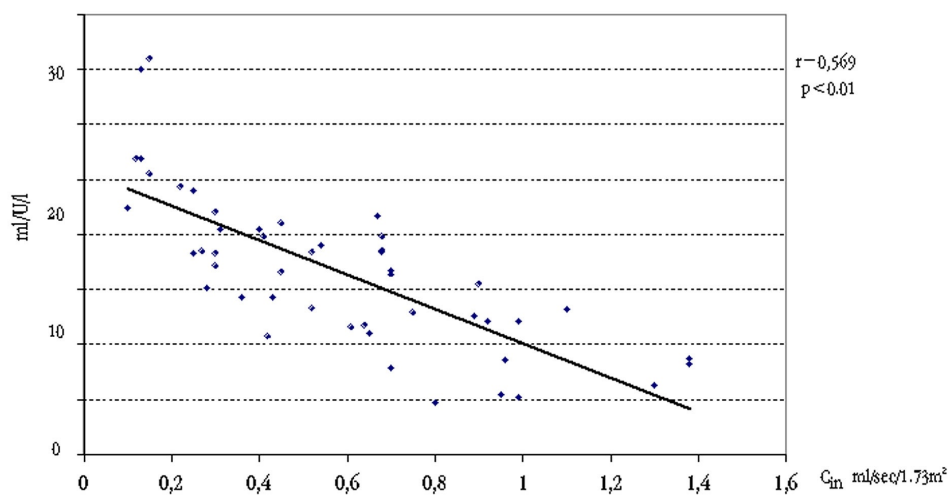
Další graf (obrázek 8) popisuje sérové hodnoty PAPP-A před transplantací a tři měsíce po ní. Porovnává tyto hodnoty se zdravými kontrolami. Sérová hladina PAPP-A signifikantně vzrostla před transplantací a klesá s rozvíjející se renální funkcí.

Obrázek 8: PAPP-A



Byla také nalezena negativní korelace mezi PAPP-A a clearancí inulinu (obrázek 9).

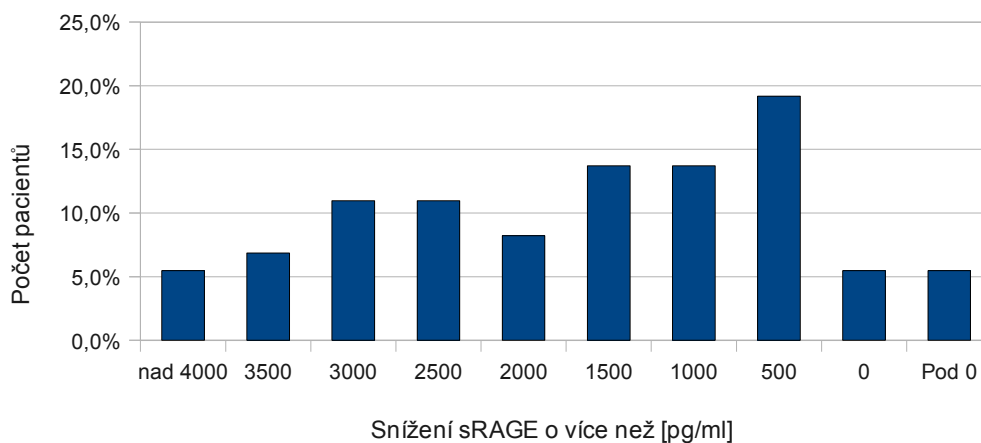
Obrázek 9: Korelace PAPP-A a clearance inulinu ( $C_{in}$ )



## 4.2 sRAGE

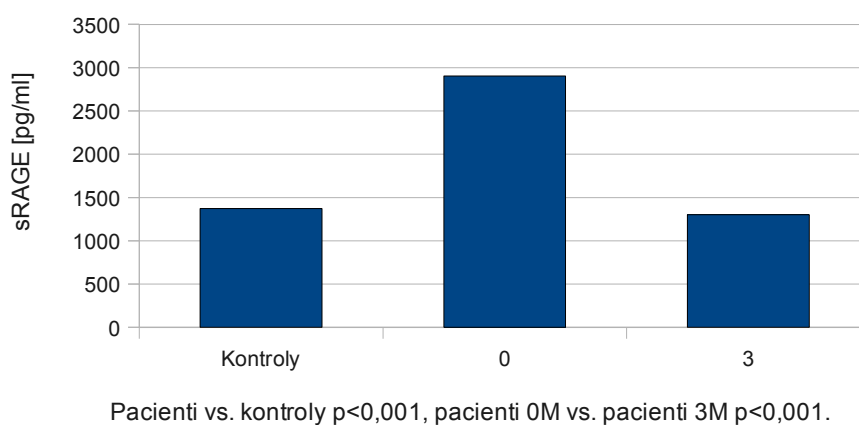
Snížení sRAGE je rozvrstveno plynule. Téměř polovina pacientů (47%) dosáhla snížení sRAGE o 500-1500 jednotek (obrázek 10).

Obrázek 10: sRAGE rozvrstvení



Ve studované skupině byly hodnoty sRAGE významně zvýšeny před transplantací a s rozvojem funkce štěpu hodnoty sRAGE klesají (obrázek 11).

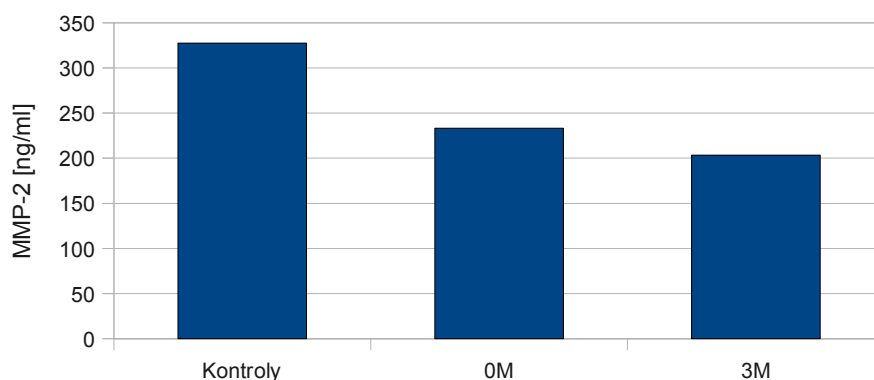
Obrázek 11: sRAGE



### 4.3 MMP-2

MMP-2 je u dialyzovaných nemocných a při příchodu k transplantaci (0M) významně nižší než u zdravých kontrol ( $p < 0,001$ ). U nemocných s chronickým kardiálním onemocněním bez renálního poškození jsou hladiny MMP-2 nižší než u osob zdravých (obrázek 12).

Obrázek 12: MMP-2

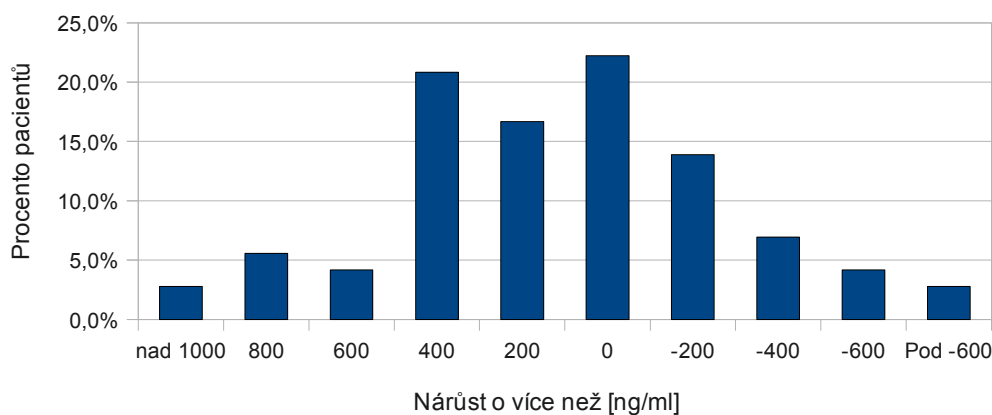


Pacienti vs. kontroly  $p < 0,001$ , pacienti 0M vs. pacienti 3M  $p < 0,01$ .

### 4.4 MMP-9

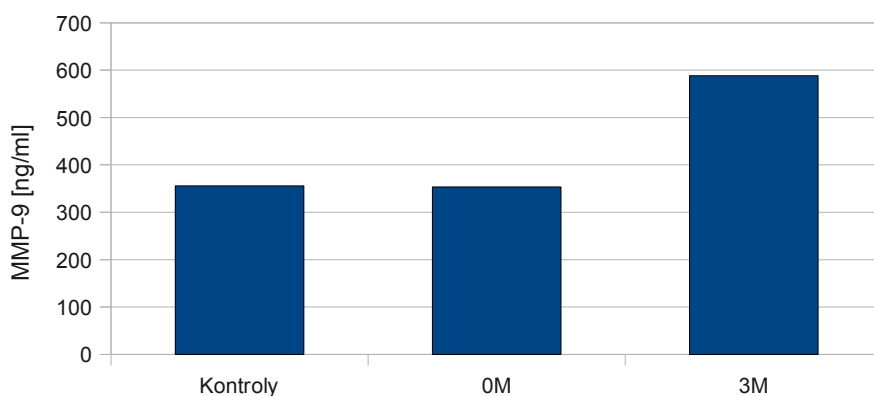
Nejvíce pacientů (22%) nezaznamenalo žádnou změnu MMP-9. U 21% pacientů následuje zvýšení v rozmezí 200-400 ng/ml a u 17% pacientů zvýšení jen o 200 ng/ml (obrázek 13).

Obrázek 13: MMP-9 rozvrstvení



Hladina MMP-9 před transplantací je srovnatelná se zdravou kontrolní skupinou. Za tři měsíce po transplantaci došlo k signifikantnímu zvýšení této hodnoty (pacienti 0M versus kontroly nesignifikantní, pacienti v čase 0M versus pacienti v čase 3M  $p < 0,001$ , kontroly versus pacienti 3M  $p < 0,01$  – obrázek 14).

Obrázek 14: MMP-9



Pacienti 0M vs. kontroly nesig., pacienti 0M vs. 3M  $p < 0,001$ , kontroly vs. pacienti 3M  $p < 0,01$ .

#### 4.5 Souhrn nových markerů

Tabulka uvádí souhrn nových markerů, jejich aritmetických průměrů a směrodatných odchylek.



Marker [jednotka]	0M	3M
PAPP-A [mmol/l]	20,50±10,08	10,23±3,88
sRAGE [pg/ml]	3286,64±1481,58	1441,58±848,06
MMP-2 [ng/ml]	242,60±62,87	207,64±50,11
MMP-9 [ng/ml]	439,29±300,60	673,12±438,60

## Závěr

Základním cílem mé práce bylo popsat vybrané klasické a tzv. nové rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění před transplantací ledviny i po ní. Obecně jsem charakterizovala soubor 120 pacientů.

Dalším cílem bylo zjistit závislosti mezi vybranými rizikovými faktory a rozvojem funkce štěpu. Všechny výsledky poté porovnat s dostupnými pracemi jak zahraničními, tak českými, zabývajícími se touto problematikou.

Lze říci, že za tři měsíce po úspěšné transplantaci ledvin markery oxidativního stresu a mikrozánětu mají tendenci ke snížení. Je zde závislost s rozvíjející se funkcí ledvin.

Těhotenský plazmatický protein A, zkratka PAPP-A, je nový marker vaskulárního poškození a následných komplikací způsobených aterosklerotickými pláty. Sérová hladina PAPP-A byla signifikantně zvýšena před transplantací a klesá s rozvíjející se renální funkcí. Jeho hladiny jsou důležité, protože korelují s renální funkcí. Je zde též závislost mezi sérovou koncentrací PAPP-A před transplantací a vznikem kardiovaskulárního onemocnění a chronické nefropatie štěpu po transplantaci.

Na druhé straně zde není závislost mezi metaloproteinázami a clearance inulinu. Matrix metaloproteinaza-2 (MMP-2) je snížena u dialyzovaných, tedy u skupiny pacientů přicházejících k transplantaci. Tato patologicky snížená hodnota před transplantací dále klesá i po transplantaci, a tudíž svědčí spíše o chronickém kardiálním poškození ještě před transplantací.

Matrix metaloproteináza-9 se neliší před transplantací od zdravé kontrolní skupiny. Za tři měsíce po transplantaci její hodnoty významně vzrůstají, pravděpodobně kvůli akutnímu kardiálnímu poškození jako je ateroskleróza s nestabilním plátem.

Obě metaloproteinázy proto můžeme nazvat novými markery kardiovaskulárního poškození po transplantaci ledviny.

## Souhrn

Tato práce se zabývá tradičními a novými rizikovými faktory kardiovaskulárního onemocnění po transplantaci ledviny, je součástí výzkumného grantu číslo NR 9398. Cílem mé práce bylo určit změny, vzájemné korelace a souvislosti změn s rozvojem funkce štěpu a typem použité imunosupresní léčby.

Velká pozornost byla věnována novým markerům jako jsou PAPP-A (těhotenský plazmatický protein-A), AGEs (produkty pokročilé glykace) a matrix metaloproteinázám (MMP-2 a MMP-9). Všechny tyto markery mají podíl na patogenezi, její progresi a destabilizaci ateromového plátu.

Metodika: Nové markery byly měřeny pomocí ELISA kitů. Renální funkce je měřena jako inulinová clearance v ml/s/1,73 m<sup>2</sup>. Běžné biochemické parametry byly stanoveny standardními metodami klinické biochemie doporučenými International Federation of Clinical Chemistry. Všichni pacienti byli informováni a svůj souhlas se sběrem dat vyjádřili písemně. Taktéž záměr a sběr dat byly diskutovány a schváleny etickou komisí IKEM.

K vyhodnocení dat statisticky jsem používala programy Excel a MedCalc. Nové markery byly hodnoceny dvouvýběrovým t-testem, párovým t-testem a výpočtem korelačního koeficientu dle Pearsona a Spearmana. Kontrolní skupinu tvořilo 21 zdravých osob.

Výsledky: 1. část: obecné charakteristiky studované skupiny: měla jsem k dispozici soubor 142 pacientů, jejichž transplantace proběhla od dubna 2007 do dubna 2008. Nejpočetnější věkovou skupinou byl věk v rozmezí 60-70 let (31%), dále následuje věk mezi 50-60 roky (28%). Z celkového počtu 142 pacientů bylo 98 mužů (69%) a 44 žen (31%). V době studie kouřilo pouze 25%, nikdy nekouřilo 49% a kouření zanechalo 26%. Body mass index v rozmezí normy mělo 39%, nadváhou trpí 58%. Doba průměrně strávená na dialýze činila 12-18 měsíců. Pouze 8% pacientů mělo jako základní diagnózu stanovenou diabetickou nefropatií.

Výsledky: 2. část: nové markery: Korelovány byly hodnoty těsně před transplantací a tři měsíce po ní, též se prováděla porovnání se zdravou kontrolní skupinou.

Těhotenský plazmatický protein-A (PAPP-A) je významně vyšší před transplantací a významně klesá s rozvojem funkce štěpu. ( $p < 0,001$ ). PAPP-A negativně koreluje s clearance inulinu ( $r = -0,569$ ,  $p < 0,01$ ). Sérová koncentrace PAPP-A před transplantací je prediktorem kardiovaskulárních onemocnění a chronické nefropatie štěpu po transplantaci.

Solubilní receptor produktů pokročilé glykace (sRAGE) je významně zvýšen před transplantací a též klesá s rozvojem funkce štěpu ( $p < 0,001$ ). sRAGE je inhibátorem toxických účinků AGEs.

Matrix metaloproteináza-2 (MMP-2) je významně snížena u dialyzovaných nemocných (proti kontrolám) a po transplantaci dále významně klesá ( $p < 0,01$ ). MMP-2 je snížena též u pacientů s chronickým kardiálním poškozením, kteří mají normální funkci ledvin).

Matrix metaloproteináza-9 (MMP9) se před transplantací neliší od kontrolní skupiny. Za tři měsíce po transplantaci dochází k významnému zvýšení této hodnoty ( $p < 0,01$ ).

Posledním sledovaným parametrem je homocystein, který osciluje na hranici nových a již tradičních rizikových faktorů. Jeho hladina poklesla u 67% pacientů po transplantaci.

Závěrem mé práce lze říci, že za tři měsíce po úspěšné transplantaci ledvin, markery oxidativního stresu AGEs a mikrozánětu PAPP-A mají tendenci ke snížení. Je zde závislost s rozvíjející se funkcí ledvin.

PAPP-A, je nový marker vaskulárního poškození a následných komplikací způsobených aterosklerotickými pláty. Sérová hladina PAPP-A byla významně zvýšená před transplantací a klesá s rozvíjející se renální funkcí. Jeho hladiny jsou důležité, protože korelují s renální funkcí.

Na druhou stranu zde není závislost mezi metaloproteinázami a clearance inulinu. Matrix metaloproteináza-2 (MMP-2) je snížena u dialyzovaných, a tedy i

u pacientů přicházejících k transplantaci. Tato patologicky snížená hodnota před transplantací dále klesá i po transplantaci, a tudíž svědčí spíše pro chronické kardiální poškození ještě před transplantací, které se po transplantaci prohlubuje.

Matrix metaloproteináza-9 se neliší před transplantací od zdravé kontrolní skupiny. Za tři měsíce po transplantaci její hodnoty významně vzrůstají, pravděpodobně kvůli akutnímu kardiálnímu poškození jako je ateroskleróza s nestabilním plátem.

Obě metaloproteinázy proto můžeme nazvat novými markery kardiovaskulárního postižení po transplantaci ledviny.

Dodávám, že veškerá data jsou originální, výlučným majetkem IKEM. Celá práce je chráněna copyrightem.

## Summary

This study which explores conventional and new markers of cardiovascular diseases after a renal transplantation is a part of the grant number NR 9398. The aim of our thesis was to determine changes, correlations and relationship between a graft function and a type of immunosuppression. We have paid main attention to new markers such as PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein-A), AGEs (Advanced Glycation End Products) and matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9). All of them are involved in the pathogenesis of atherosclerosis, the acceleration of its progression, and the plaque destabilization.

**Methods:** The serum levels of new markers were measured by an enzyme-like immunosorbent assay. The renal function is determined as inulin clearance in ml/s/1.73 m<sup>2</sup>. The common biochemical characteristics were designated by standard methods of clinical chemistry recommended by The International Federation of Clinical Chemistry. All of the patients were informed and their agreement with a data collection was signed. The purpose and the data collection were discussed and confirmed by The ethic commission of IKEM.

We have used Excel and MedCal programs for the evaluation of the statistic data. The new markers were evaluated by t-test. We have used 21 healthy controls.

**Results:** first part: clinical and laboratory characteristics of the study population. We have had 142 patients, who have undergone renal transplantation within a period of one year between April 2007 and April 2008. The most numerous age was 60-70 years (31%), follows 50-60 years (28%). From 142 patients there were 98 men (96%) and 44 women (31%). At the time of the study 25% of the patients were smokers, 49% of them never smoke and 26% stopped smoking. The normal body mass index was found out in 39% of the patients, 58% was overweight. The average time of dialysis was 12-18 months. Only 8% of the patients had a basal diagnosis made by diabetic nephropathy.

Results: second part: The serum levels of the new markers before a renal transplantation and 3 months after it were correlated and also correlations with with healthy controls were taken.

Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) is significantly increased before a transplantation and decreased as a renal function develops ( $p < 0,001$ ). There is an inverse correlation with inulin clearance ( $r = -0,569$ ,  $p < 0,01$ ). The serum PAPP-A levels before transplantation have been shown to be a predictor of a cardiovascular disease and chronic allograft nephropathy after a renal transplantation.

Soluble Receptor for Advanced Glycation End products (sRAGE) is eminently increased before a transplantation and it decreases as a renal function develops ( $p < 0,001$ ). sRAGE has a protective role against toxic effects of AGEs.

Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) is decreased in three months after renal transplantation ( $p < 0,01$ ). MMP-2 is the highest in the patients with a chronic cardiac disease before a transplantation.

Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) before a transplantation is comparable with that of controls. The serum levels of MMP-9 are significantly increased three months after a transplantation ( $p < 0,01$ ).

Last followed up parameter is homocystein, which is on the borderline between new and traditional markers. Its level is declined in 67% of the patients after their transplantation.

Conclusions: Three months after a successful renal transplantation the markers of oxidative stress and microinflammation tend to decline. The markers correlate with a developing renal function.

PAPP-A is a new marker of vascular damage and complications of atherosclerotic plaque. The serum levels are significantly increased before a transplantation and decreased as a renal function develops. Their levels are important because they correlate with the renal function.

On the other hand there are not any correlations between metalloproteinases and inulin clearance. MMP-2 is decreased in the hemodialysis

patients, who have come to undergo a transplantation. These pathologically decreased levels before a transplantation are diminishing also after a transplantation. They predicate a chronic cardiac disease before a transplantation.

MMP-9 before a transplantation is comparable with that of healthy controls. MMP-9 is increased after a transplantation, probably due to an acute cardiovascular lesion such as atherosclerosis with a vulnerable plaque.

Both MMPs can be considered as novel markers of cardiovascular risk after a transplantation.

Note that all data are original, exclusive belongings of IKEM. The whole thesis is reserved by copyright.



## Seznam použité literatury

- BAYES-GENIS, A. 2001. Pregnancy-associated plasma protein-A as marker of acute coronary syndromes. *The New England journal of medicine*, 2001, 345, p. 1022-1029.
- BONNO, M. 1994. Localization of pregnancy-associated plasma protein-A and localization of pregnancy-associated plasma protein-A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in placenta. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1994, 71, p. 560-566.
- CÍFKOVÁ, R. 2006. Prevence kardiovaskulárních onemocnění. In *KLENER. P. et al. Vnitřní lékařství*. Praha: Karolinum Galén, 2006, s. 325-327.
- CÍFKOVÁ, R. a STRÍBRNÁ, J. 2006. Arteriální hypertenze a ledviny. In *TEPLAN, V. Praktická nefrologie*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2006, s. 161-168.
- ČEŠKA, R. a ASCHERMANN, M. 2004. Plazmatické lipidy, dyslipidémie. In *ASCHERMANN, M. Kardiologie*. Praha: Galén, 2004, s. 473 a 481.
- DOLHOFER-BLIESENER, R. et. al. 1995. Immunological determination of advanced glycosylation end-products in human blood and urine. *Nephrology, dialysis, transplantation*, 1995, 10, p. 657-664.
- FIALOVÁ, L. 2004. Relationship of pregnancy-associated plasma protein-A to renal function and dialysis modalities. *Kidney Blood Pressure Research*, 2004, 27, p. 88-95.

- HOLČÍK, J. a KOUPILOVÁ, I. 2004. Kouření. In *ASCHEMANN, M. Kardiologie*. Praha: Galén, 2004, s. 531-535.
- HORKÝ, K. a WIDIMSKÝ, J. jr, 2004. Arteriální hypertenze. In *ASCHEMANN, M. Kardiologie*. Praha: Galén, 2004, s. 413-428.
- CHANG, H. R. et al. 2008. Circulating matrix metalloproteinase-2 is associated with cystatin C level, posttransplant duration, and diabetes mellitus in kidney transplant recipients. *Translational Research*, 2008, vol. 151, no. 4, s. 217-223.
- KALOUSOVÁ, M. 2002. Advanced glycation end products and advanced oxidation protein products in hemodialyzed patients. *Blood Purification*, 2002, 20, p. 531-536.
- KALOUSOVÁ, M. 2006. Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products in Patients With Decreased Renal Function. *American Journal of Kidney Diseases*, 2006, vol. 47, no. 3 (March), p. 406-411.
- KALOUSOVÁ, M. 2007. Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Soluble Receptor for Advanced Glycation End Products after Kidney Transplantation. *Kidney and Blood Pressure Research*, 2007, no. 30, p. 31-37.
- KALVACH, Z. 2006. Základy klinické geriatrie. In *KLENER P. et al. Vnitřní lékařství*. Praha: Karolinum Galén, 2006, s. 167-170.
- LAUZURICA, R. 2005. Pretransplant pregnancy-associated plasma protein-A as a predictor of chronic allograft nephropathy and posttransplant cardiovascular events. *Transplantation*, 2005, 80, p. 1441-1446.

- LELONGT, B. et al. 2001. Do matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 (gelatinases) play a role in renal development, physiology and glomerular diseases? *Current opinion in nephrology and hypertension*, 2001, 10, p. 7-12.
- MAREČKOVÁ, O. et al. 2006. Vliv transplantace ledviny na sérové hladiny produktů pokročilé glykace. *Aktuality v nefrologii*, 2006, no. 3, p. 91-95.
- MAREČKOVÁ, O. et al. 2008. Solubilní receptor pro konečné produkty pokročilé glykace u obézních nemocných s chronickým onemocněním ledvin. *Aktuality v nefrologii*, 2008, no. 1, p. 15-19.
- MIYATA, T. et al. 2000. Advanced glycation and lipoxidation of the peritoneal membrane: Respective roles of serum and peritoneal fluid reactive carbonyl compounds. *Kidney International*, 2000, 58, p. 425-435.
- OLSON, M. W. et al. 1998. High affinity binding of latent matrix metalloproteinase-9 to the alpha2(IV) chain collagen IV. *The Journal of biological chemistry*, 1998, 273, p. 10672-10681.
- OVERGAARD, M.T. 1999. Messenger ribonucleic acid levels of pregnancy-associated plasma protein-A and the proform of eosinophil major basic protein: expression in human reproductive and nonreproductive tissues. *Biology of reproduction*, 1999, 61, p. 1083-1089.
- RODRIGO, E. et al., 2000. Circulating levels of matrix metalloproteinases MMP-3 and MMP-2 in renal transplant recipients with chronic transplant nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2000, 15, p. 2041-2045.

- ROMERO, J. R. et al., 2008. Association of Carotid Artery Atherosclerosis With Circulating Biomarkers of Extracellular Remodeling: The Framingham Offspring Study. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, vol. 1, 2008, No. 6, p. 412-417.
- SHAPIRO, S.D. 1998. Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences. *Current opinion in cell biology*, 1998, 10, p. 602-608
- SVAČINA, Š. 2006a. Poruchy výživy. In *KLENER P. et al. Vnitřní lékařství*. Praha: Karolinum Galén, 2006, s.809-814.
- SVAČINA, Š. 2006b. Metabolicky podmíněná onemocnění. In *KLENER P. et al. Vnitřní lékařství*. Praha: Karolinum Galén, 2006, s.867-869.
- TEPLAN, V. et al. 2006. Chronická renální insuficience. In *TEPLAN, V. Praktická nefrologie*. Praha : Grada Publishing, a.s.,2006, s. 364.
- TEPLAN, V. et al. 2008. Reduction of plasma asymmetric dimethylarginine in obese patients with chronic kidney disease after three years of a low-protein diet supplemented with keto-amino acids: a randomized controlled trial. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 2008, vol. 120, no. 15-16, p. 478-485.
- VIKLIČKÝ, O. 2006a. Chronické selhání ledvin a uremický syndrom. In *TESAŘ, V. Klinická nefrologie*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2006, s. 481.

- VIKLICKÝ, O. 2006b. Chronické selhání ledvin a uremický syndrom. In  
*TESAŘ, V. Klinická nefrologie*. Praha: Grada Publishing, a.s., 2006, s.  
491-493.
- WALD, N. 1995. First trimester serum screening for Down's syndrome.  
*Prenatal diagnosis*, 1995, 15, p. 1227-1240.
- ŽÁK, A. 2004a. Estrogeny. In *ASCHERMANN, M. Kardiologie*. Praha: Galén,  
2004, s. 523-526.
- ŽÁK, A. 2004b. Homocystein. In *ASCHERMANN, M. Kardiologie*. Praha:  
Galén, 2004, s. 513-522.

## Seznam tabulek a obrázků

### Seznam tabulek

Tabulka 1: Rizikové faktory spojené se zvýšeným rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění.....	8
Tabulka 2: Klasifikace normotenze a hypertenze podle výšky krevního tlaku.....	12
Tabulka 3: Hlavní vazoaktivní humorální působky podílející se na regulaci krevního tlaku a patogenezi hypertenze.....	13
Tabulka 4: Kategorie BMI a sdružených zdravotních rizik.....	15
Tabulka 5: Souhrn obecné charakteristiky.....	27

### Seznam obrázků

Obrázek 1: Věk.....	25
Obrázek 2: Kouření.....	26
Obrázek 3: Body mass index.....	26
Obrázek 4: Dialýza.....	27
Obrázek 5: Diabetická nefropatie.....	27
Obrázek 6: Homocystein.....	28
Obrázek 7: PAPP-A rozvrstvení.....	29
Obrázek 8: PAPP-A.....	30
Obrázek 9: Korelace PAPP-A a clearance inulinu (C <sub>in</sub> ).....	30
Obrázek 10: sRAGE rozvrstvení.....	31
Obrázek 11: sRAGE.....	31
Obrázek 12: MMP-2.....	32
Obrázek 13: MMP-9 rozvrstvení.....	33
Obrázek 14: MMP-9.....	33