

Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



Biochemické a strukturální mechanismy poškození ledvin a cévního systému u dětí s renálním onemocněním

Neinvazivní ukazatele renálního poškození u pacientů s chronickým onemocněním ledvin

MUDr. Jakub Zieg

Biochemical and structural mechanisms of kidney and vascular damage in children with renal disease

Noninvasive markers of renal damage in patients with chronic kidney disease

Dizertační práce

Adresa pracoviště autora: Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty UK a FN Motol

V Úvalu 84, 150 06 Praha 5, tel.: +420 2 2443 2001, email: jakubzieg@hotmail.com

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Prof. MUDr. Karel Matoušovic, DrSc.,

Interní klinika 2. lékařské fakulty UK a FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Konzultant: doc. MUDr. Květa Bláhová, CSc., Pediatrická klinika 2. lékařské fakulty UK a

FN Motol, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5

Praha 2014

Poděkování

Chtěl bych poděkovat svému školiteli prof. MUDr. Karlu Matoušovicovi, DrSc. za vedení mého postgraduálního studia. Rád bych také poděkoval doc. MUDr. Květě Bláhové, CSc. za její podporu, profesionalitu a cenné rady při psaní této práce. Velmi si vážím rovněž připomínek a postřehů MUDr. Filipa Fencla, PhD. V neposlední řadě bych rád poděkoval přednostovi Pediatrické kliniky prof. MUDr. Janu Leblovi, CSc. za pomoc, kterou mi během mého postgraduálního studia poskytoval. Za velmi přínosnou pokládám rovněž spolupráci se zahraničními kolegy: Dr. Cornelius Boerkoel z kanadského Child & Family Research Institute mi pomohl při zpracování článku o autoimunitních projevech u Schimkeho imunoeseální dysplázie a spolu s Alirezou Baradaran-Heravim ze stejné instituce mi poskytli k této publikaci data z mezinárodního registru pacientů. Tato práce byla finančně podpořena grantem VZ 0006420301 MZOFNM 2005.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze 1. ledna 2014

MUDr. Jakub Zieg

Podpis:

Obsah

Obsah.....	4
Seznam zkratek	5
Souhrn	9
English Summary	11
Úvod.....	13
Epidemiologie	15
Patofyziologické mechanizmy progresu chronického onemocnění ledvin	17
Hypertenze, proteinurie	17
Metabolické faktory	19
Anemie	20
Vrozená a získaná onemocnění ledvin	21
Vrozené vady ledvin a vývodných močových cest	24
Nefrogenese	24
Obstrukční uropatie	26
Patofyziologie.....	26
Zobrazovací a funkční vyšetření	27
Mediátory poškození ledvin u obstrukční uropatie	34
TGF beta 1.....	34
EGF	38
Angiotenzin II	38
Endotelin	39
Prostaglandin E2	39
Membrane cofactor protein 1	39
Markery akutního poškození ledvin u obstrukční uropatie	40
Léčba obstrukčních uropatií	40
Komplikace chronického onemocnění ledvin a jejich terapie.....	41
Renální anemie	41
Poruchy kostního metabolismu u dětí s chronickým onemocněním ledvin.....	42
Růst a výživa u dětí s chronickým onemocněním ledvin.....	45
Kardiovaskulární komplikace chronického onemocnění ledvin	46
Prevence kardiovaskulárních komplikací chronického onemocnění ledvin	52
Terapie chronického onemocnění ledvin	53
Úvod a cíle studie	56
Močové koncentrace TGF beta 1 u dětí s hydronefrózou	58
Metody	58
Výsledky.....	60
Diskuze.....	63
Časné projevy aterosklerózy u dětí s chronickým onemocněním ledvin	65
Metody	65
Výsledky.....	68
Diskuze.....	70
Smrtelný případ typického hemolyticko uremického syndromu se závažným neurologickým postižením.....	72
Závěr.....	75
Obecné závěry.....	77
Seznam literatury.....	78
Publikace a prezentace v rámci PGS.....	87
Přílohy.....	90

Seznam zkratek

- ABPM ambulatory blood pressure monitoring – 24 hodinové ambulantní měření krevního tlaku
- ACE angiotensin converting enzym – angiotenzin konvertující enzym
- AGE advanced glycation end products – konečné produkty glykace
- AIP aterogenní index plazmy
- anti-GBM anti-glomerular basement membrane antibodies – protilátky proti glomerulární bazální membráně
- apoA1 apolipoprotein A1
- apoB apolipoprotein B
- BMI body mass index – index tělesné hmotnosti
- BMP bone morphogenetic protein – kostní morfogenetický protein
- CaSR calcium sensing receptor – receptor pro vápník
- CIMT carotid intima-media thickness – tloušťka tuniky intimy a medie koronární arterie
- CKD chronic kidney disease – chronické onemocnění ledvin
- CNS centrální nervová soustava
- CT computed tomography – výpočetní tomografie
- CTGF connective tissue growth factor – tkáňový pojivový růstový faktor
- DDS Denys - Drashův syndrom
- DS dutý systém
- DTK diastolický krevní tlak
- EGF endothelial growth factor – endoteliální růstový faktor
- ELISA Enzyme-Linked ImmnoSorbent Assay – enzymově vázaná imusorbentní reakce
- EM eliminační metody

eNOS endothelial nitric oxide synthase – endoteliální nitrit oxid syntáza

EPO erythropoietin

ESPN-ERA/EDTA European Society for Pediatric Nephrology - European Renal association/European Dialysis and Transplantation association – Evropská společnost pro dětskou nefrologii – Evropská renální společnost/Evropská dialyzační a transplantační společnost

FGF 23 fibroblast growth factor 23 – fibroblastový růstový faktor 23

FMD flow mediated dilation – průtokem mediovaná dilatace

GBM glomerulární bazální membrána

GFR glomerulární filtrace

HD hemodialýza

HGF hepatic growth factor – hepatální růstový faktor

hs-CRP high-sensitivity CRP – vysoce senzitivní C-reaktivní protein

HUS hemolyticko-uremický syndrom

IGF-1 insulin-like growth factor 1 – inzulinu podobný růstový faktor-1

KDIGO Kidney Disease Improving Global Outcomes – celosvětová nezisková organizace, která se věnuje zlepšování péče o pacienty s onemocněním ledvin

KDOQI Kidney Disease Outcomes Quality Initiative – organizace, která vytváří na důkazech založené postupy pro péči o pacienty s chronickým onemocněním ledvin

KIM 1 kidney injury molecule 1 – molekula poškození ledvin 1

LKS levá komora srdeční

Lpa lipoprotein A

MAPK mitogen-activated protein kinase – mitogenem aktivovaná proteinkináza

MCG mikční cystografie

MCP1 membrane cofactor protein 1 – membránový kofaktorový protein 1

MR magnetická rezonance

NAPRTCS North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies – severoamerická organizace zabývající se výzkumem v nefrologii

NF κ nuclear factor kappa – nukleární faktor kappa

NGAL neutrofil gelatinase-associated lipocalin – neutrofilní s gelatinázou asociovaný lipokalin

NO oxid dusnatý

NOU neobstrukční uropatie

NS nefrotický syndrom

OU obstrukční uropatie

PD peritoneální dialýza

PDGF platelet derived growth factor – růstový faktor z destiček

PGE2 prostaglandin E2

PTH parathormon

RAS osa renin-angiotenzin-aldosteron

RPGN rychle progredující glomerulonefritida

SAT střední arteriální tlak

SLE systémový lupus erythematoses

SMAD small “mothers against“ decapentaplegic – protein přenášející extracelulární signály z TGF ligandu

SMARCAL 1 gen SWI-SNF related matrix associated, actin dependent regulator chromatin – mutace tohoto genu podmiňují vznik Schimkeho imunooséální dysplázie

SFU Society for Foetal Urology – Společnost pro prenatální urologii

STK systolický krevní tlak

TAG triacylglyceroly

TNF α tumor necrosis factor alpha – faktor nádorové nekrózy alfa

TGF transforming growth factor – transformující růstový faktor

TGF β R transforming growth factor beta receptor – receptor pro transformující růstový faktor

TMA trombotická mikroangiopatie

TSP 1 trombospondin 1

TxL transplantace ledviny

UF ultrafiltrace

USRDS United States Renal Data System – národní organizace, která sbírá, analyzuje a distribuuje informace o pacientech s chronickým onemocněním ledvin

VDR vitamin D receptor – receptor pro vitamin D

VEGF vascular endothelial growth factor – cévní endoteliální růstový faktor

VUR vezikoureterální reflux

WT1 gen Wilms' tumor 1 gen – gen Wilmsova tumoru

Souhrn

V rámci této dizertační práce jsem se zabýval patofyziologií renálního postižení u pacientů s chronickým onemocněním ledvin- chronic kidney disease(CKD), definovaným dle Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) jako přetrvávání renálního postižení či snížení funkce ledvin po dobu nejméně 3 měsíců. Cílem bylo popsat biochemické a strukturální mechanismy poškození ledvin u těchto pacientů. Ve studii *Močové koncentrace TGF beta 1 u dětí s hydronefrózou*, zaměřené na postižení ledvin u dětí s obstrukční uropatií (OU), jsme se soustředili na identifikaci neinvazivního markeru transforming growth factoru (TGF) beta 1 u tohoto onemocnění a na jeho korelaci s laboratorními známkami nefropatie. Cytokin TGF beta 1 patří mezi hlavní mediátory fibrogenese u ledvinných onemocnění. U pacientů s hydronefrózou obstrukčního typu byla již v několika odborných pracích zjištěna zvýšená močová koncentrace TGF beta 1, tento nálezn ale jiní autoři nepotvrdili. V naší práci jsme jako první popsali korelace močových koncentrací TGF beta 1 s laboratorními markery postižení ledvin.

Ve studii *Časné projevy aterosklerózy u dětí s chronickým onemocněním ledvin* jsme se zaměřili na zkoumání následků CKD a zabývali jsme se jeho vlivem na vznik aterosklerózy. Zde jsme konstatovali, že pacienti v konečném stádiu selhání ledvin jsou mnohonásobně více ohroženi kardiovaskulárními komplikacemi než zbytek populace. V rámci této studie byla sonograficky změřena tloušťka tuniky intimy a medie, carotid intima-media thickness (CIMT)- neinvazivní vyšetření postižení cév. Dále jsme stanovili laboratorní parametry včetně lipidového profilu a aterogenního indexu plazmy (AIP). Závěrem jsme prokázali signifikantní rozdíl v CIMT i AIP u nemocných a zdravých dětí. Zajímavým zjištěním byl jasný vliv sérových hladin bilirubinu a albuminu, a tím

antioxidační kapacity organismu a malnutrice, na rozvoj aterosklerózy. Obě studie byly publikovány v lékařských časopisech s faktorem impaktu.

V kazuistice **Smrtelný případ typického hemolyticko uremického syndromu se závažným neurologickým postižením** jsme popsali případ 2 leté dívky, která zemřela v důsledku vzniku maligního edému mozku rezistentního na léčbu. Hladina sérové laktát dehydrogenázy se ukázala být dobrým markerem rizika vzniku neurologického postižení.

Další kazuistiky, dokumentující mou publikační činnost a publikované v impaktovaných časopisech, jsou součástí této dizertační práce.

English Summary

The objective of my PhD. thesis was to examine the pathophysiology of renal damage in patients with chronic kidney disease, defined by Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) as a persistent renal damage or lowering the kidney function at least for 3 months.

In the study *Urinary TGF beta 1 in children with hydronephrosis* we dealt with renal damage in children with obstructive uropathy. We focused on the identification of non-invasive marker transforming growth factor (TGF) beta 1 of this disease and its correlation with laboratory signs of renal parenchymal damage. Cytokine TGF beta1 belongs among the main mediators of fibrogenesis in kidney diseases. A higher urinary concentration of TGF beta 1 in patients suffering from obstructive hydronephrosis has been found in several studies before, but it has not been confirmed by other authors. In our study we are the first to describe the correlation of urinary concentrations TGF beta 1 with laboratory markers of kidney damage.

In the study *Premature atherosclerosis in children with chronic kidney disease* we dealt with the chronic kidney disease (CKD), its consequences and its impact on the origin of atherosclerosis. Patients in end-stage renal disease are many times over in danger of cardiovascular complications than the rest of the population. In this study we used the non-invasive examination of blood vessel damage when the thickness of the tunica intima and media, carotid intima-media thickness (CIMT) was measured by ultrasound. Further, we determined the laboratory parameters including the lipid profile and atherogenic index of plasma (AIP). Finally, we proved a significant difference in the CIMT and AIP between ill and healthy children. It was clearly observed that the serum levels of natural anti-oxidants- bilirubin and albumin- have an impact on the development of atherosclerosis. Both studies have been published in impact factor journals.

We have published a case report called **Fatal case of diarrhea-associated hemolytic uremic syndrome with severe neurologic involvement**. A 2 year-old girl died of malignant cerebral edema resistant to treatment. The level of serum lactate dehydrogenase has proved to be a useful risk factor of neurologic impairment.

Pediatric nephrology case reports, published in journals with impact factor and showing my publication activity, are part of this thesis.

Úvod

Výraz CKD označuje nezvratné ledvinné poškození, jež může být spojeno s poruchou renální funkce a často vede k progresivnímu selhávání ledvin. Dle Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI) se jedná o stav, který trvá ≥ 3 měsíce a zahrnuje strukturální nebo funkční abnormality ledvin s/bez snížené glomerulární filtrace (GFR), nebo se jedná o onemocnění s $GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ po dobu ≥ 3 měsíců. KDOQI vyvinula klasifikační systém, v jehož rámci lze dle míry postižení rozdělit pacienty s CKD do 5 stádií (Tab. 1) (KDOQI guidelines, 2002).

Stádium	GFR	Popis
1	$\geq 90 \text{ ml/min/1.73m}^2$	normální funkce ledvin, ale močový nálezn/strukturální abnormality nebo dědičná nefropatie
2	$60 - 89 \text{ ml/min/1.73m}^2$	mírně snížená funkce ledvin a event. další nálezy-viz. stádium 1
3	$30 - 59 \text{ ml/min/1.73m}^2$	středně snížená funkce ledvin
4	$15 - 29 \text{ ml/min/1.73m}^2$	výrazně snížená funkce ledvin
5	$< 15 \text{ ml/min/1.73m}^2$	konečné stádium renálního selhání

GFR...glomerulární filtrace

Tab. 1 *Rozdělení CKD do 5 stádií podle závažnosti dle KDOQI. Ve stádiu 1 je GFR ještě normální, v dalších stádiích je již snížená. Převzato z KDOQI guidelines, 2002.*

Tyto hodnoty se nevztahují na děti pod 2 roky věku. Po porodu má dítě obvykle hladinu kreatininu přechodně stejnou jako jeho matka, v kojeneckém a časném batolecím věku jsou hladiny GFR nižší a musíme pracovat s jinými normami (Heilbron et al., 1991). Snížení GFR odpovídá redukci počtu funkčních nefronů v ledvinách. K rychlému určení GFR byla vytvořena řada rovnic, nejužívanější je v dětském věku Schwartzova formule (Schwartz et al., 1987), k jejímuž výpočtu potřebujeme znát hladinu sérového kreatininu a výšku dítěte.

Mnoho dalších rovnic využívá ke zjištění GFR ještě jiných proměnných (např. cystatin C, ureu). CKD provází obvykle riziko progresu. Víme, že významná ztráta renální hmoty vede ke glomerulární hyperfiltraci ve zbytku tkáně ledvin s následným zvýšením intraglomerulárního tlaku, což přispívá ke vzniku glomerulární a tubulární hypertrofie. Zvýšený intraglomerulární tlak indukuje vznik patologické proteinurie, jejíž míra koreluje s progresí CKD (Peterson et al., 1995). Mezi hlavní následky CKD patří kardiovaskulární onemocnění, dále porucha růstu daná nejenom renální dysfunkcí, ale často také vznikající v souvislosti s léčbou základního onemocnění, může se projevit i renální anemie způsobená hlavně nedostatkem erythropoetinu (EPO) či kostní nemoc podmíněná narušením kalcium-fosfátového metabolismu.

Epidemiologie

Incidence 3.-5. stádia CKD v Evropě je 11 - 12/10⁶ věkově identických dětí. CKD je často asymptomatické a poddiagnostikované, i když řada zemí provádí cílený skrínink v rámci primární prevence - sonografií ledvin v novorozeneckém věku, vyšetření moči k detekci proteinurie. Ve světě však existují velké rozdíly v dostupnosti eliminačních metod (EM), v rozvojových zemích je možnost využití těchto metod v léčbě CKD omezená (Harambat et al., 2011). Nejčastější příčiny CKD u dětí jsou jiné než u dospělých pacientů. V dětském věku dominují vrozené vady ledvin a vývodných močových cest, glomerulonefritidy a hereditární nefropatie (Bek et al., 2009, Ardissino et al., 2003, Mong Hiep et al., 2010). Distribuci primárního renálního onemocnění při zahájení dle European Society for Pediatric Nephrology - European Renal Association/European Dialysis and Transplantation Association - ESPN-ERA/EDTA registru shrnuje tab. 2. Mezi nejčastější vrozené vady patří OU, renální hypo/dysplázie a refluxové nefropatie. Do skupiny hereditárních nefropatií řadíme dědičně podmíněná onemocnění glomerulů a tubulů, např. geneticky podmíněný nefrotický syndrom (NS), nefronoftízu, cystická onemocnění ledvin a metabolické vady. Zastoupení etiologie CKD je odlišné u černošské dětské populace, kde je významně vyšší výskyt fokálně segmentální glomerulosklerózy, což ukazují data ze severoamerického registru North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies (NAPRTCS) (NAPRTCS2011 annual report). V jihovýchodní Asii, Latinské Americe a Karibiku je nejobvyklejší příčinou CKD u dětí chronická glomerulonefritida (Vachvanichsanonget al., 2008, Orta-Sibu et al., 2002). V dospělosti na rozdíl od dětského věku patří mezi hlavní příčiny CKD diabetes mellitus, hypertenze a chronické glomerulonefritidy (USRDS Annual Report 2012).

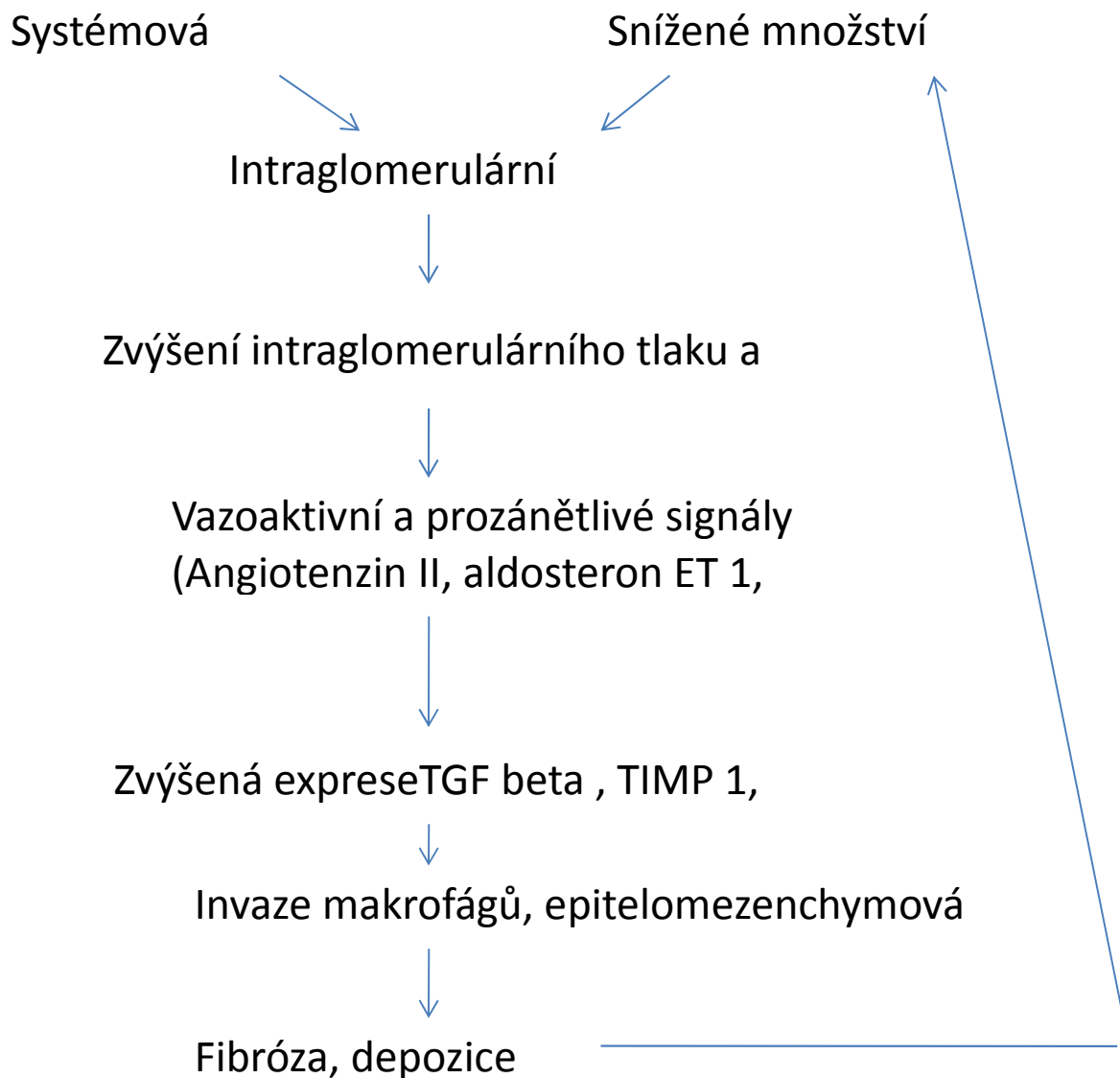
Distribuce primárního onemocnění ledvin při zahájení eliminační léčby u dětí <15 let	
Vrozené vady ledvin a vývodných močových cest	35,1%
Glomerulonefritidy	14,6%
Cystická onemocnění ledvin	10,2%
Hereditární nefropatie	4,6%
Hemolyticko-uremický syndrom	4,6%
Metabolické vady	3,6%
Pyelonefritida	2%
Hypoxicko-ischemické selhání ledvin	1,6%
Vaskulitidy	1,1%
Různé	10%
Neznámé	12,7%

Tab.2 Nejčastější příčiny CKD v dětském věku, u evropských dětí dominují vrozené vady ledvin a vývodných močových cest. Převzato z ESPN-ERA/EDTA Registry 2010.

Patofyziologické mechanismy progresu chronického onemocnění ledvin

Hypertenze, proteinurie

Progrese CKD je variabilní a závisí na primárním ledvinném postižení, pokročilosti renální nedostatečnosti, komorbiditách, etnicitě a genetickém pozadí. Povaha nemoci má zásadní význam, např. pacienti s imunologicky podmíněnými nefropatiemi, u nichž nemoc může probíhat pod obrazem rychle progredující glomerulonefritidy (RPGN), mohou o funkci ledvin přijít v řádu několika dní. U geneticky podmíněných onemocnění ledvin prognóza závisí na typu postižení. Významné zhoršení funkce ledvin často nastává v pubertálním a časném postpubertálním období. Na základě Brennerovy hypotézy víme, že pacienti s vrozenou redukcí počtu nefronů jsou vystaveni vyššímu riziku vzniku hypertenze a CKD v dospělosti (Brenner, 1994). Mechanismem vzniku CKD u těchto jedinců je kompenzační hyperfiltrace zbylých nefronů. Tato hypotéza je podporována i pozorováním, že děti s intrauterinní růstovou retardací významně častěji trpí v dospělosti hypertenzí. Zvýšení krevního tlaku spolu s redukcí počtu nefronů vede rovněž k elevaci intraglomerulárního tlaku, hyperfiltraci a zvýšené exkreci proteinů. Proteinurie vyvolává lokální prozánětlivou reakci a fibrotizaci vedoucí ke glomerulární hypertrofii a sklerotizaci tkáně. Spolu se změnami v glomerulech lze pozorovat i tubulointersticiální změny- atrofizaci, fibrózu při aktivaci osy renin-angiotenzin-aldosteron (RAS) (Obr.1). Hypertenze a proteinurie jsou hlavními faktory zodpovědnými za progresi CKD (Locatelli et al., 1996).

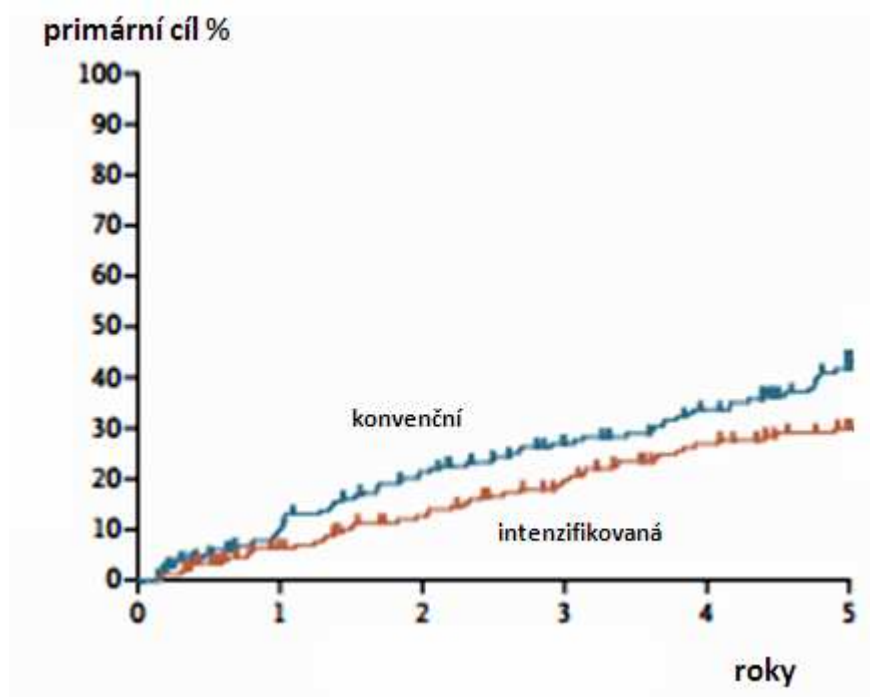


a

Obr. 1 Schéma vzniku CKD. Snížené množství nefronů a hypertenze jsou jasnými rizikovými faktory progrese renální insuficience vedoucí ke vzniku intraglomerulární hypertenze. Následně dochází k tvorbě lokálního zánětu a fibrotizaci. Převzato a modifikováno z Geary, Schaefer, *Comprehensive Pediatric Nephrology*, 2008.

Vlivem hypertenze na progresi CKD u dětí, potvrzeným v mnoha studiích s dospělými pacienty, se zabývala recentní ESCAPE studie zpracovaná European Study Group on Progressive Chronic Kidney Disease in Children, jež prokázala, že intenzifikovaná kontrola krevního tlaku, tedy snaha o snížení středního arteriálního tlaku (SAT) pod 50. percentil vzhledem k pohlaví a výšce, měla významně vyšší renoprotektivní efekt ve srovnání

s konvenčním snižováním krevního tlaku- snížením SAT pod 95. percentil. Ve skupině dětí se striktní kontrolou krevního tlaku byla pozorována signifikantně pomalejší progres CKD v porovnání s pacienty léčenými konvenčně, jak znázorňuje obr. 2. Tato studie také potvrdila, že medikamentózní snížení proteinurie zpomaluje rychlost progres CKD (Grenda et al. Snaha o korekci hypertenze i proteinurie má proto prvořadý význam při léčbě dětí s CKD. Léky první volby jsou ACE inhibitory, ev. blokátory angiotenzinového receptoru.



Obr. 2 Tento graf znázorňuje vliv intenzifikované kontroly krevního tlaku na zpomalení progres renální insuficience. Na ose y je procento pacientů, kteří dosáhli primárního sledovaného cíle, osa x ukazuje čas v letech. Primární sledovaný cíl byl pokles GFR o 50% nebo přechod do 5. stádia CKD. Pacienti zařazení do skupiny s intenzifikovanou léčbou hypertenze mají signifikantně pomalejší progresi CKD. Převzato z Wühl et al., *Strict Blood-Pressure Control and Progression of Renal Failure in Children*, NEJM, 2009.

Metabolické faktory

Dalším faktorem ovlivňujícím rychlost progres CKD je dyslipidemie. Vysoká hladina triacylglycerolů (TAG) a nízká hladina high density lipoprotein (HDL)-cholesterolu jsou

rizikovými faktory renální dysfunkce u dospělých pacientů. Dieta s vysokým zastoupením tuku vedla u zvířat ke vzniku glomerulosklerózy a poškození endotelu i podocytů (Abrass et al., 2004). Léčba statiny se ukázala jako účinná při snižování kardiovaskulární morbidity a mortality u pacientů se závažným CKD mimo stádium 5 (Wanner et al., 2005).

Korekce metabolické acidózy je také důležitá pro zpomalení progresu CKD u dospělých i dětských pacientů (Kraut et al., 2011, Shah et al., 2009), neboť metabolická acidóza vede ke zvýšení medulární amonemie s následnou aktivací komplementové kaskády a vznikem tubulointersticiálního poškození (Nath et al., 1991). Nově vzniklý bikarbonát alkalizuje intersticiium a umožňuje lokální precipitaci kalciových iontů (Halperin et al., 1989). Další animální i humánní studie prokazují, že zvýšená produkce endotelinu je zodpovědná za poškození tubulointersticia u pacientů s metabolickou acidózou (Phisitkul et al., 2010).

V prevenci progresu CKD je nutné se zaměřit rovněž na kalciofosfátový metabolismus. Vysoký kalciofosfátový produkt, součin hodnot sérového kalcia a fosforu, je spojen se vznikem renální vaskulopatie, tubulointersticiálních kalcifikací, zánětu a fibrózy. Zásadní význam má dodržování nízkofosfátové diety a užívání medikace. Terapie je podrobněji rozebrána v dalším textu.

Anemie

Také anemie a s ní související tkáňová hypoxie ovlivňují průběh CKD. Jedná se obvykle o normochromní normocytární anemii, jež bývá způsobena zkráceným přežíváním erytrocytů při jejich snížené odolnosti vůči mechanickým a osmotickým faktorům. Dále se na ní podílejí krevní ztráty a neadekvátní vzestup erythropoézy při nedostatečné produkci EPO. Hypoxie přímo ve tkáni navozuje zvýšenou produkci profibrotických molekul a kyslíkových radikálů. Léčba renální anemie rekombinantním EPO upravuje oxygenaci tkání. EPO také

působí příznivě přímo na tubulární buňky a intersticiální kapilární endotel (Aydin et al., 1997).

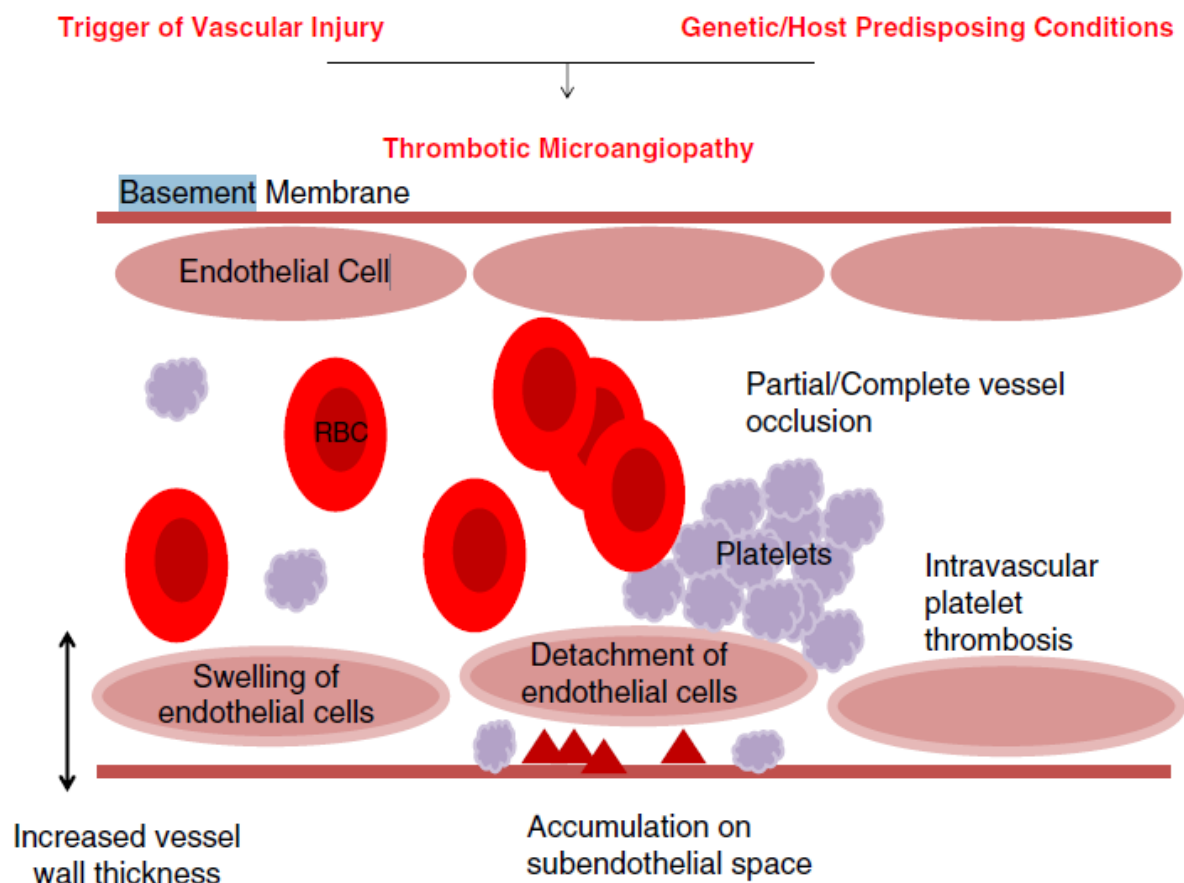
Vrozená a získaná onemocnění ledvin

V poslední době se zvažuje možnost genetické predispozice k progresi CKD. Např. genový polymorfismus RAS cytokinové cesty by mohl ovlivňovat průběh CKD (Rao et al., 2007). Pokračující výzkum v genetice snad v budoucnu odhalí další souvislosti mezi průběhem CKD a genetickou výbavou jedince. Časná intervence u vrozeně determinovaných pacientů by mohla vést k jejich lepší prognóze. Výzkum se v poslední době zaměřuje také na úlohu podocytů, epitelových buněk glomerulů, jejichž poškození vede často k progresivní ztrátě funkce ledvin. Podocyty již jsou konečně diferencované a neschopné reagovat na poškození proliferací nebo reparací. Jsou známy stavy provázené vrozeným i získaným poškozením podocytů, mezi vrozené podocytopatie patří geneticky podmíněný NS. V současnosti známe již řadu genů podmiňujících vznik NS (např. podocinový gen, nefrinový gen, *WT 1* gen, *SMARCAL 1* gen). Mutace *SMARCAL 1* genu vede ke vzniku Schimkeho imunooséální dysplázie- trpaslictví s nefrotickým syndromem a dalšími neurologickými, hematologickými a gastrointestinálními projevy nemoci. Pro geneticky podmíněný nefrotický syndrom je typické, že naprostá většina pacientů nereaguje na imunosupresivní léčbu. Mezi získané podocytopatie patří např. nefritida v rámci systémového lupus erythematoses (SLE) či postižení při diabetické nefropatii. Udržení filtrační bariéry v glomerulu vyžaduje vzájemnou souhru mezi podocyty a glomerulárními kapilárními endoteliálními buňkami, neboť právě poškození této bariéry vede k úniku bílkoviny do moči a projeví se proteinurií- hlavním symptomem nefrotického syndromu. Onemocnění ledvin vzniká i při poškození glomerulární bazální membrány (GBM), jako je tomu např. u Goodpastureovy nemoci, probíhající obvykle pod obrazem RPGN, kdy u nemocných dochází k tvorbě protilátek proti

antigenu, který je přítomen v GBM glomerulu a plicního alveolu. Pulmorenální syndrom je nejčastějším projevem této nemoci.

Pro Alportův syndrom, onemocnění charakterizované glomerulonefritidou spolu s poškozením sluchu a zraku, je příznačně vrozené poškození GBM. Příčinou této nemoci jsou mutace genu pro kolagen IV, důležitou strukturální komponentu GBM v ledvině, uchu a oku.

Postižení ledvin může vzniknout i na podkladě vaskulárního infarktu, klasickým příkladem je hemolyticko-uremický syndrom (HUS). Vznik trombotické mikroangiopatie (TMA) je patofyziologickým podkladem této nemoci. U typické formy HUS dochází po infekci enterohemoragické E.coli účinkem toxinu k poškození endotelu, otoku a odchlípení endoteliálních buněk. Do místa postižení jsou atrahovány trombocyty, které tvoří trombus a obstrukci v cévě, což vede k hemolýze erytrocytů. Patofyziologický mechanismus vzniku TMA ukazuje obr. 3. Toto onemocnění charakterizuje triáda příznaků- neimunní hemolytická anemie, trombocytopenie a akutní selhání ledvin. Asi u 1/3 těchto pacientů můžeme pozorovat známky chronické nefropatie. Atypický HUS se projevuje stejnými příznaky, ale patogeneza nemoci je jiná- patologická aktivace alternativní cesty komplementu, jež vede rovněž ke vzniku TMA. Atypický HUS má obvykle chronický průběh s postupnou progresí renální insuficience.



Obr. 3 Mechanismus vzniku trombotické mikroangiopatie. Převzato z Lindsay et al., *Shigatoxin-associated hemolytic uremic syndrome: current molecular mechanisms and future therapies*, *Drug Des Devel Ther.* 2012.

Extrarenální symptomatologie pacientů s D+HUS zahrnuje postižení CNS, pankreatu a myokardu. Neurologické komplikace jsou nejzávažnější s incidencí 25 - 50% a mortalitou okolo 20% (Nathanson et al., 2010). Mohou se vyskytovat poruchy vědomí, křeče, krvácení do CNS a edém mozku (Zieg et al., 2011). Patofyziologickým mechanismem postižení mozku u těchto pacientů bývá mikroangiopatie, hypertenze, hyponatremie, osmotické změny při dialyzační léčbě či přímý vliv toxinu prostřednictvím cytokinů (Takahashi et al., 2008). Mezi hlavní rizikové faktory postižení CNS patří ženské pohlaví, užívání léků zpomalujících střevní motilitu a vyšší hladina hemoglobinu při manifestaci onemocnění (Cimolai et al., 1992). Za další marker rizika neurologického postižení u dětí s D+HUS je považován rychlý vzestup sérové koncentrace LDH (Yamamoto et al., 2009).

Vrozené vady ledvin a vývodných močových cest

Nefrogeneze

Vrozené vady ledvin a vývodných močových cest představují asi 20 - 30% všech prenatalně diagnostikovaných anomálií a tvoří více než 60% všech příčin CKD u dětí (Queisser-Luft et al., 2002, Adrissino G et al., 2003). Ledvina vzniká z ureterálního pupenu a metanefrického blastému. Během 5. týdne gestace ureterální pupen vyrůstá z mezonefrického ductu a prorůstá metanefrický blastém. Ureterální pupen se opakovaně dělí a do konce 20. gestačního týdne vytváří celý systém tvořený ureterem, pánvičkou, kalichy, papilárními dukty a sběrnými tubuly. Nefrogeneze je úplná do 36. týdne těhotenství.

Normální vývoj ledviny probíhá ve třech stádiích.

- Pronefros- vyvíjí se ve 4. týdnu těhotenství. Jedná se o párový orgán z intermediálního mezodermu. Koncem 4. gestačního týdne zaniká (Hiruma et al., 2003).
- Mezonefros- v 5. gestačním týdnu je tvořen 20 párovými tubuly, začíná produkce malého množství moči. Po spojení s kloakou přispívá k utvoření močového měchýře a mužského genitálu. Toto vývojové stádium lidské ledviny tvoří vylučovací systém u ryb.
- Metanefros- je utvořen ve chvíli, kdy se ureterální pupen extenzivně rozvětví a indukuje tvorbu glomerulů a nefronů v okolním mezodermu. Je posledním stádiem ve vývoji ledviny (Constantini et al., 2006).

V současnosti známe řadu genů, jejichž mutace podmiňuje vrozené onemocnění uropoetického traktu. Rovněž faktory vnějšího prostředí ovlivňují vývoj ledviny. Např. užívání kokainu během těhotenství je významným rizikovým faktorem vzniku vrozených vad ledvin u dětí. Dysgeneze, abnormální vývoj ledviny, vede k mnoha patologickým stavům,

mezi něž patří ageneze, hypoplázie, dysplázie a cystická onemocnění ledvin. Vroené poruchy podmiňují často i vznik OU u dětí.

Obstrukční uropatie

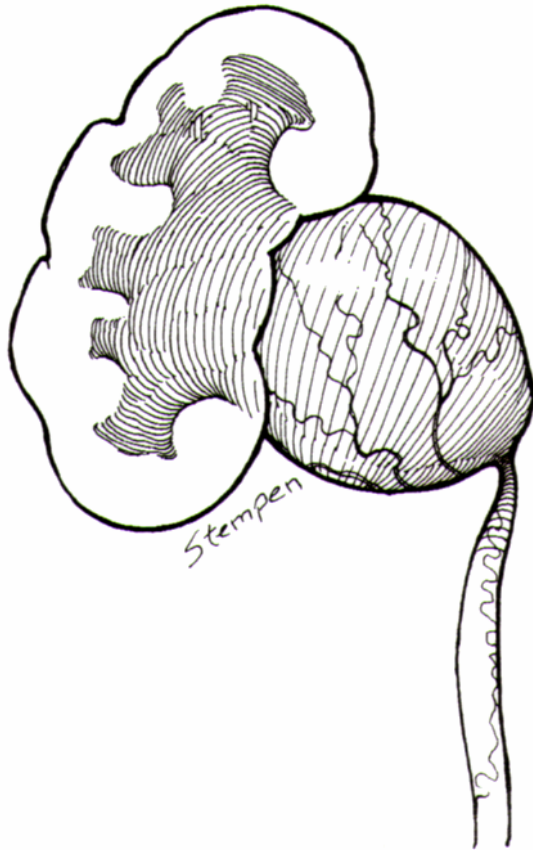
Patofyziologie

OU označuje onemocnění, při němž dochází k poruše odtoku moči z dutého systému (DS), čímž se navozuje zvýšení tlaku ve vývodných močových cestách a následně klesá průtok moči. Ponechání tohoto stavu bez léčby ohrožuje funkci a růst ledviny (Peters et al., 1995). OU představuje jednu z nejčastějších příčin CKD v dětském věku.

Příčiny vzniku OU mohou být multifaktoriální a polygenní. OU se obvykle projevuje nefyziologickou dilatací DS ledviny na podkladě vrozené nebo získané překážky ve vývodném močovém systému, nejčastěji v pyeloureterálním přechodu (obr. 4), dále v ureterovezikální junkci anebo infravezikálně. Překážka může být zevní, tak je tomu při extrarenální kompresi (cévní svazek, tumor), nebo vnitřní, kdy jde o anatomickou (chlopeň zadní uretry, stenóza pyeloureterálního přechodu, stenóza uretry, urolitiáza) nebo o funkční (neurogenní dysfunkce močového měchýře, adynamický segment ureteru) patologii. Není-li obstrukce odstraněna, dochází ke zvýšení intraluminárního tlaku v DS, poruše vývoje ledviny a ve svém důsledku k poškození renální funkce. OU bývá jednostranná, eventuelně může postihovat obě ledviny. Pouze u chlapců se objevuje velmi závažná vrozená vada, jejímž následkem bývá oboustranné postižení ledvin. Jedná se o chlopeň zadní uretry s incidencí 1: 8000-25 000 dětí (Bomalaski et al., 2010). Nicméně OU nevede vždy k dilataci dutého systému, např. mírná forma chlopně zadní uretry se může projevit pouze ztluštěním stěny močového měchýře a nálezem postmikčního rezidua.

Naopak samotná dilatace DS vznikne i bez překážky ve vývodných močových cestách, např. u pacientů s vezikoureterálním refluxem (VUR), event. při hypotonii DS. Tato

onemocnění nazýváme neobstrukční uropatie a jejich odlišení od OU je nezbytné ke zvolení vhodného způsobu léčby a odhadu dalšího vývoje nemoci.



Obr.4 Schématické znázornění ureteropelvickej obstrukce, jejímž následkem dochází k dilataci vývodného močového systému a k útlaku parenchymu ledviny. Převzato z Baskin LS et al., *Handbook of Pediatric Urology*, 1997.

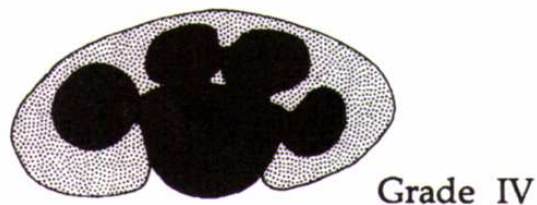
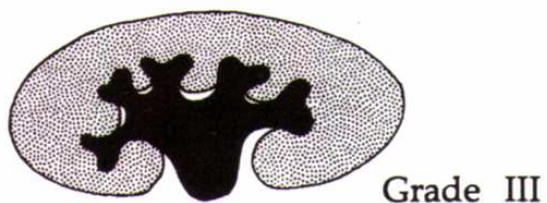
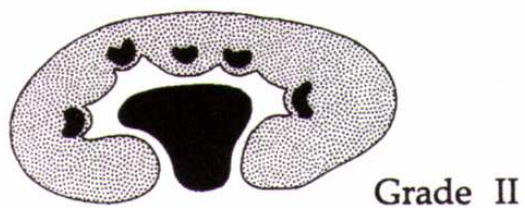
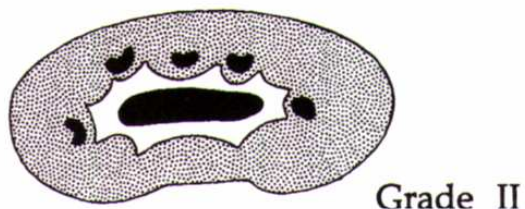
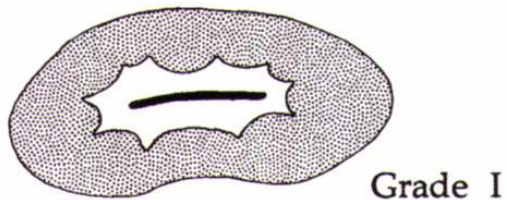
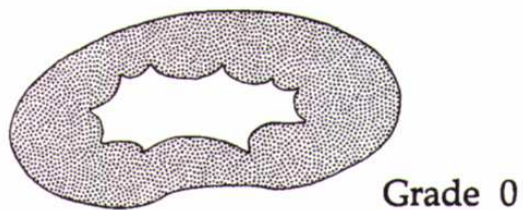
Zobrazovací a funkční vyšetření

Zobrazovací metody mají v diagnostice OU zásadní význam. Ultrazvukové vyšetření, jež je dostupné a minimálně zatěžuje dětského pacienta, podává informaci o velikosti ledviny, pánvičky, kalichů, šířce renálního parenchymu, močovodů a o síle stěny močového měchýře. Sonografie umožňuje rozdělení hydronefrózy do 5 stupňů podle závažnosti dle

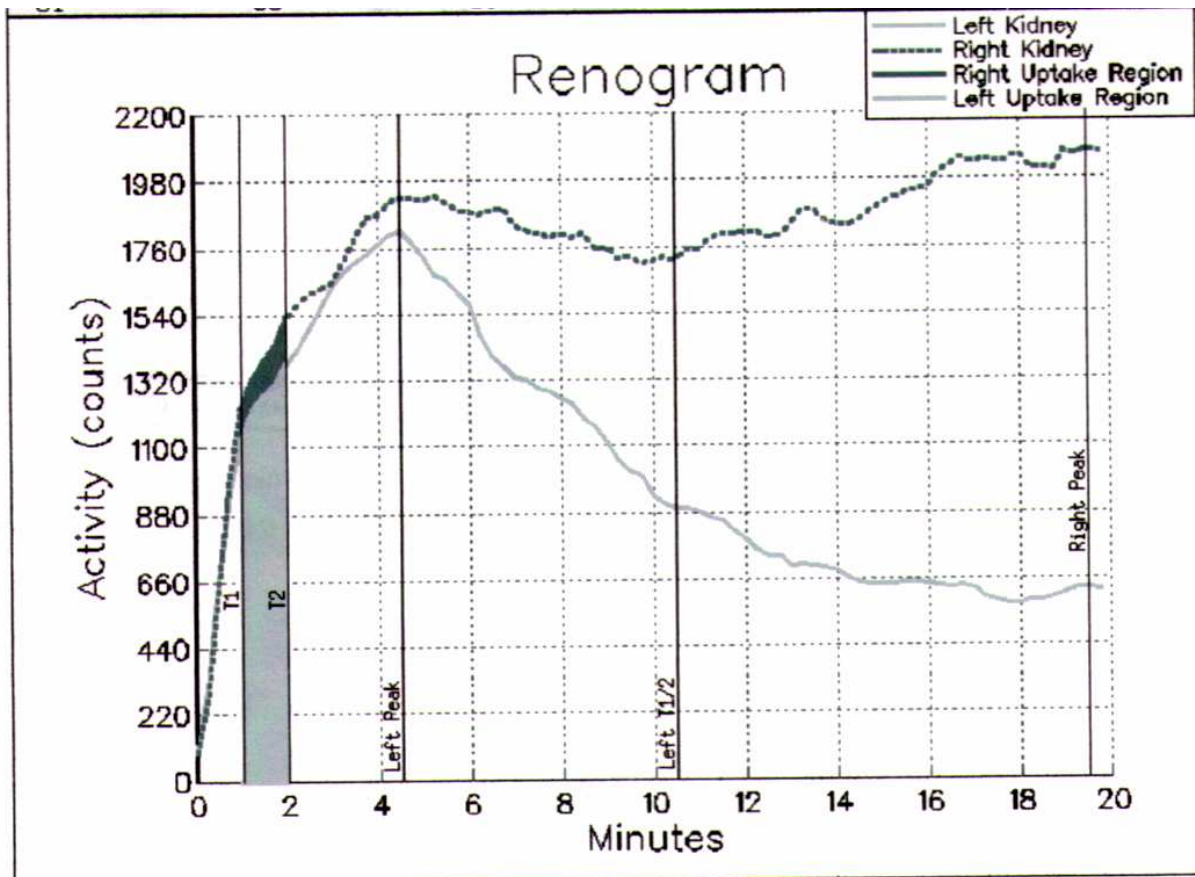
klasifikace Society of Foetal Urology (SSFU) (Obr.5). V některých případech může ultrazvuk přímo objasnit příčinu OU- např. litiázu, tumor.

Při diagnostice OU využíváme další důležité vyšetření- dynamickou scintigrafii ledvin. V praxi používáme nejčastěji techneciem značený merkptoacetyltriglycin ^{99m}MAG3. Vyšetřujeme paralelně obě ledviny a zjišťujeme změny aktivity, které odpovídají průtoku a hromadění radiofarmaka v močovém systému. V desetisekundových intervalech sledujeme rozložení aktivity nad ledvinami po dobu 30 minut. Nefrografické křivky zachycují změny aktivity v závislosti na čase, získáváme tak informace o relativní stranové funkci ledvin, renálním prokrvení a odtokových parametrech. Pro OU je typická tzv. obstrukční renografická křivka (Obr 6).

Dříve používaná vylučovací urografie se v současnosti nahrazuje modernějšími zobrazovacími metodami- počítačovou tomografií (CT) a magnetickou rezonancí (MR). CT se využívá především k detekci litiázy, traumatu a tumorů ledvin jako možných příčin OU. Mezi moderní vyšetřovací metody patří MR urografie, jíž lze s velkou přesností ozřejmit morfologii vývodných močových cest. Možnost trojrozměrné rekonstrukce zde výrazně napomáhá objasnění příčiny a míry obstrukce, a navíc poskytuje informace o relativní funkci ledvin a odtokových parametrech bez vystavení dětí ionizujícímu záření. Toto vyšetření se využívá také k prenatální diagnostice. MR urografie je v současnosti považována za nejkompexnější vyšetření používané ke zhodnocení OU, ledvinných anomálií a známek akutní pyelonefritidy (Renjen P et al., 2012). Nevýhodou je menší dostupnost a nutnost podání celkové anestezie u malých dětí.



Obr.5 Rozdělení hydronefrózy do 5 stupňů podle závažnosti. Postupně pozorujeme dilataci pánvičky, dále kalichů a ve čtvrtém stádiu je patrná i redukce parenchymu. Převzato z Baskin LS et al., Handbook of Pediatric Urology, 1997.



Obr.6 Renogram znázorňuje obstrukční tvar křivky charakteristický pro poruchu odtoku moči dutým systémem pravé ledviny. Osa x vyjadřuje čas v minutách, osa y znázorňuje aktivitu izotopu.

Obstrukce vývodných cest močových vede zpravidla k významnému poškození renálního parenchymu, schematicky znázorněnému na obr. 7. Je známo, že přetrvávající obstrukce během fetálního vývoje má za následek poruchu růstu ledviny, v těchto případech obvykle kontralaterální ledvina kompenzatorně hypertrofuje. U pacientů s OU dochází v postižené ledvině ke snížení průtoku krve a glomerulární filtrace (GFR), k diferenciaci a proliferaci fibroblastů, tubulární apoptóze, leukocytární infiltraci renální tkáně, aktivaci RAS a ke zvýšené produkci TGF beta 1 a některých dalších cytokinů- tumor necrosis factoru alpha (TNF alfa), nukleárního faktoru kappa (NFκ), angiotenzinu II, endotelinu a membrane cofactor proteinu 1 (MCP 1). Jsou také známy cytokiny, jejichž exprese je u OU snižená- epidermální růstový faktor (EGF), hepatální růstový faktor (HGF) (Klahr et al., 2001).

Kardiovaskulární onemocnění patří mezi nejzávažnější komplikace CKD, a proto je porozumění patofyziologickým mechanismům vzniku aterosklerózy u těchto dětí a prevence kardiovaskulárního onemocnění zásadní pro ovlivnění morbidity a mortality dětí s CKD.

Kardiovaskulární onemocnění patří mezi nejzávažnější komplikace CKD, a proto je porozumění patofyziologickým mechanismům vzniku aterosklerózy u těchto dětí a prevence kardiovaskulárního onemocnění zásadní pro ovlivnění morbidity a mortality dětí s CKD.

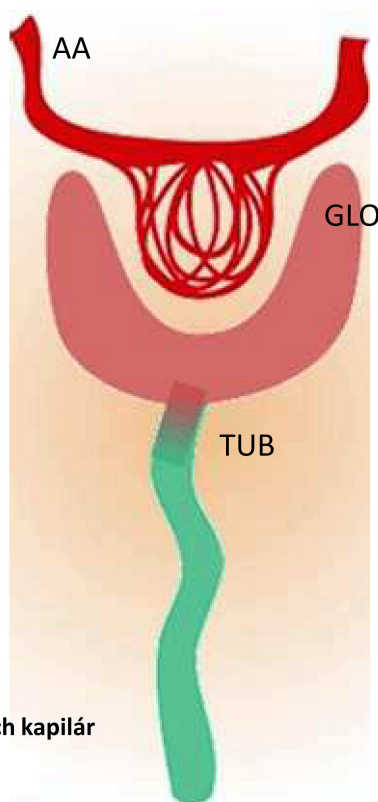
Histologická léze

změněná produkce reninu

snížený počet glomerulů
prodloužené zrání glomerulů
dilatace Bowmanova pouzdra
fúze pedicel

rozpojení glomerulů a tubulů
tubulární nekróza
ztenčení glomerulární bazální
membrány
apoptóza
atrofie
dilatace

intersticiální zánět, fibróza
snížená denzita peritubulárních kapilár



Funkční projevy

EA
snížený průtok krve ledvinou

snížená GFR
snížená proteinurie

snížená reabsorpce sodíku
snížená reabsorpce vody
snížená koncentrační schopnost
snížená exkrece kyselin a
tvorba bikarbonátu

Obr. 7 Znárodnění vlivu obstrukční uropatie na funkci ledviny a změny v histologickém vyšetření. Převzato z Klein et al., *Congenital ureteropelvic junction obstruction: human disease and animal models*, *Int J Exp Pathol.*, 2011.

Rozšíření DS ledviny bývá v současné době zjištěno často již prenatálně během sonografického vyšetření. Zatím však nemáme k dispozici jednoduché vyšetření, jasně definující pacienty s rizikem poškození ledviny. Mezi zřejmé rizikové faktory patří oboustranné postižení DS či hydronefróza solitární ledviny a závažná jednostranná hydronefróza s předozadním rozměrem pánvičky >15mm zjištěném sonograficky ve třetím trimestru gravidity. Jsou-li děti postiženy mírnou formou hydronefrózy (do 15mm), dochází u

většiny z nich do 18 měsíců věku k úplné úpravě stavu, což bylo potvrzeno velkou recentní studií (Mamí et al., 2009). Nejčastější příčinou dilatace DS bývá hypotonie vývodného močového systému. Vzácně však může dojít k progresi závažnosti hydronefrózy po přechodném zlepšení. Matsui et al. v rozsáhlé retrospektivní studii popsali zhoršení pouze u 1% pacientů s prenatálně zjištěnou hydronefrózou na podkladě OU ve středním věku 40 měsíců, které bylo ve všech případech provázeno klinickou symptomatologií (Matsui et al., 2008). Diagnostika OU je náročná, a proto usilujeme o nalezení specifických neinvazivních markerů obstrukce, abychom se tak vyhnuli některým vyšetřením či procedurám, zatěžujícím pacienta.

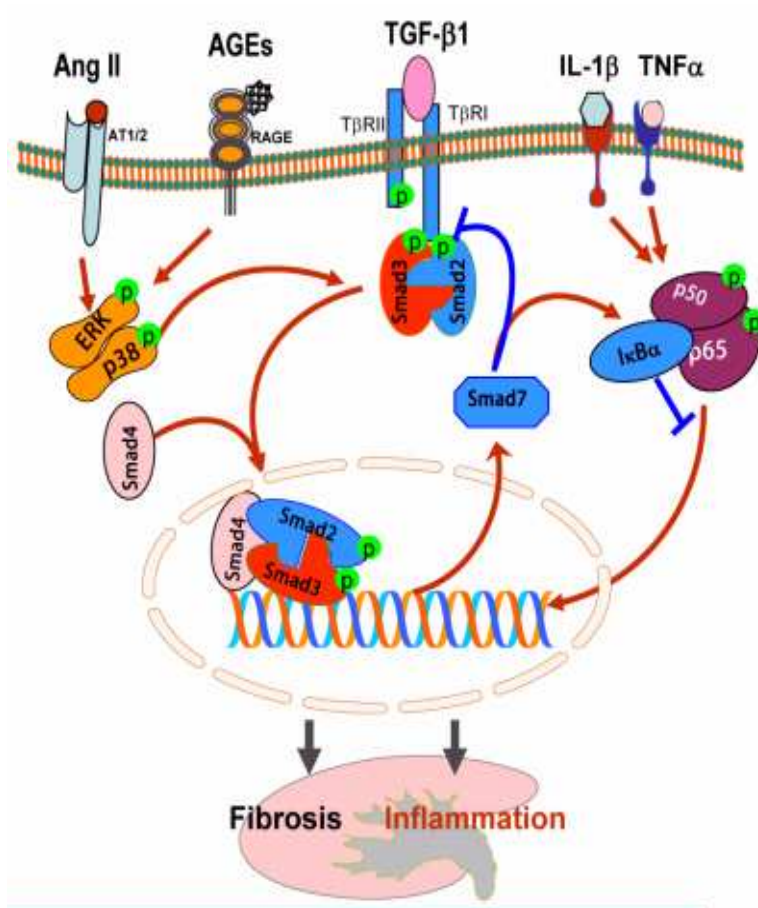
Mediátory poškození ledvin u obstrukční uropatie

TGF beta 1

Klíčovým mediátorem renálního postižení u OU je cytokin TGF beta 1, člen TGF beta superrodiny, zahrnující aktiviny, inhibiny, růstové a diferenciacní faktory a bone morphogenetic protein (BMP). TGF beta, jenž se vyskytuje ve třech izoformách- TGF beta 1, TGF beta 2 a TGF beta 3, byl objeven před více než 25 lety jako faktor produkovaný transformovanými buňkami indukujícími růst ledviny u krys (Roberts et al., 1981). Jedná se o molekuly, jež regulují buněčnou proliferaci, diferenciaci, apoptózu, migraci a adhezi u mnoha typů buněk a hrají důležitou roli v embryogenezi, opravě tkáňového poškození a v udržování homeostázy (Chang et al., 2002). TGF beta 1 je syntetizován buňkami ledvin jako latentní prekurzor v komplexu s vazebnými proteiny.

TGF beta 1 se stává aktivní po uvolnění vazebného peptidu, jakmile se naváže na TGF beta receptor II (TGFβRII), dochází k aktivaci enzymu TGF beta receptor typ I- kinázy (TGFβRI) a fosforylaci Smad 2, Smad 3- signálních proteinů, které se posléze váží na Smad 4 a spolu tvoří Smad komplex, jenž se dostává do buněčného jádra a reguluje transkripci cílového genu. Aktivace latentní formy TGF beta 1 je mediována plazminem a trombospondinem 1 (TSP 1). Smad 7 je inhibiční Smad, negativně regulující syntézu Smad 2 a Smad 3. Efekt TGF beta 1 může být zprostředkován i Smad nezávislou cestou (Hui et al., 2011). TGF beta 1 také není jedinou molekulou schopnou aktivovat Smad, aktivace může probíhat i signální cestou mitogen aktivované proteinkinázy (MAPK) (Lan et al., 2011). U diabetických pacientů jsou také konečné produkty glykace (AGE) schopny aktivovat Smad 2, Smad 3 nezávisle na TGF beta 1 cestou ERK/p38MAP kinázového mechanismu. Tato skutečnost byla prokázána v pokusech s blokádou TGFβRII, jež nevedla k potlačení tvorby fibrózy (Li et al., 2004). U pacientů s hypertenzí může signálovou Smad cestu i Smad

nezávislou cestu aktivovat angiotenzin II. Aktivační cesty při vzniku fibrózy a lokálního zánětu shrnuje obr.8.



Obr.8 Aktivace TGF beta/Smad a vznik renální fibrózy a lokálního zánětu. TGF beta 1 se váže na TGFβRII, poté dochází k aktivaci TGFβRI- kinázy, která fosforyluje Smad 2, Smad 3. Po vazbě na Smad 4 dochází k tvorbě Smad komplexu, který po translokaci do jádra buňky reguluje genovou transkripci. Smad 7 je inhibiční a blokuje přímo aktivaci Smad 2,3 a navíc potlačuje NFκB mediovanou zánětlivou odpověď. Angiotenzin II a AGE jsou schopny aktivovat Smad nezávisle na TGF beta 1. Převzato z Huy LY et al., *Diverse Roles of TGF-β/Smads in Renal Fibrosis and Inflammation. Int J Biol Sci. 2011.*

Z recentního výzkumu, jenž pomohl objasnit molekulární mechanismy vedoucí k renální fibróze, vyplývá, že Smad 3 je hlavním mediátorem TGF beta/Smad signální cesty zodpovědným za vznik fibrózy a lokálního zánětu. Naproti tomu Smad 2 má renoprotektivní efekt a brání vzniku renální fibrózy inhibicí Smad 3. Samotný nedostatek Smad 2 posiluje tvorbu fibrózy ledvinné tkáně. Smad 4 má více účinků, účastní se na Smad 3 zprostředkované

tvorbě fibrózy ledvinné tkáně, potlačuje ale NFκB mediovanou zánětlivou odpověď stimulací exprese Smad 7. Smad 7 je negativní regulátor renální fibrózy i tvorby lokálního zánětu. Aktivace Smad 7 brání fosforylaci komplexu Smad 2/3 degradací TGFβRI ubiquitinovou signálovou cestou a tím blokuje tvorbu fibrózy. Při onemocnění ledvin dochází k potlačení tvorby Smad 7 a k nerovnováze mezi TGF beta/Smad a NFκB signálními cestami, což vede ke vzniku fibrózy a zánětu (Hui et al., 2011).

TGF beta 1 je považován za hlavního mediátora fibrogenese, neboť stimuluje produkci extracelulární matrix, inhibuje její degradaci a transformuje tubulární buňky tzv. epitelomezenchymální přeměnou na myofibroblasty, produkující proteiny extracelulární matrix- fibronektin a kolagen. TGF beta 1 spolu s angiotenzinem II aktivuje connective tissue growth factor(CTGF), jenž je také fibrogenním mediátorem v ledvině (Burns et al., 2006).

Zásadní úlohu TGF beta 1 při vzniku renální fibrózy prokázaly animální studie. U myši s vysokými hladinami TGF beta 1 byla zjištěna progresivní nefropatie charakterizovaná proliferací mezangia a také akumulací glomerulárních imunitních depozit a proteinů s intersticiální fibrózou (Kopp et al., 1996). Fibróza úzce koreluje s progresí CKD bez ohledu na základní onemocnění. Řada prací se zabývá možnostmi ovlivnění fibrogenese v ledvině. Bylo prokázáno, že blokáda TGF beta anti-TGF beta protilátkami zmírnila známky renální fibrózy u myši s diabetickou nefropatií (Ziyadeh et al., 2000). Podobný efekt má i analog aktivovaného vitamínu D parikalcitol právě na podkladě inhibice RAS, potlačením epitelomezenchymální přeměny a zachováním integrity tubulů (Tan et al., 2006). Míra renální fibrotizace byla snížena i podáváním losartanu- inhibitoru receptoru pro angiotenzin II (Zhang et al., 2010). Významné antifibrinogenní vlastnosti v ledvinné tkáni byly zjištěny také u suraminu, derivátu močoviny, jehož působení inhibuje aktivační kaskádu TGF beta 1 (Liu et al., 2011).

TGF beta 1 se dále podílí na lokální imunitní zánětlivé reakci. Z výše uvedeného je patrné, že aktivní forma TGF beta 1 je hlavním fibrogenním mediátorem v ledvině u pacientů s OU. Je pozoruhodné, že na myším modelu s anti-GBM glomerulonefritidou byl u latentní formy TGF beta 1 prokázán jasný protizánětlivý efekt. V této studii byla jako příčina popsána nadměrná produkce Smad7 (Huang et al., 2008). I další animální studie prokazují protizánětlivý efekt TGF beta 1 v ledvině. Systémové podávání TGF beta 1 myším potlačuje zánětlivou odpověď streptokokové erozivní artritidy a brání relapsu SLE (Chen et al., 1998, Raz et al., 1995). Protizánětlivý účinek latentní formy TGF beta 1 je zprostředkován Smad7 mediovanou inhibicí NFκ. TGF beta 1 dále blokuje syntézu interleukinu 1, TNF alfa, MCP1, inhibuje infiltraci tkáně T-buňkami a makrofágy, brání vzniku lokálního zánětu a fibrózy (Kitamura et al., 1996, Wang et al., 2005). Na zvířecích modelech byl také prokázán rozvoj letálních autoimunitních projevů při absenci TGF beta 1 (Yaswen et al., 1996).

TGF beta 1 hraje klíčovou úlohu rovněž v angiogenezi, jejíž porucha může vést k progresivní renální fibróze. Naopak excesivní angiogeneze bývá spojována s diabetickou nefropatií. TGF beta 1 ovlivňuje angiogenezi cestou Smad regulací exprese vaskulárního enterálního růstového faktoru (VEGF)- proangiogenního faktoru. Ukazuje se, že Smad 2 má antiangiogenní efekt, naopak Smad 3 se vyznačuje efektem proangiogenním. (Nakagawa T et al., 2004).

Obstrukce vývodných močových cest a následná aktivace RAS navozují intraglomerulární hypertenzi. Tento model se od 80. let dvacátého století považuje za příčinu progresu chronické renální insuficience, kdy aktivace RAS vyvolává zvýšení hydrostatického tlaku na glomerulární membráně. Angiotenzin II stimuluje produkci TGF beta 1, který podmiňuje hypertrofii tubulárních buněk a mezangiální proliferaci (Wolf et al., 1993). Výsledky studie ESCAPE jednoznačně prokázaly, že elevace TGF beta 1 v moči byla nejsignifikantnější u dětí s OU (Grenda et al., 2007). Inhibitory RAS snižují lokální syntézu

TGF beta 1 v ledvinách a tím brání jejich poškození (Noble et al., 1997). Na druhé straně výsledky studií s podáváním léků inhibujících RAS jsou nejednoznačné. Radović et al. dokonce popsal u zvířat léčených ACE inhibitorem zvýšenou apoptózu buněk v renálním intersticiu (Radović et al., 2008).

EGF

Zásadní roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciaci hraje cytokin EGF, jenž je produkován tubulárním aparátem a velkou měrou se účastní patogeneze postižení ledvin u pacientů s OU. Významně snížená produkce EGF byla popsána u zvířat s chronickou obstrukcí vývodných močových cest (Chung et al., 1996). Podávání exogenního EGF vedlo na zvířecích modelech k urychlení regenerace tubulů a časnější úpravě renální funkce (Humes et al., 1989). V humánních studiích byly prokázány statisticky významně nižší močové koncentrace EGF u dětí s OU v porovnání se zdravými kontrolami a tento cytokin se také zdá být vhodným pro sledování pacientů po pyelopastice (Grandalino et al., 2000). Závěry těchto studií však nebyly potvrzeny prací Tahy et al., který uvádí, že močová koncentrace EGF na rozdíl od TGF beta 1 není považována za vhodný marker OU u dětí (Taha et al., 2007).

Angiotenzin II

Protein hormonální povahy angiotenzin II se účastní aktivace RAS. Vzniká z angiotenzinu I reakcí katalyzovanou angiotenzin konvertujícím enzymem, navozuje apoptózu ledvinných buněk cestou oxidativního stresu a vazokonstrikce a zvyšuje expresi dalších cytokinů s nefrotoxickým účinkem- TGF beta 1, TNF alfa, NFκ, platelet derived growth faktoru (PDGF) (Misseri et al., 2005, Klahr et al., 2001). Ovlivnit jeho produkci je možné také léky zasahujícími do osy RAS.

Endotelin

Endogenní peptid endotelin 1 navozuje u pacientů s OU vazokonstrikci vas afferens i efferens, a tím i snížení průtoku krve ledvinami a pokles GFR. Výrazné zvýšení sekrece endotelinu 1 bylo zjištěno u experimentálních zvířat s OU. Signifikantně vyšší močové koncentrace endotelinu 1 v moči u pacientů s OU byly potvrzeny i v rámci studie ESCAPE provedené na velké populaci dětí s CKD (Grenda et al., 2007).

Prostaglandin E2

Cuzzolin et al. prokázal zvýšení močové koncentrace prostaglandinu E2 (PGE₂), metabolitu kyseliny arachidonové u dětí s OU (Cuzzolin et al., 2001). Již dříve bylo ve zvířecí studii zjištěno, že obstrukce vývodných močových cest vede k nadměrné produkci PGE₂ buňkami sběrného kanálku (Torikai et al., 1987).

Membrane cofactor protein 1

Zásadním prostředníkem migrace monocytů do tubulointersticia ledviny u OU je MCP1, syntetizovaný tubulárním epitelem a intersticiálními buňkami. Grandaliano et al. popsal vyšší expresi MCP 1 u pacientů s OU v porovnání se zdravými kontrolami. Exprese MCP1 významně korelovala s mírou monocytární infiltrace tubulů a intersticia. Chirurgická korekce OU vedla k významnému snížení exkrece MCP1 (Grandaliano et al., 2000).

Markery akutního poškození ledvin u obstrukční uropatie

Mezi markery určující postižení ledvin při akutním selhání patří neutrofil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) a kidney injury molekule 1 (KIM 1). Recentní studie prokázala signifikantně vyšší vylučování obou těchto molekul do moči u pacientů s OU ve srovnání se zdravými kontrolami (Wasilewska et al., 2011).

Léčba obstrukčních uropatií

Cíl léčby OU spočívá ve snaze zachovat funkci postižené ledviny a uvolnit překážku vývodných močových cest. Konzervativní léčbou se snažíme u hydronefrózy vyššího stupně zabránit vzniku močové infekce, v indikovaných případech se používají antibiotika v profylaktických dávkách. Z chirurgických výkonů se nejčastěji provádí pyeloplastika otevřenou operací nebo laparoskopicky, případně jiný chirurgický zákrok vedoucí k uvolnění obstrukce. Toto téma není předmětem naší práce, proto se o něm nebudu zmiňovat širěji.

Komplikace chronického onemocnění ledvin a jejich terapie

Renální anemie

Vznik renální anemie u dětí s CKD je důsledkem nedostatečné produkce EPO postiženými ledvinami, jež klesá spolu s progresí CKD. K vývoji anemie přispívá rovněž snížené přežívání erytrocytů, či další okolnosti vedoucí k anemii v závislosti na základním onemocnění- např. imunitní destrukce erytrocytů u autoimunitní hemolytické anemie, či polékové anemie při užívání imunosupresiv- cyklofosfamidu, mykofenolát mofetilu. Také chronický zánět, krevní ztráty, hyperparathyreoidizmus, hypotyreóza, nedostatek kyseliny listové a vitamínu B12 mohou přispívat ke vzniku anemie. Podávání EPO spolu s léčbou preparáty železa je zásadní v léčbě anemie u pacientů s CKD. Peritubulární buňky ledvin produkují EPO záhy po narození dítěte, stimulem pro jeho zvýšenou produkci je hypoxie a prostředníkem tvorby je hypoxia-inducible factor, přímo ovlivňující gen pro EPO (Fisher et al., 2003). Hodnoty hladiny hemoglobinu svědčící pro anemii závisí u dětí na věku.

Renální anemie ovlivňuje nepříznivě prognózu dětských pacientů s poruchou ledvin tím, že navozuje tkáňovou hypoxii a přispívá k progresi renální insuficience. Hypoxie tubulárních buněk pak vede ke vzniku intersticiální fibrózy a tubulárního poškození. Korekce anemie umožňuje dostatečné zásobení tkáně kyslíkem a chrání ledviny před tubulárním a ve svém důsledku glomerulárním poškozením (Rossert et al., 2003). Přetrvávající anemie může vyústit v hypertrofii levé komory srdeční (LKS), kardiální dilataci či v městnavé selhání srdeční (Mitsnefes et al., 2000). Morris et al. prokázal, že terapie EPO vedla k výraznému ovlivnění kvality života dětí s CKD, u nichž bylo pozorováno zlepšení kognitivních a kardiovaskulárních funkcí i zvýšená tolerance fyzické zátěže (Morris et al., 1994).

Poruchy kostního metabolismu u dětí s chronickým onemocněním ledvin

Kostní systém člověka se vyvíjí v dětství. Porušený metabolismus kostí patří mezi hlavní komplikace CKD. Fyziologii kostního metabolismu shrnuje obrázek 9. V ledvinách dochází k přeměně zásobní formy vitamínu D na jeho aktivní formu 1,25 dihydroxycholecalciferol za účasti enzymu 1 alfa hydroxylázy. U nemocných s CKD je tvorba aktivní formy vitamínu D suprimovaná následkem snížení počtu funkčních nefronů a vede ke snížené intestinální absorpci kalcia s následným rozvojem hyperparatyreózy. V časných stádiích CKD nalézáme v krvi normální hladinu fosforu, při progresi renální insuficience bývá vyšší. Vzniklá hyperfosfatemie vede k další stimulaci sekrece parathormonu (PTH) a supresi alfa 1 hydroxylázové aktivity (Portale et al., 1984). S postupnou progresí renální insuficience se rozvíjí rezistence k PTH, stále vyšší hodnoty PTH jsou nutné k udržování kostního metabolismu. Sekundární hyperparatyroidismus tudíž vzniká na podkladě progresu renální nedostatečnosti, snížené exkrece fosforu, významnou roli hraje porucha syntézy aktivního vitamín D. Dysregulace kalciofosfátového metabolismu má za následek hyperfosfatemii při snížené exkreci fosforu a ve svém důsledku způsobuje vzestup hladin fibroblast growth factoru 23 (FGF 23), který dále snižuje aktivitu 25(OH)-1-hydroxylázy, enzymu zodpovědného za přeměnu vitamín D na jeho aktivní formu. Již v časně fázi vzniku sekundárního hyperparatyroidizmu je patrná snížená exprese kalcium sensing receptoru (CaSR) a receptoru pro vitamín D (VDR) na přístitných tělískách, což vede k jejich porušené regulační odpovědi na změny hladiny sérového kalcia a PTH. Zvýšená proliferační aktivita může dále způsobit hyperplázii přístitných tělísek a vznik terciální hyperparatyreózy. Hyperfosfatemie vede ke zvýšené syntéze FGF 23, jenž po navázání na Clotho-FGF receptorový komplex v proximálním tubulu ledviny snižuje reabsorpci fosforu. Zvýšené

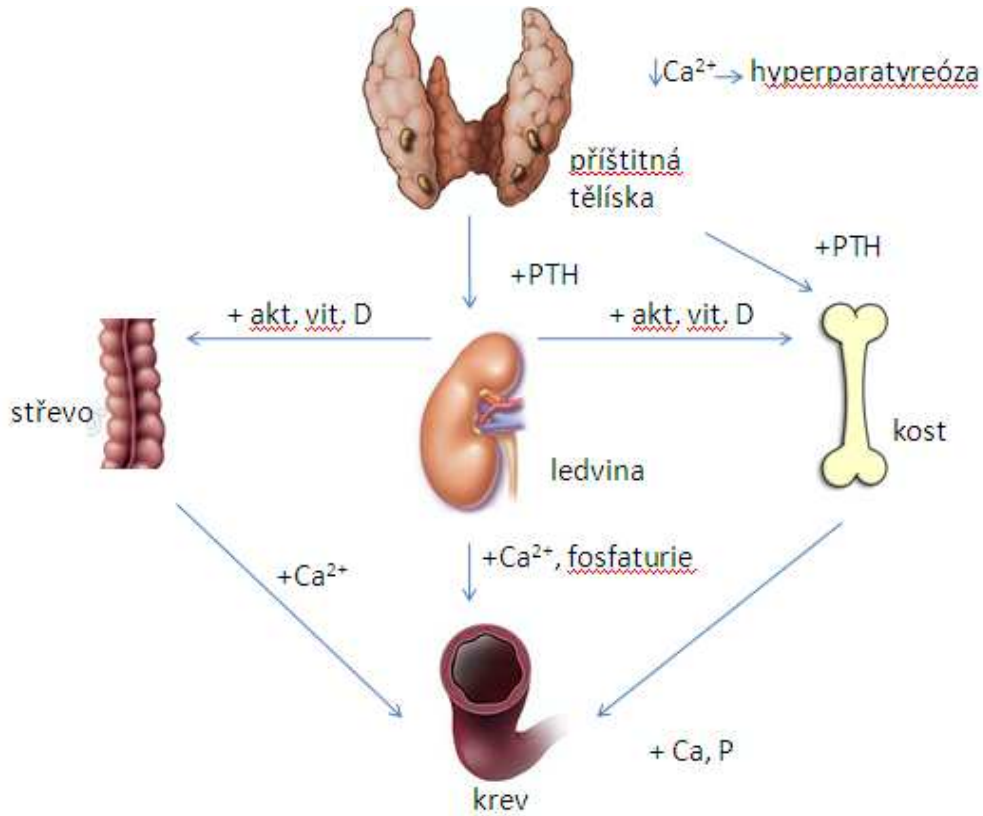
hladiny FGF 23 i PTH umožňují obvykle udržení normofosfatemie u pacientů s CKD s GFR nad 20 ml/min/1.73m²(Cunningham et al., 2011).

Zvýšené sérové hladiny kalcia a fosforu při sekundárním hyperparatyroidizmu přispívají k riziku vzniku cévních kalcifikací spojených s vyšší morbiditou a mortalitou. Úspěšná terapie poruch kalciofosfátového metabolismu spočívá v redukci komplikací CKD. Při léčbě využíváme aktivní vitamin D nebo jeho deriváty, tyto aktivují VDR. Aktivní vitamin D zvyšuje absorpci vápníku a fosforu ve střevě, snižuje hladinu PTH a vede k regresi hyperplázie příštítných tělísek (Fukagawa et al., 1990). Některé studie prokázaly bifazický, na dávce závislý kardiovaskulární účinek aktivovaného vitaminu D. Cévní kalcifikace vznikají nejenom u pacientů s nadbytkem aktivovaného vitaminu D, ale i u jedinců s jeho nedostatkem (Zittermann et al., 2007).

Dalšími důležitými preparáty užívanými při léčbě sekundární hyperparatyreózy u dětí s CKD jsou vazače fosfátů. Hyperfosfatemie navozuje zvýšení hladiny PTH. Je známa korelace mezi hladinou fosforu a mortalitou (Block et al., 2007). Vazače fosfátů jsou kalciové a nekalciové, jejich efekt spočívá v navázání fosforu v zažívacím traktu a jeho následném vyloučení. Hlavní nežádoucí účinky kalciových vazačů fosfátů zahrnují hyperkalcemii a riziko vzniku cévních kalcifikací. Mezi nekalciové vazače fosfátů řadíme sevalamer s příznivým efektem na parametry tukového metabolismu a lanthan karbonát. Mimo užívání těchto preparátů je nutné i dodržování diety s nízkým obsahem fosforu.

Kalcimimetika jsou aktivátory CaSR, zvyšující jejich senzitivitu k sérovému kalcium s následným poklesem hladiny PTH (Valle et al., 2008). Aktivace CaSR indukuje také expresi VDR (Rodriguez et al., 2007). Kalcimimetika mají navíc schopnost inhibice proliferace buněk příštítných tělísek svým antiproliferativním a proapoptotickým účinkem. Studie ADVANCE prokázala, že kombinace cinacalcetu spolu s nízkodávkovaným aktivním vitaminem D příznivě ovlivnila progresi kardiovaskulární kalcifikace u dospělých pacientů v chronickém

dialyzačním programu. (Ureña-Torres PA et al., 2013) Při selhání konzervativní farmakologické léčby je na místě chirurgické odstranění příštitných tělísek.



Obr. 9 Schema fyziologie kalciofosfátového metabolismu. Převzato a modifikováno z Damjanov, Pathophysiology, 2009.

Růst a výživa u dětí s chronickým onemocněním ledvin

Růst dětí se dělí do 3 období. Infantilní růstové období začíná během intrauterinního života a pokračuje první 2 roky po narození, v této době je růst pod majoritním vlivem insulin-like growth factoru 1 (IGF-1). V dalším období je ovlivňován osou- růstový hormon- IGF-1. V prvním roce dítě vyroste asi 25cm, ve druhém roce okolo 12cm a dosahuje poloviny své finální výšky. Následuje dětské růstové období, kdy růstová rychlost klesá z 8cm postupně na 5cm až do období puberty, spojeného s růstovým výšvihem. V tomto období je růst ovlivňován růstovým hormonem i pohlavními hormony, dochází k nárůstu svalové hmoty a kostní mineralizaci. Růst dívek je ukončen obvykle 15. rokem, chlapci přestávají růst mezi 17.-18. rokem života. Energetická potřeba od narození, kdy dítě potřebuje okolo 170 kcal/kg, postupně klesá až na 20-30 kcal/kg ve 2 letech. (Koloušková et al., 2004).

K posouzení růstu vyžíváme antropometrických dat- váhu, výšku, obvod hlavy, body mass index (BMI). Hodnoty můžeme longitudinálně sledovat v růstových grafech pro děti. K určení tělesného složení pomáhá změření tloušťky kožní řasy a obvodu paže. Byly vyvinuty přístroje k vyšetření tělesného složení např. na základě spektroskopické bioimpedance. Sledování kalorického příjmu pacientů zápisem jídelníčku ve spolupráci s dietní sestrou hraje důležitou roli při prevenci rozvoje malnutrice u dětí s CKD.

Máme k dispozici i biochemické markery stavu výživy dětí. Vyššímu riziku úmrtí jsou vystaveni pacienti, kteří mají při zahájení dialýzy hypoalbuminemii. Každý pokles sérového albuminu o 1 g/dl pod normu při započetí dialyzační léčby u dětí zvyšuje mortalitu o 54% (Wong et al., 2002). Zde je potřeba mít na paměti, že hypoalbuminemie může být vyvolávána také chronickým zánětem, hemodilucí, či je součástí základní diagnózy. Nezanedbatelné ztráty bílkovin nacházíme i u dětí léčených peritoneální dialýzou (PD) (0.02-0.03 g/kg/den). Kojenci mají ztráty bílkovin při PD dvakrát větší (Quan et al.,1996).

Energetické potřeby dětí s CKD jsou srovnatelné s potřebami zdravých dětí, pouze u pacientů léčených PD je nutno brát v úvahu energetický příjem získaný z glukózy v dialyzačním roztoku (8 - 12 kcal/kg/den). Energetický příjem dětí s CKD je limitován nechutenstvím a gastrointestinálními příznaky. U části pacientů se doporučuje přistoupit k zavedení perkutánní endoskopické gastrostomie s možností dodání adekvátního množství živin. V případě nedostatečného růstu při adekvátní výživě je indikováno zahájení léčby růstovým hormonem. Podmínkou kvalitního růstu je i adekvátnost dialyzační léčby (Tom et al., 1999).

Kardiovaskulární komplikace chronického onemocnění ledvin

Ve srovnání se zdravou populací je doba přežití pacientů s pokročilým stupněm CKD výrazně snížena. Dle americké databáze US Renal Data System (USRDS) byla v roce 2008 dětská mortalita 0,31:1000, ale mortalita dětí s CKD byla významně vyšší - 35,6 u dialyzovaných a 3,5 u transplantovaných na 1000 pacientů/rok (USRDS, 2011). Navzdory intervencím zaměřeným na rizikové faktory včetně možnosti TxL jsou kardiovaskulární komplikace nejčastější příčinou úmrtí dětských pacientů v konečném stádiu CKD. Projevy pokročilé aterosklerózy či diabetu mellitu v souvislosti s CKD jsou u dětí narozdíl od dospělých vzácné. Nejčastěji se projeví porucha srdečního rytmu (19,6%), chlopenní vada (11,7%), kardiomyopatie (9,6%), či akutní srdeční zástava (2,8%) (Chavers et al., 2002). Za klasické rizikové faktory pro rozvoj kardiovaskulárních komplikací u dětí považujeme hyperhydrataci, hypertenzi, abnormality lipidového a glukózového metabolismu, obezitu a sedavý životní styl. Rizikové faktory spojené s uremií zahrnují anemii, malnutrici, chronický zánět, oxidační stres a poruchy kalciofosfátového metabolismu.

Dle dat NAPRTCS trpí hypertenzí 48% dětí v časných stádiích CKD a 50 – 75% dětských pacientů v 5. stádiu CKD. Více než 50% dětí má hypertenzi i po úspěšné

transplantaci ledviny (TxL), což je velmi pravděpodobně dáno i stávající imunosupresivní medikací (The NAPRTS 2011 Annual report). Dyslipidemie se objevuje rovněž častěji u dětí s CKD, hlavně u pacientů po TxL s výskytem 50 – 90%. Pacienti mají vyšší hladinu celkového cholesterolu a LDL-cholesterolu (Feber et al., 2008). Stejně tak se u pacientů po TxL vyskytuje obezita, děti mají znovu chuť k jídlu a i vlivem medikace kortikosteroidy přibývají na váze (Wilson AC et al., 2010). Až 30% pacientů po TxL má dle recentních studií navíc poruchu glukózového metabolismu (Prokai A et al., 2008). U pacientů ve 2. a vyšším stádiu CKD byly také zjištěny vyšší hladiny inzulínu (Lai et al., 2007).

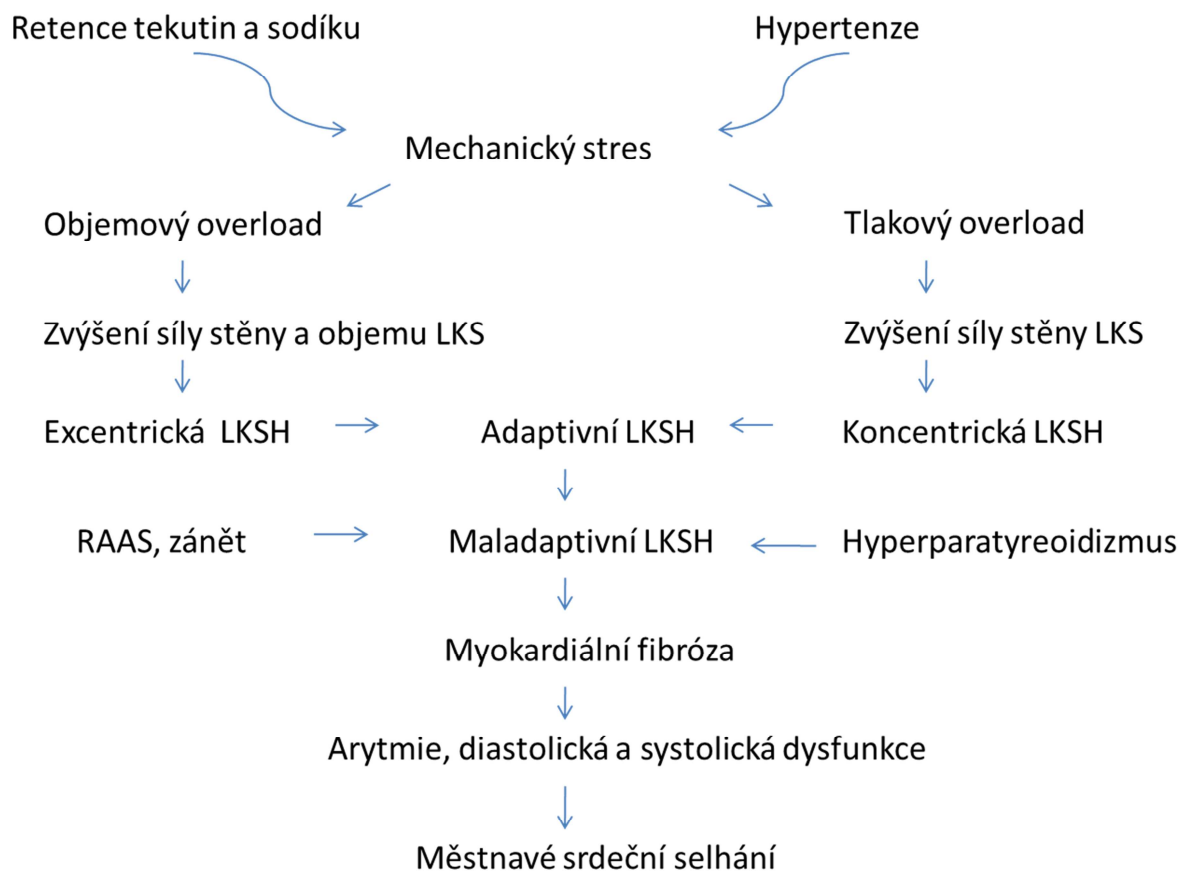
Hyperhydratace představuje u dialyzovaných dětí obvyklý problém komplikující léčbu. Její spojitost s volumovou hypertenzí je známa a zpravidla souvisí s noncompliance pacienta či s nesprávně nastavenou dialyzační léčbou. Cílem by mělo být dosažení tzv. suché váhy pacienta.

Mezi další rizikové faktory vzniku kardiovaskulárních komplikací u pacientů s CKD patří anemie, jejíž výskyt stoupá s mírou renální insuficience, v 5. stádiu CKD se vyskytuje s prevalencí 68% (Staples et al., 2009). V době zahájení dialýzy je anemie spojena s vyšším rizikem úmrtí u dětských pacientů, kdy nejčastější příčinou smrti jsou kardiopulmonální komplikace. Otázkou zůstává, zda anemie sama o sobě zvyšuje mortalitu, či je průvodním jevem jiného onemocnění, které zhoršuje přežití pacientů- např. chronický zánět (Warady et al., 2003).

Poruchy kalciofosfátového metabolismu, jejichž výskyt stoupá s mírou renální insuficience, zásadně ovlivňují funkci kardiovaskulárního aparátu u dětí s CKD. U dětí dialyzovaných je udávaná prevalence 60% (The NAPRTCS 2005 Annual Report). Hyperfosfatémie vzniklá následkem porušeného vylučování fosforu u pacientů s CKD vede ke vzniku sekundární hyperparatyreózy, zvýšení hodnoty kalciofosfátového produktu a vzniku kalcifikací v cévách, což přispívá k vyšší morbiditě i mortalitě u pacientů s CKD.

Proto je korekce hyperfosfatémie dietou a často i medikamentózně důležitá pro prodloužení přežití pacientů (Block et al., 1998). Také malnutrice spolu s chronickým zánětem přispívají ke vzniku cévních změn a kardiovaskulárních komplikací u pacientů s chronickým postižením ledvin (Cengiz et al., 2005).

Mechanický nebo volumový overload představují prvotní stimul vedoucí k hypertrofii kardiomyocytu, neboť mechanická zátěž indukuje vznik koncentrické hypertrofie levé komory srdeční (LKS) a objemová zátěž má za následek vznik excentrické hypertrofie LKS. Vzniklá hypertrofie myokardu je přechodně adaptivní a prospěšná. Tyto faktory spolu s aktivací RAS, adrenergního systému a zánětlivé odpovědi indukují remodelaci myokardu, myokardiální fibrózu a vznik systolické a diastolické dysfunkce srdečního svalu, mechanismus znázorňuje obr. 10 (Mitsnefes et al., 2005). Kardiovaskulární komplikace se rozvíjejí již v časně fázi CKD a mají tendenci k progresi spolu se zhoršováním funkce ledvin.



Obr. 10 Etiologie vzniku srdečního selhání u pacientů s CKD. Retence tekutin a sodíku spolu s hypertenzí navozují mechanický stres, iniciují kaskádu dějů, které vyvolávají srdeční selhání. Převzato a modifikováno z Mitsnefes et al., *Cardiac and vascular adaptation in pediatric patients with chronic kidney disease: role of calcium-phosphorus metabolism*. *J Am Soc Nephrol*. 2005.

LKS... levá komora srdeční LKSH...hypertrofie levé komory srdeční

Hypertrofie LKS souvisí s dlouhodobou kardiovaskulární morbiditou i mortalitou. Prevalence hypertrofie LKS stoupá s pokročilostí CKD a je vyšší u dětí hemodialyzovaných než u dětí léčených PD (Mitsnefes et al., 2000). Mimo strukturálních odchylek byly u dětí s CKD zjištěny také funkční abnormality- snížená kontraktilní rezerva během zátěže (Mese et al., 2010), porucha kontraktility LKS u dětí s CKD (Chinali et al., 2007). Pouze nemnoho

studií se však doposud zabývalo vyšetřováním diastolické dysfunkce. Za nejlepší ukazatel diastolické dysfunkce se považuje dopplerovské měření průtoku mitrální chlopní (Johnstone et al., 1996).

U pacientů s CKD vidáme známky tzv. Mönckebergovy sklerózy s charakteristickou kalcifikací tunica media a intaktní tunica intima. U jiných dochází k rozvoji aterosklerózy s intimálními kalcifikacemi. K ozřejmění postižení cév je vhodné provedení sonografického vyšetření tloušťky tunica intima a media karotid- carotid intima-media thickness (CIMT), jež je schopno odhalit aterosklerotické změny na cévách a odhadnout riziko vzniku kardiovaskulárního onemocnění (Chambless et al., 1997). Při tomto vyšetření se používá lineární vysokofrekvenční sonda. K posouzení poddajnosti cévní stěny a endoteliální funkce lze dále využít neinvazivní funkční vyšetření pulzové vlny- flow mediated dilation (FMD) arteria brachialis. Zvýšená endoteliální produkce oxidu dusnatého (NO) v reakci na mechanické napětí cévy vede k vazodilataci cévy, jež je kvantifikována jako index vazomotorické funkce. Mechanické napětí indukuje otevření kaliových kanálů v membráně endoteliální buňky a hyperpolarizaci buněk endotelu, což umožňuje vstup kalciových iontů intracelulárně. Následně dochází k aktivaci enzymu endoteliální nitrit oxid syntázy (eNOS) s produkcí NO (Joannides et al., 1995). Některé práce ukazují, že i u zvířecích modelů geneticky upravených tak, že neprodukuje eNOS, byla pozorována dilatace cévy v reakci na mechanické napětí. Tento efekt se vysvětluje účinkem endotelem produkovaných prostanooidů (Sun et al., 1999). Z provedených studií vyplývá, že změny na cévách odrážejí dobu trvání dialyzační léčby. Hodnoty PTH a dávky vitamínu D jasně korelovaly s poškozením cév a s kalcifikacemi cévní stěny (Civilibal et al., 2006, Shroff R et al., 2007).

TxL je spojena s výrazným snížením mortality pacientů ve srovnání s pacienty léčenými dialýzou. Je třeba mít na paměti, že kardiovaskulární komplikace se u transplantovaných pacientů vyskytují s 10 krát větší četností než u zdravé populace a jsou

zodpovědné za 40% úmrtí po TxL u dospělých pacientů. Riziko dále významně zvyšuje porucha funkce štěpu (Lindholm A et al., 1995, Mitsnefes al., 2012).

Prevence kardiovaskulárních komplikací chronického onemocnění ledvin

Děti s CKD tráví pouze 10% času fyzickou aktivitou, některé studie popisují u těchto pacientů sníženou tělesnou zdatnost (Pattaragarn et al., 2004). Pravidelné cvičení se považuje za účinnou prevenci vzniku kardiovaskulárních komplikací CKD. Studie provedené na dospělých i dětských pacientech prokázaly příznivý vliv fyzické aktivity na svalovou sílu, na některé rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění i na psychosociální stav dialyzovaných pacientů (Johansen et al., 2007, Goldstein et al., 2009).

U pacientů v terminální fázi CKD je nutné vhodně nastavit dialyzační léčbu s důrazem na kontrolu vodního hospodářství a krevního tlaku, také adekvátní fyzická aktivita představuje preventivní opatření, snižující riziko kardiovaskulárních komplikací. Důležité je rovněž optimální dávkování vazačů fosforu a vitamínu D. Úspěšná TxL umožní předejít nežádoucím účinkům spojeným s uremií a ovlivňuje délku pacientova života. Pozornost musí být věnována rovněž adekvátní kontrole a úpravě vnitřního prostředí (McDonald et al., 2004, Shroff et al., 2011).

K léčbě hypertenze se s výhodou používají preparáty ovlivňující RAS- ACE inhibitory a blokátory angiotensinového receptoru, jež mají jasný nefroprotektivní vliv. Intenzifikovaná kontrola krevního tlaku významně přispívá k oddálení progresu u dětí s CKD (Wühl et al., 2009). Předcházení rozvoje hyperhydratace u dialyzovaných dětí je zásadní vzhledem k patofyziologii vzniku volumové hypertenze. Svě nezastupitelné místo v prevenci rozvoje kardiovaskulárních komplikací u dětí mají neinvazivní zobrazovací metody (echokardiografie, CIMT).

Terapie chronického onemocnění ledvin

Terapie konečného stádia CKD spočívá v adekvátní konzervativní léčbě a poté v zahájení dialýzy, event. v provedení TxL. V současnosti mohou být děti s CKD léčeny PD (Obr. 11) nebo hemodialýzou (HD). Principem PD je odstranění solutů a vody přes polopropustnou membránu- peritoneum. Do dutiny břišní se napouští peritoneální roztok o definovaném složení. Dobu léčby, četnost a objem náplní určuje lékař v závislosti na potřebách pacienta a vlastnostech jeho peritonea. Náplně lze provádět tzv. ruční výměnou, u dětí se častěji provádějí automatické výměny pomocí cyclerů. Míru ultrafiltrace (UF) lze řídit pouze přibližně zvolením vhodného roztoku s určenou koncentrací glukózy, která slouží jako osmotické agens. PD má mnoho forem, u dětí se nejčastěji používá série opakovaných nočních výměn, kdy přes den má dítě možnost věnovat se svým aktivitám. Při léčbě PD je nutno dodržovat zásady prevence infekce, jelikož největším rizikem je vznik peritonitidy. U kojenců a batolat se preferuje PD vzhledem k náročnosti HD a její špatné toleranci. Druhou léčebnou možností je HD, k jejímu provádění musí mít pacient zaveden dlouhodobý centrální žilní katetr nebo vytvořený arteriovenózní zkrat- tzv. fistuli. Výměna solutů probíhá přes membránu dialyzátoru. Pacienti takto léčeni obvykle podstupují léčbu minimálně 3x týdně. Výhodou HD je možnost nastavení UF, navíc pacient nemá trvale zavedený katetr v dutině břišní. Rizika však spočívají hlavně v možnosti vzniku infekce katetru, ev. v obstrukci fistule. Nevýhodou HD u malých dětí je obtížné zavedení cévního vstupu a špatná tolerance této EM. V Evropě je polovina dětí léčena PD, asi 1/3 pacientů HD a 15% nemocných podstoupí preemptivní TxL (ESPN/ERA EDTA Registry 2010).

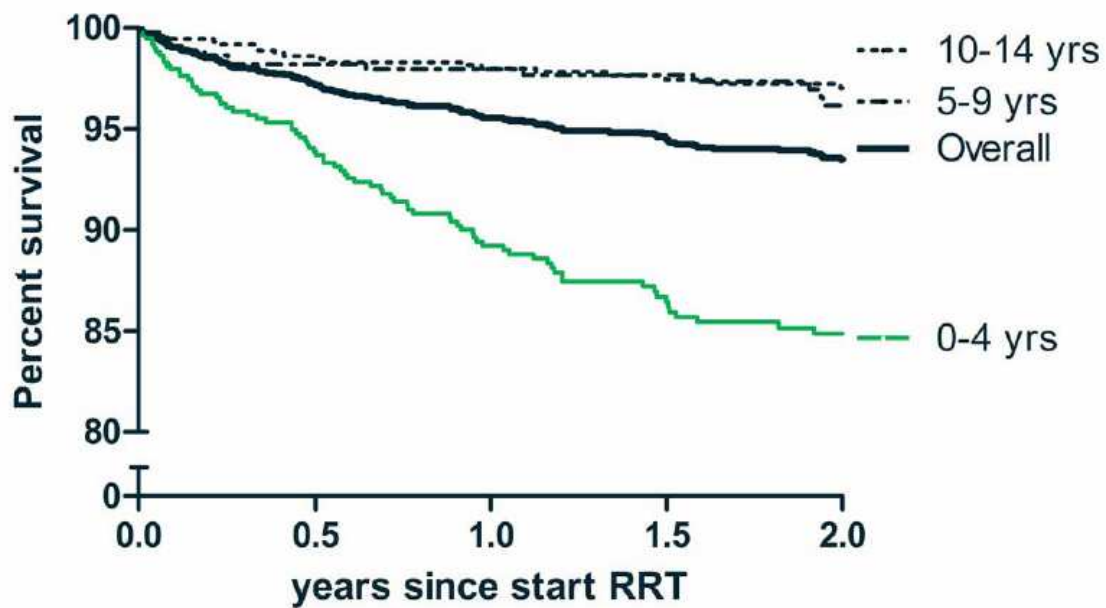


Obr.11 Pacientka léčená pro akutní selhání ledvin peritoneální dialýzou. Převzato z článku Zieg et al., Hemolyticko-uremický syndrom, 2011.

Díky pokroku v rozvoji dialyzačních metod a možnosti TxL se podařilo za posledních 50 let snížit mortalitu dětí léčených dialýzou asi 7x (Van der Heijden et al., 2004). Nicméně mortalita dialyzovaných dětí je stále 30x vyšší než mortalita jejich zdravých vrstevníků. Hlavní příčinu vysoké úmrtnosti dětí léčených dialýzou představují kardiovaskulární onemocnění a infekce (Obr.3). Pacienti s nejvyšší mortalitou jsou především malé děti do 4 let. Graf přežití dle věku ukazuje obr. 12.

Příčiny mortality u dětí léčených dialýzou	
Cerebrovaskulární příhoda	8,4%
Srdeční selhání	8,4%
Srdeční zástava	5,6%
Infekce	21,5%
Malignita	3,7%
Sebevražda/odmítnutí léčby	0,9%
Jiná příčina	9,3%
Neurčená příčina	42,1%

Tab. 3 Příčiny mortality u dětí < 15 let léčených dialýzou od roku 2006. Dominují kardiovaskulární komplikace CKD. Převzato z ESPN-ERA/EDTA Registry Annual Report 2010.



Obr 12. Graf ukazuje dvouleté přežití u dialyzovaných pacientů dle věku. Pacienti nejnižší věkové kategorie mají v porovnání se staršími dětmi významně vyšší mortalitu. Převzato z *ESPN-ERA/EDTA Registry Annual Report 2010*.

Úvod a cíle studie

Hlavní cíle:

- Stanovení močových koncentrací cytokinu TGF beta 1 u dětí s hydronefrózou.
Testování jsme prováděli na skupině dětí sledovaných pro rozšíření DS ledviny. Na základě některých studií jsme předpokládali, že u pacientů s obstrukcí vývodných močových cest změříme vyšší močové koncentrace TGF beta 1. Dali jsme si za úkol ověřit, zda TGF beta 1 může sloužit jako neinvazivní marker OU v dětském věku.
- Vyšetření hlavních ukazatelů časných projevů aterosklerózy u dětí s CKD. Zaměřili jsme se na sledování konvenčních (krevní tlak, lipidový metabolismus) a nově diskutovaných rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění (homocystein, feritin, albumin). Česká republika patří mezi země s nejvyšší incidencí kardiovaskulárních onemocnění a nejvyšší prevalencí rizikových faktorů pro tato onemocnění. Chtěli jsme objasnit biochemické i morfologické známky preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD a hodnotit roli CKD při vzniku aterosklerózy.

Vedlejší cíle:

- zjistit, zda u dětí s hydronefrózou koncentrace TGF beta 1 v moči koreluje s funkcí ledvin
- ozřejmit, zda u pacientů s hydronefrózou močové koncentrace TGF beta 1 koreluje s laboratorními ukazateli poškození ledvin
- zjistit korelace biochemických a morfologických parametrů u pacientů s CKD
- porovnat nálezy dialyzovaných a transplantovaných pacientů

V první části naší studie se zabýváme vyšetřením TGF beta 1 v moči. Močové koncentrace TGF beta 1 byly v minulosti testovány u mnoha onemocnění postihujících ledviny, nicméně nejvýraznější exprese tohoto cytokinu byla zjištěna u OU (Grenda et al., 2007). Některé studie ukázaly, že pacienti s OU mají signifikantně vyšší močové koncentrace TGF beta 1 než pacienti bez obstrukce (Furness et al., 1999, El Sherbiny et al., 2002, Taha et al., 2007). Jiní autoři vyšší koncentrace TGF beta 1 v moči u OU neprokázali. Palmer et al. našel vyšší koncentrace TGF beta 1 v pánvičkách ledvin pacientů s OU, nikoliv však ve vzorku moči ze středního proudu (Palmer et al., 1997). Druhá část naší studie navazuje na práce zaměřené na studium známek preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD (Mitsnefes et al., 2004, Litwin et al., 2005, Civilibal et al., 2007), které prokázaly u této skupiny dětí vyšší hodnoty CIMT. Jiní autoři ale naopak rozdíl v hodnotách CIMT u těchto pacientů nepopisují (Groothof et al., 2002). Výsledky naší práce byly publikovány v časopisech **Nephrology s faktorem impaktu 1.311** a v časopise **Physiological research s faktorem impaktu 1.555** a jsou součástí přílohy této dizertační práce.

Močové koncentrace TGF beta 1 u dětí s hydronefrózou

Hypotéza: Jednou z hlavních příčin CKD u dětí jsou OU, kdy dochází k blokáde odtoku moči z jedné nebo obou ledvin. Postižení ledvin u pacientů s OU vede často k fibrotizaci, tubulární apoptóze a leukocytární infiltraci renálního parenchymu. V tomto procesu hraje zásadní roli aktivace osy RAS s následnou zvýšenou produkcí TGF beta 1 jako hlavního fibrogenního faktoru. Předpokládáme, že u pacientů s OU zjistíme vyšší močové koncentrace TGF beta 1 než u dětí bez OU a zdravých jedinců.

Metody

Soubor pacientů: Do studie jsme zařadili 30 pacientů s hydronefrózou (24 chlapců, 6 dívek), kteří byli ve sledování ambulance dětské nefrologie Pediatrické kliniky FN v Motole. Skupina 1 zahrnovala 19 dětí s obstrukční hydronefrózou, ve skupině 2 bylo 11 dětí s neobstrukční hydronefrózou. U 3 pacientů s chlopní zadní uretry ve skupině 1 a u 2 pacientů ve skupině 2 se jednalo o hydronefrózu oboustrannou. Průměrný věk pacientů s hydronefrózou byl 0.97 roku. 21 zdravých věkově identických dětí tvořilo kontrolní skupinu 3, jednalo se o dosud zdravé děti přijaté plánovaně k adenotomii na Kliniku dětské otorinolaryngologie FN v Motole, u nichž byly vyšetřené renální funkce i chemický nálezy v moči v normě. Žádný z našich pacientů netrpěl další přidruženou interní chorobou. Od rodičů byl získán informovaný souhlas s účastí ve studii.

Diagnostika hydronefrózy: U našich pacientů byla hydronefróza stanovena sonograficky (Toshiba Aplio XG), pro účely studie byly vybrány do skupiny 1 děti se stupněm ≥ 3 dle klasifikace Society for Foetal Urology (SSFU). Jednalo se tedy o pacienty s dilatací pánvičky

i kalichů se zachovalým parenchymem či s jeho redukcí. Skupinu 2 tvořily děti s neobstrukční uropatií odpovídající stupni 1 - 2 dle klasifikace SSFU. Do skupiny 1 byly zařazeny děti s obstrukční křivkou a poločasem odtoku nad 20 minut při vyšetření dynamické scintigrafie ^{99m}Tc -MAG 3. Všechny děti podstoupily mikční cystografii (MCG) s nálezem VUR nízkého stupně (do stupně 2) u 2 pacientů ve skupině 2. Soubor pacientů pro studii poskytla doc. MUDr. Květa Bláhová, CSc.

Biochemická vyšetření: U všech pacientů byly stanoveny metodou ELISA močové koncentrace TGF beta 1 ze vzorku moči ze středního proudu metodou ELISA (Ray Biotech, Norcross, USA) na přístroji Dynex MRX (Dynex laboratories). Vzorky moči byly uchovány od odběru do doby laboratorního zpracování při teplotě -70°C . Vyšetření bylo provedeno duplicitně. Minimální detekovatelná koncentrace byla menší než 80pg/ml. Ze stejného vzorku moči pacientů s hydronefrózou byla dále stanovena kvantitativní proteinurie, koncentrace kreatininu, mikroalbuminurie a alfa 1 mikroglobulinurie. Kvantitativní proteinurie, mikroalbuminurie a močové koncentrace alfa 1 mikroglobulinu byly změřeny turbidimetricky, kolorimetricky byla zjištěna močová koncentrace kreatininu. Močové koncentrace TGF beta 1, alfa 1 mikroglobulinu i mikroalbuminurie byly vztaženy k močové koncentraci kreatininu. Dále jsme stanovili imunoturbidimetricky sérovou hladinu cystatinu C, ze které jsme vypočítali GFR pomocí Grubbovy rovnice (Grubb et al., 2005). U kontrolní skupiny 3 jsme k chemické analýze moči použili diagnostické proužky (Deka Phan leuco) ke stanovení leukocytů, krve, bílkoviny, bilirubinu, urobilinogenů, ketonů, glukózy a dusitanů. Toto vyšetření bylo u dětí ve skupině 3 s normálním nálezem. Biochemická vyšetření byla provedena v laboratoři Ústavu klinické biochemie a patobiochemie 2.LF UK a FNM pod vedením ing. Marty Pechové. Děti byly zařazeny do studie až po podepsání souhlasu zákonným zástupcem dítěte.

Statistické zpracování: Výsledky byly vyhodnoceny statistickým softwarem GraphPad Prism 5 (Graph Pad Software, Ins., USA). Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr±směrodatná odchylka odhadu průměru, v případě nenormálního rozložení jsou výsledky vyjádřeny jako medián s mezikvartilovým rozpětím. K porovnání skupin byl použit Mann-Whitney test v případě nenormálního rozložení. Analýza rozptylu/ANOVA byla využita pro srovnání více než 2 skupin. Korelace mezi zjištěnými hodnotami byly stanoveny na základě Pearsonova resp. Spearmanova koeficientu při nenormálním rozložení hodnot. Hodnota $p < 0.05$ vyjadřovala statistickou významnost.

Výsledky

Demografická data a hlavní výsledky naší práce shrnuje tabulka 4 a grafy – obr. 13, 14.

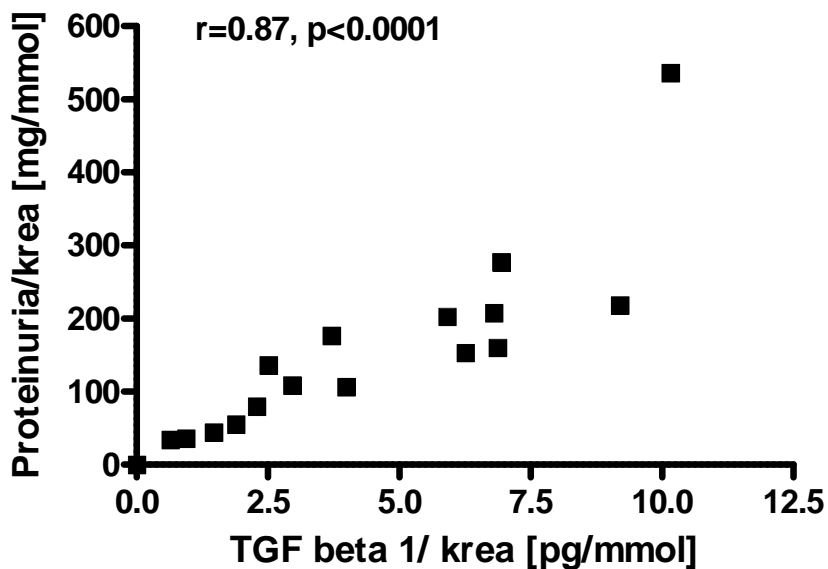
Pacienti	věk [roky]	Pohlaví (chlapci: dívky)	Cys C GFR Grubb [ml/s]	albumin/kreatinin v moči [mg/mmol]	alfa 1 mikroglobulin/kreatinin v moči [mg/mmol]	TGF beta 1/kreatinin v moči [ng/mmol]
Obstrukční uropatie	0.87 (0.25,2.42)	15:4	1.41±0.11	11.25 (3.23,48.9)	31.17±4.251	4.14±0.67**
Neobstrukční uropatie	1.06 (0.70,2.15)	9:2	1.73±0.19	5.3 (1.70,19.00)	54.53±8.707	1.80±0.24
Kontrolní skupina	0.97 (0.19, 2.70)	15:6	1.97±0.26	_____	_____	1.662±0.28
	ns		ns	ns	Ns	** $p < 0.01$

ns...nesignifikantní

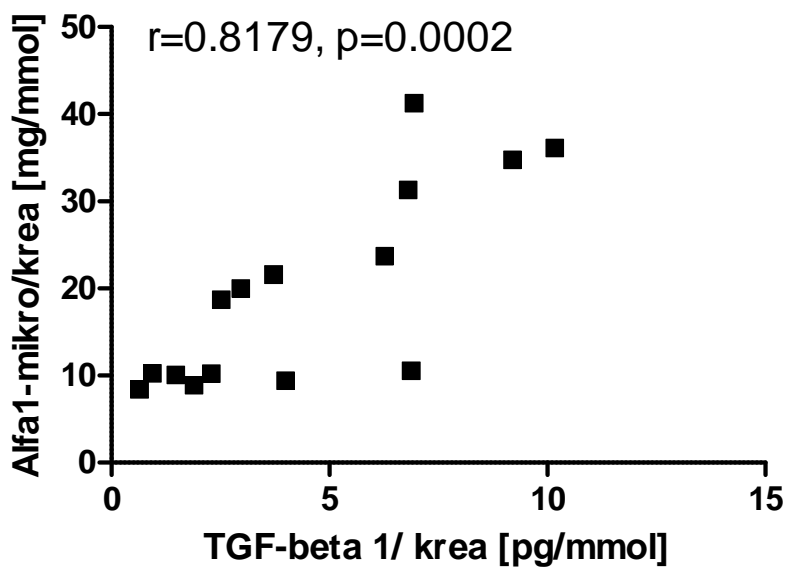
Při normálním rozložení jsou výsledky vyjádřeny jako průměr±směrodatná odchylka odhadu průměru.

Při nenormálním rozložení jsou výsledky vyjádřeny jako medián (interkvartilové rozpětí).

Tab.4 Pacienti s obstrukční hydronefrózou mají signifikantně vyšší koncentrace TGF beta 1 v moči v porovnání s pacienty bez obstrukce a se zdravými kontrolami.



Obr. 13 Graf znázorňuje korelaci močových koncentrací TGF beta 1 s proteinurií u dětí s obstrukční hydronefrózou.



Obr.14 Graf znázorňuje korelaci močových koncentrací TGF beta 1 s močovými koncentracemi alfa 1 mikroglobulinu u dětí s obstrukční hydronefrózou.

Močová koncentrace TGF beta 1 byla u pacientů s OU signifikantně vyšší než u pacientů s NOU a zdravých kontrol. Dále byla zjištěna pozitivní korelace mezi močovými koncentracemi TGF beta 1 a proteinurií ($r=0.87$, $p<0.0001$) u pacientů s OU. Močové

koncentrace TGF beta 1 ve skupině dětí s OU také signifikantně korelovaly s močovými koncentracemi tubulárního markeru alfa 1 mikroglobulinu ($r=0.72$, $p=0.012$). Nebyla nalezena korelace mezi TGF beta 1 v moči a GFR ve skupině dětí s OU. Ve skupině dětí s NOU nebyla zjištěna korelace mezi močovými koncentracemi TGF beta 1 a GFR, proteinurií, mikroalbuminurií, alfa 1 mikroglobulinurií. Ve skupině 1 nebyla u pacientů s oboustrannou hydronefrózou zjištěna signifikantně vyšší hodnota močových koncentrací TGF beta 1 ve srovnání s ostatními dětmi v této skupině.

Diskuze

Sonografický skrínink plodu prokáže asi v 1% hydronefrózu (Baskin et al., 1997). Nejčastější příčinou hydronefrózy je obstrukce na úrovni ureteropelvického spojení (asi ve 40-50% případů). OU vede ke vzniku nefropatie, a tudíž je důležité definovat vhodné neinvazivní markery poškození ledvin. TGF beta 1 v moči je významným mediátorem fibrózy renální tkáně a hraje zásadní roli ve vzniku lokální zánětlivé reakce a v progresi CKD (Klahr et al., 2001). Při aktivaci RAS u OU dochází ke zvýšené expresi tohoto cytokinu v ledvinné tkáni (Fukuda et al., 2001, Yang et al., 2006). Významně vyšší močové hladiny TGF beta 1 byly popsány i u dalších onemocnění ledvin, např. u mezangiální glomerulonefritidy, intersticiální nefritidy, SLE, nefronoftízy, polycystózy ledvin a diabetu mellitu (De Muro P et al., 2004). Nejvíce vyjádřená exprese TGF beta 1 v ledvinách byla zjištěna u dětí s OU (Grenda R et al., 2007).

Několik recentních studií prokázalo, že pacienti s OU mají signifikantně vyšší hodnoty koncentrací TGF beta 1 v moči než pacienti bez OU. TGF beta 1 se ukázal být vhodný ke sledování pacientů po pyeloplastice (Furness et al., 1999, Taha et al., 2007). Na druhou stranu jiné práce tuto skutečnost neprokázaly. Palmer se svými kolegy nenalezl signifikantní rozdíl v koncentracích močového TGF beta 1 ze středního proudu moči u pacientů s OU a u kontrol, zjistil pouze vyšší koncentrace tohoto cytokinu přímo v pánvičkách ledvin (Palmer et al., 1997).

Prokázali jsme statisticky signifikantně vyšší močové koncentrace TGF beta 1 u pacientů s UO ve srovnání s dětmi s neobstrukční formou hydronefrózy a zdravými pacienty. Dle našeho zjištění by stanovení močové koncentrace TGF beta 1 mohlo být vhodným neinvazivním diagnostickým markerem OU. Výsledek této studie dále vedl k dosud nepopsanému zjištění, že močové koncentrace TGF beta 1 korelují s proteinurií a dalšími laboratorními markery poškození ledvin- alfa 1 mikroglobulinurií, což svědčí o jasném

postižení ledvin u OU a o převážném poškození renálních tubulů, korelace mezi mikroalbuminurií a močovými koncentracemi TGF beta 1 nalezena nebyla. Primární poškození tubulů předpokládáme na základě patogeneze obstrukce, kdy dochází k tlakovému poškození DS ledviny a následně k tubulárnímu poškození. Zhang et al. popsal nejenom tubulární, ale i glomerulární změny v bioptickém vzorku ledvin pacientů po pyeloplastice (Zhang et al 2000). K poškození glomerulů může u pacientů s OU dojít sekundárně. Koncentrace TGF beta 1 v moči u dětí s OU nekorelovaly s hodnotami GFR. Ve skupině pacientů bez obstrukce vývodných močových cest nebyla nalezena korelace močových koncentrací TGF beta 1 s GFR, proteinurií, mikroalbuminurií ani s alfa 1 mikroglobulinurií. To svědčí o významnosti obstrukce v mechanismu poškození ledvin.

OU představuje jednu z hlavních příčin CKD u dětí, a proto je důležité pro zvolení správného diagnostického postupu, léčbu a určení další prognózy pacientů s hydronefrózou nalézt další specifické markery, event. celé skupiny cytokinů, které by ukazovaly na vysokou pravděpodobnost přítomnosti OU. Vhodné by bylo i využití neinvazivních markerů pro sledování pacientů po operačním řešení hydronefrózy. V neposlední řadě bude nezbytné dále pokračovat v hledání možností blokády exprese TGF beta 1 v renální tkáni.

Časné projevy aterosklerózy u dětí s chronickým onemocněním ledvin

Hypotéza: U dětských pacientů s CKD dochází k rozvoji časných aterosklerotických změn, na nichž se z velké části podílí porucha lipidového metabolismu, ale i jiné mechanismy specifické pro pacienty s poruchou funkce ledvin. Domníváme se, že právě úloha těchto mechanismů hraje při vzniku aterosklerózy u dětí s CKD významnou roli.

Metody

Soubor pacientů: Soubor pacientů tvořilo 37 dětí (20 dívek, 17 chlapců) v 5. stádiu CKD, z toho 31 dětí podstoupilo TxL, 6 dětí bylo léčených PD. Transplantovaní pacienti byli v minulosti přechodně dialyzováni. Průměrný věk dětí byl 14.5 ± 3.3 let. Jednalo se o děti s hereditárními nefropatiemi (11), renální hypo/dysplázií (6), chronickými glomerulonefritidami (3), tubulointersticiálními nefritidami (3), OU (2), refluxovou nefropatií (2), HUS (1) a nediodagnostikovaným onemocněním ledvin (2). Žádný z pacientů nebyl léčen pro diabetes mellitus ani pro poruchu metabolismu lipidů. 92% dětí užívalo antihypertenziva. Ve skupině dialyzovaných pacientů byli všichni pacienti léčeni vazači fosfátů, 4 děti navíc užívaly aktivovaný vitamin D. Ve skupině transplantovaných byli 4 pacienti léčeni preparáty aktivovaného vitaminu D. Kontrolní skupina zahrnovala 22 zdravých dětí bez poruchy lipidového metabolismu, které nebyly léčeny kortikoidy. Od rodičů byl získán písemný souhlas s účastí ve studii.

Anamnéza a klinické vyšetření: Anamnestická data jsme získali z dokumentace pacientů. Provedli jsme klinické vyšetření zahrnující zjištění antropometrických parametrů vč. výpočtu BMI a změření systolického (STK) a diastolického krevního tlaku (DTK) v ambulanci (přístroj Omron M5-1) po 5 minutách v klidu. Použitá manžeta byla vybrána podle obvodu

paže dítěte. SAT byl vypočítán dle rovnice $SAT = 1/3(STK - DTK)$. U pacientů v 5. stádiu CKD bylo provedeno ambulantní 24 hodinové měření krevního tlaku (ABPM).

Biochemické vyšetření: U všech pacientů byl proveden odběr nalačno- základní panel vyšetření: vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hs-CRP), urea, kreatinin, albumin, feritin, homocystein, celkový bilirubin, kyselina močová, glykémie. Dále byly vyšetřeny parametry lipidového spektra- celkový cholesterol a jeho frakce- HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, apolipoprotein AI (ApoA1), apolipoprotein B (ApoB), lipoprotein A (Lpa), TAG. Sérové hladiny celkového cholesterolu, HDL- cholesterolu, LDL- cholesterolu a TAG byly stanoveny enzymaticky, ke zjištění hodnot hladin apoA1, apo B byla využita imunoturbidimetrie. Lpa byl stanoven imunonefelometrickou metodou. Ke změření hladiny glukózy, urey a kyseliny močové byly použity enzymové metody, albumin byl stanoven kolorimetricky, hladina bilirubinu byla zjištěna vanadiovou oxidací. Ke změření hladiny sérového kreatininu byla použita Jaffého reakce. Hladiny homocysteinu a feritinu byl změřeny chemiluminiscenční analýzou. Z hladiny kreatininu a výšky byla zjištěna GFR pomocí Schwartzova vzorce (Schwartz et al., 1976). AIP byl vypočten jako $\log(TAG/HDL \text{ cholesterol})$ (Dobiášová et al., 1991).

Zobrazovací vyšetření: Provedli jsme 2 typy sonografického vyšetření cévního systému

a. FMD- metoda hodnotící vazodilataci vyvolanou mechanickým stresem cévy. Použili jsme lineární 7.5 MHz sondu s fixátorem a sonografický přístroj (SonoSite Titan, USA).

Postup vyšetření:

- změření krevního tlaku na nedominantní paži 2x v odstupu 1 minuty
- na předloktí nedominantní paže nasazení manžety
- přiložení sondy na arterii brachialis

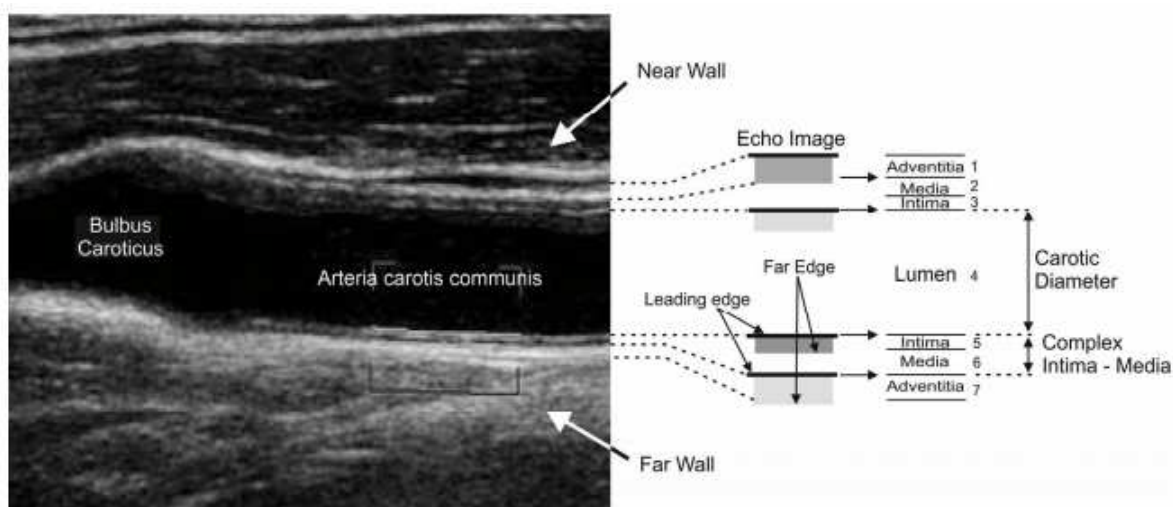
- nahrávání klidové fáze po dobu 30s na magnetickou pásku
- nafouknutí manžety na 60 mm Hg nad průměr systolických tlaků změřených tonometrem na 4 minuty
- vyfouknutí manžety a měření dilatační fáze- 2 minuty

K zobrazení byl použit software Image Pro Plus (Media Cybernetics, USA).

- b. Změření CIMT na obou arteria carotis communis- přístroj (SonoSite Titan, USA), lineární sonda 7.5 MHz. Byla změřena síla tuniky intimy, medie a vyšetření bylo zaznamenáno na magnetickou pásku. K posouzení byl vybrán 10mm úsek karotidy před bulbem a CIMT byla stanovena jako medián tloušťky vrstvy intimy a medie v tomto úseku. Průměrnou hodnotu změřenou na obou karotidách jsme považovali za konečnou (Obr. 15).

Statistické zhodnocení výsledků: V práci byly spojité proměnné vyjádřeny jako průměry se standardními odchylkami, u standardizace na věk a BMI jako průměry a standardní chyby.

Pro porovnání skupin byl použit nepárový t-test v případě kontinuálních veličin, pro kategorické proměnné byl použit χ^2 test. Ke zhodnocení rozdílů mezi korelačními koeficienty v jednotlivých skupinách jsme použili test pro rovnost korelací. Hodnota $p < 0.05$ byla považována za statisticky významnou.



Obr.15 Měření CIMT se provádělo na vzdálenější stěně tepny- zóna 5 + 6 tvoří komplex intima-médie.

Výsledky

Vyšetření FMD se ukázalo jako nevhodné vzhledem k omezené spolupráci dětských pacientů a vysoké variabilitě výsledků měření. U pacientů v 5. stádiu CKD byla hodnota CIMT signifikantně vyšší než u kontrolní skupiny. Stejně tak hodnoty krevního tlaku a některých biochemických parametrů- Lpa, kreatininu, feritinu, homocysteinu a kyseliny močové byly signifikantně vyšší u těchto pacientů. Vypočtený AIP byl rovněž významně vyšší u dětí v 5. stádiu CKD. Hodnoty BMI, celkového cholesterolu, HDL, LDL frakce, TAG, apo-B, hs-CRP, bilirubinu, albuminu a glukózy se mezi skupinami nelišily. Pokud se skupina nemocných zúžila pouze na transplantované, pak se AIP ve srovnání s kontrolní skupinou zdravých dětí signifikantně nelišil. Statisticky významné výsledky jsou shrnuty v tab. 5. Ve skupině transplantovaných pacientů byla zjištěna negativní korelace mezi hodnotou CIMT a sérovým albuminem. Pokud jsme do skupiny nemocných vedle transplantovaných zahrnuli i

pacienty dialyzované, zjistili jsme negativní korelaci se sérovými hladinami celkového bilirubinu. Nenalezli jsme korelaci mezi hodnotou CIMT a hodnotami sérového vápníku, fosforu a parathormonu.

	CKD 5. stádium 37 dětí	Tx L 31 dětí	Kontroly 22 dětí	p CKD 5. st. vs.kontr ola	p TxL vs. kontrol a
Carotis intima-media thickness (mm)	0.45±0.04	0.44±0.03	0.38±0.03	<0.001	<0.001
Systolický arteriální krevní tlak (mmHg)	120±1.70	120±1.90	113±2.20	0.027	0.047
Diastolický arteriální krevní tlak (mmHg)	79±11.30	78±10.60	70±9.80	0.003	0.006
Střední arteriální krevní tlak (mmHg)*	93±1.60	92±1.70	85±2.10	0.006	0.018
Aterogenní index plasmy (log(triglyceridy/HDL cholesterol))*	0.11±0.05	0.11±0.05	-0.06 ±0.06	0.036	0.051
Apolipoprotein A1 (g/l)	1.23±0.21	1.23±0.21	1.34±0.18	0.041	0.042
Urea (mmol/l)	10.6±5.3	9.8±5.1	3.8±0.8	<0.001	<0.001
Kreatinin (µmol/l)	223±203	175±169	67±15	<0.001	<0.001
Glomerulární filtrace (ml/s/1.73 m²)	0.92± 0.38	1.16±0.27	1.69±0.2	<0.001	<0.001
Feritin (µg/l)	225±217	188 ±196	47±49	<0.001	<0.001
Homocystein (µmol/l)	12.2±0.8	12.4±0.8	8.0±1.5	0.024	0.022
Kyselina močová (mg/dl)	363±16	370±18	295±25	0.024	0.022

Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka/směrodatná chyba

Tab. 5 Sledované parametry se statisticky významným rozdílem u dětí dialyzovaných, transplantovaných a zdravých kontrol

Diskuze

V naší práci jsme prokázali zvýšený výskyt preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD ve srovnání s kontrolní zdravou populací. Hodnoty CIMT u nemocných byly vyšší, což je v souladu s dříve publikovanými studiemi (Mitsnefes et al., 2004, Litwin et al., 2005, Jourdan et al., 2005, Poyrazoglu et al., 2006, Bilginer et al., 2007, Civilibal et al., 2007). Metoda FMD nebyla u našich pacientů proveditelná pro omezenou spolupráci hlavně v nižších věkových kategoriích, navíc výsledky vykazovaly velkou variabilitu. Zjištěné hodnoty konvenčních rizikových faktorů preklinické aterosklerózy- krevní tlak, markery reverzního transportu cholesterolu byly také statisticky signifikantně vyšší u nemocných. Vyšší krevní tlak může souviset nejen s renálním postižením, ale i s medikací při CKD, kdy pacienti často užívají imunosupresiva a EPO, což bylo již popsáno v několika recentních studiích (Mitsnefes et al., 2008, Seeman et al., 2004). Při analýze nekonvenčních parametrů aterosklerózy jsme zjistili, že hodnoty homocysteinu a feritinu byly u nemocných také vyšší. Vysoké hladiny homocysteinu u pacientů s poruchou funkce ledvin byly opakovaně popsány, jasný mechanismus není ovšem znám (Van Guldener et al., 2006). Vyšší hladina feritinu byla s velkou pravděpodobností podmíněna substitucí železa u pacientů s CKD.

Vyšetření markerů lipidového metabolismu prokázalo významně vyšší hodnoty Lpa, AIP a nižší hodnoty ApoA1. Hodnoty celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu, LDL-cholesterolu a TAG nebyly rozdílné. Pozoruhodné je, že pokud jsme srovnávali zdravé děti s pacienty po TxL, AIP nebyl statisticky významně rozdílný. Z mnoha studií, jež se zabývaly poruchami lipidového metabolismu u pacientů s CKD, vyplývá, že u nich dochází ke zvýšené tvorbě malých molekul LDL-cholesterolu se známým rizikem vzniku kardiovaskulárního onemocnění (Deighan CJ et al., 2000). Jiné studie popisují tzv. uremickou dyslipidemii způsobenou sníženým katabolizmem apoB (Querfeld U et al., 1993). Nízká hladina

cholesterolu může být podmíněna malnutricí a asociována s vyšší mortalitou (Ritz E et al., 1996).

V naší studii jsme jako hlavní determinanty preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD definovali nižší hodnoty bilirubinu a albuminu. Antioxidační kapacita hraje důležitou roli při rozvoji časných aterosklerotických změn u dětí s CKD. Souvislost mezi aterosklerotickým postižením a konvenčními rizikovými faktory nebyla na rozdíl od jiných studií patrná (Poyrazoglu et al., 2006, Civilibal et al., 2007). Jako první jsme prokázali inverzní korelaci CIMT a bilirubinu u dětí v konečném stádiu CKD. Na základě recentních studií je bilirubin považován za cytoprotektivní látku a antioxidant (Sedlak et al., 2004). Negativní korelace CIMT s hodnotou albuminu byla již popsána (Litwin et al., 2005). Je známo, že podvýživa je rizikovým faktorem úmrtí u dialyzovaných dětí (Wong et al., 2002).

Zjistili jsme, že látky s antioxidačním působením- bilirubin a albumin- mohou hrát důležitou roli v časném stádiu preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD. Bylo by tedy vhodné se v léčbě pacientů s CKD zaměřit právě i na nekonvenční faktory kardiovaskulárních onemocnění a stav výživy.

Smrtelný případ typického hemolyticko uremického syndromu se závažným neurologickým postižením

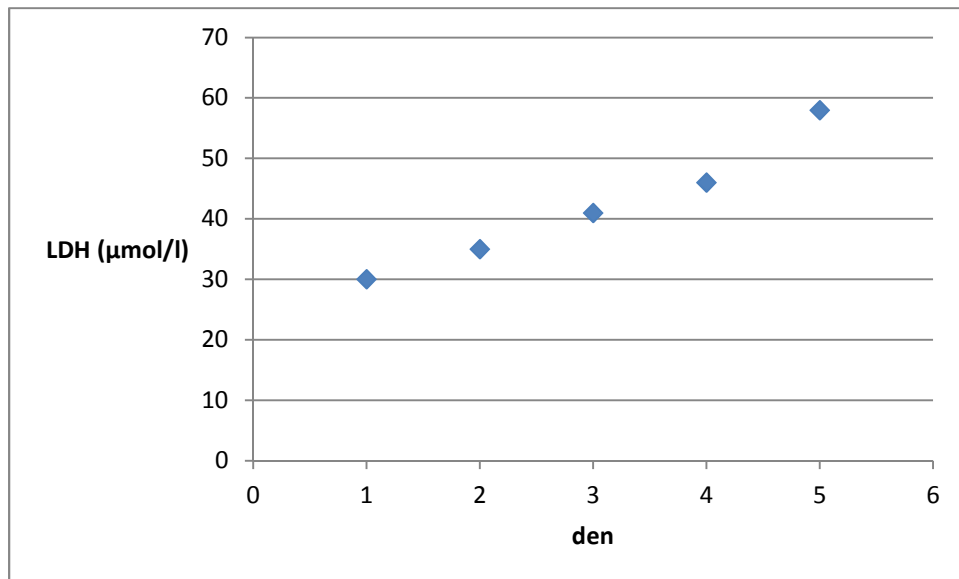
LDH jako marker postižení mozkové vaskulatury a parenchymu

V této práci jsme popsali kazuistiku smrtelného případu postinfekčního hemolyticko-uremického syndromu (D+HUS) u 2 leté dívky. Toto onemocnění, zpravidla způsobené enterohemoragickými kmeny *E. coli* (EHEC) produkujícími Shigatoxin (Stx), charakterizuje triáda příznaků: neimunní Coombs negativní hemolytická anemie, trombocytopenie a akutní renální selhání. HUS představuje jednu z nejčastějších příčin akutního selhání ledvin v dětském věku s nejvyšší incidencí v kojeneckém a batolecím věku, jeho mortalita je nízká – okolo 5%. Asi 2/3 pacientů musí být léčeny v průběhu onemocnění náhradou funkce ledvin dialýzou. Neurologické symptomy u D+HUS se vyskytují asi v 17% případů. Hyponatremie, mikroangiopatie, hypertenze a účinek toxinu jsou nejčastějšími příčinami postižení centrální nervové soustavy. Nejběžnější klinické projevy u těchto pacientů zahrnují křeče, parézy, poruchy vědomí, poruchy vizu event. kmenovou symptomatologii. Postižení bývají často reverzibilní. Ženské pohlaví a zvýšený počet erytrocytů se pokládají za rizikové faktory vzniku neurologických komplikací u pacientů s D+HUS (Oakes et al., 2006). V případě naší pacientky jsme pozorovali rychlý vzestup hodnot sérové LDH, což je v souladu s výsledky práce Yamamoto et al. (Yamamoto et al., 2009). U dítěte došlo k náhlé poruše vědomí pod obrazem difuzního mozkového edému, nejspíše způsobené přímým účinkem Stx na CNS. Navzdory intenzivní léčbě pacientka po 6 dnech od přijetí do nemocnice zemřela pro progresi edému mozku s herniací.

Patofyziologickým mechanismem neurologického postižení při účinku toxinu na mozkovou tkáň je přímé poškození endoteliálních buněk. Absorpce lipopolysacharidu vede k produkci TNF alfa a dalších prozánětlivých cytokinů, které navozují zvýšenou senzitivitu

endoteliálních buněk mozkových cév k Stx. Dále může toxin i přímo poškozovat gliové buňky mozku (Eisenhauer et al., 2004).

U naší pacientky pitva prokázala pouze známky edému mozku bez mikroangiopatických či ischemických změn. Tento případ ukazuje na závažnost postižení CNS u dětí s D+HUS a možnost fatálního průběhu navzdory intenzivní léčbě. Rychlý vzestup sérové hladiny LDH jako ukazatel poškození tkání byl v případě této pacientky markerem rizika postižení endotelu cév a parenchymu CNS. Rychlý vzestup LDH byl patrný i u dalších 2 dětí s těžkými neurologickými příznaky, které byly hospitalizované na naší klinice, poté přeloženy s poruchou vědomí na anesteziologicko-resuscitační kliniku, kde obě zemřely se známkami farmakorezistentního edému mozku. Jednalo se o 18 měsíční dívku a 11 měsíčního chlapce, oba měli anamnézu typickou pro D+HUS, ve stolici byl prokázána E. coli s produkcí Stx. Včasné odhalení rizika vzniku neurologických komplikací již umožňuje modifikovat léčbu těchto dětí, lékem volby je podání eculizumabu, monoklonální protilátky proti C5 složce komplementu. Terapie eculizumabem vedla v některých případech k výraznému zlepšení klinického stavu dětí s D+HUS a postižením CNS, nicméně je zapotřebí provést kontrolované studie k ověření efektu tohoto preparátu.



Obr.15 Graf znázorňuje rychý vzestup LDH u pacientky s D+HUS a fatálními neurologickými komplikacemi.

Závěr

CKD má zásadní dopad na zdravotní stav dětí. V naší práci jsme se zaměřili na nalezení vhodných markerů OU a dále jsme se zabývali známkami preklinické aterosklerózy u dětí v konečném stádiu CKD. V první studii jsme se soustředili na identifikaci pacientů se závažnou vadou vývodného močového systému, jejíž řešení v některých případech vyžaduje chirurgický zákrok, a jejich odlišení od dětí, jež onemocnění uropoetického traktu významně neohrožuje. Změření močové koncentrace TGF beta 1 považujeme za přínosné neinvazivní vyšetření při diagnostice OU i při sledování pacientů po operaci hydronefrózy. Značné úsilí je v současné době věnováno právě snaze nalézt vhodné močové a krevní markery i u dalších onemocnění postihujících ledviny.

Ve druhé části jsme vyšetřovali děti v konečném stádiu CKD a studovali problematiku vlivu nefropatie na vznik aterosklerózy v již preklinickém stádiu. Kardiovaskulární onemocnění patří mezi nejzávažnější komplikace CKD, a proto je porozumění patofyziologickým mechanismům vzniku aterosklerózy a prevence kardiovaskulárního onemocnění zásadní pro ovlivnění morbidity a mortality dětí s CKD. Mimo biochemických markerů jsme prováděli i vyšetření cév CIMT ultrazvukovou metodou. U dětí s CKD jsme potvrdili zvýšené hodnoty konvenčních markerů aterosklerózy a našli jasné známky cévního postižení, navíc jsme se zabývali i vztahem mezi nekonvenčními faktory s antioxidačním působením a morfologickými známkami aterosklerózy, kde jsme popsali negativní korelaci mezi sérovou hladinou bilirubinu a patologickým nálezem při vyšetření CIMT. V kazuistice pacientky s D+HUS jsme upozornili na možné závažné neurologické komplikace tohoto onemocnění. Dále jsme potvrdili, že rychlý vzestup sérové hladiny LDH je dobrým markerem rizika vzniku postižení mozku a jeho vaskulárního systému. V neposlední řadě bylo cílem

naší práce přispět k rozšíření poznatků o onemocnění ledvin u dětí a jeho komplikacích a umožnit rozšíření diagnostických možností u těchto pacientů s důrazem na neinvazivitu.

Obecné závěry

Nemoci ledvin a močových cest jsou v dětském věku po onemocnění dýchacích cest druhé nejčastější. Jejich správná diagnostika a léčba jsou důležité, neboť určitá postižení vedou k trvalým následkům a přechodu do CKD. Některé projevy CKD nalzáme již prenatalně v rámci sonografického skríninku. CKD v dětském věku je velmi závažné, vede často k postupnému zhoršování funkce ledvin s nutností zahájit dialyzační léčbu, případně provést TxL. Správně vedená konzervativní léčba může tuto progresi významně zpomalit, především u dětí upřednostňujeme diagnostiku pro pacienta nezatěžující, bezpečnou a velmi specifickou. Proto je hledání neinvazivních markerů onemocnění ledvin v současnosti cílem výzkumu vědců po celém světě. Správná a včasná diagnostika nefropatií nám umožňuje nejenom včas a cíleně pacienty léčit, ale často i určit prognózu onemocnění. Neméně důležité je i rozpoznání komplikací nefropatií, jež ohrožují pacienta projevy onemocnění dalších orgánových systémů a vyšší mortalitou. Vyšetření TGF beta 1 v moči by mohlo výrazně přispět k diagnostice OU v dětské populaci a mělo by se dle našeho názoru stát v budoucnu rutinním vyšetřením. Také CIMT by měl patřit mezi základní testy hodnotící známky aterosklerózy, a tím i riziko kardiovaskulárních komplikací u dětí s CKD. Věříme, že naše práce přispěla k dalšímu poznání v této oblasti a že se její poselství uplatní v klinické péči o děti s onemocněním ledvin.

Seznam literatury

1. Abrass CK. Cellular lipid metabolism and the role of lipids in progressive renal disease. *Am J Nephrol.* 2004; 24(1):46–53.
2. Almodhen Fet al. The role of bladder urine transforming growth factor-beta1 concentrations in diagnosis and management of unilateral prenatal hydronephrosis. *J Urol.* 2009;182(1):292-8.
3. Ardissino G et al. ItalKid Project. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project. *Pediatrics.* 2003; 111(4 Pt 1):382-7.
4. Aydin Z et al. Erythropoietin, progenitors, and repair. *Kidney Int.* 2007;107:516–520.
5. Baskin LS et al. *Handbook of Pediatric Urology*, Lippincott - Raven, 1997.
6. Bek K et al. Chronic kidney disease in children in Turkey. *Pediatr Nephrol.* 2009; 24(4):797-806.
7. Bilginer Y. Carotid intima-media thickness in children and young adults with renal transplant: Internal carotid artery vs. common carotid artery. *Pediatr Transplant.* 2007; 11(8):888-894.
8. Block GA et al. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis.* 1998; 31(4):607-17.
9. Block GA et al. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007; 71(5):438-41.
10. Border WA, Noble NA. Evidence that TGF-beta should be a therapeutic target in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 1998; 54(4):1390-1.
- 11.
11. Bomalaski DM. Posterior urethral valve, www.emedicine.medscape.com 2010
12. Brenner BM. Thé etiology of adult hypertension and progressive renal injury: an hypothesis. *Bull Mem Acad R Med Belg.* 1994; 149(1-2):121-5.
13. Burns WC et al. Connective tissue growth factor plays an important role in advanced glycation end product-induced tubular epithelial-to-mesenchymal transition: implications for diabetic renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17(9):2484-94.
14. Cengiz N et al. Relationship between chronic inflammation and cardiovascular risk factors in children on maintenance hemodialysis. *Transplant Proc.* 2005; 37(7):2915-7.

15. Civilibal M et al. Coronary artery calcifications in children with end-stage renal disease. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21(10):1426-33.
16. Civilibal M. Traditional and "new" cardiovascular risk markers and factors in pediatric dialysis patients. *Pediatr Nephrol*. 2007; 22(7): 1021-1029.
17. Costantini F. Renal branching morphogenesis: concepts, questions, and recent advances. *Differentiation*. 2006; 74(7): 402–421.
18. Cunningham J et al. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011; 6(4):913-21.
19. Cuzzolin L et al. Urinary PGE(2) concentrations measured by a new EIA method in infants with urinary tract infections or renal malformations. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2000; 64(6):317-22.
20. Dajanov I. *Pathophysiology*, Saunders Elsevier, 2009.
21. Deighan CJ et al. Atherogenic lipoprotein phenotype in end-stage renal failure: origin and extent of small dense low-density lipoprotein formation. *Am J Kidney Dis*. 2000; 35(5):852-62.
22. De Muro P et al. Urinary transforming growth factor-beta 1 in various types of nephropathy. *Pharmacol Res*. 2004;49(3):293-8.
23. Dobiášova JH, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem*. 2001;34(7):583-588.
24. Drüeke TB. Treatment of secondary hyperparathyroidism of dialysis patients with calcimimetics as a valuable addition to established therapeutic means. *Pediatr Nephrol*. 2005; 20(3):399-403.
25. Eisenhauer PB et al. Escherichia coli shiga toxin 1 and TNF- α induce cytokin release by human cerebral microvascular endothelial cells. *Microb Pathog*. 2004; 36(4):189-96.
26. El-Sherbiny MT et al. Role of urinary transforming growth factor-beta1 concentration in the diagnosis of upper urinary tract obstruction in children. *J Urol*. 2002; 168(4):1798-800.
27. ESPN/ERA EDTA Registry. Annual report 2010. Department of Medical Informatics, Amsterdam, The Netherlands.
28. Feber J et al. Complications of chronic kidney disease in children post-renal transplantation - a single center experience. *Pediatr Transplant*. 2008; 12(1):80-4.

29. Fisher JW. Erythropoietin: physiology and pharmacology update. *Exp Biol Med.* (Maywood). 2003; 228(1):1-14.
30. Fukagawa M et al. Regression of parathyroid hyperplasia by calcitriol-pulse therapy in patients on long-term dialysis. *N Engl J Med.* 1990; 9; 323(6):421-2.
31. Fukuda K et al. Quantification of TGF-beta1 mRNA along rat nephron in obstructive nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 281(3):513-21.
32. Furness PD et al. Elevated bladder urine concentration of transforming growth factor-beta1 correlates with upper urinary tract obstruction in children. *J Urol.* 1999; 162(3):1033-6.
33. Geary GF, Schaefer F. *Comprehensive Pediatric Nephrology*, Mosby Elsevier, 2008.
34. Goldstein SL, Montgomery LR. A pilot study of twice-weekly exercise during hemodialysis in children. *Pediatr Nephrol.* 2009; 24(4):833-9.
35. Grandaliano G et al. MCP-1 and EGF renal expression and urine excretion in human congenital obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 2000; 58(1):182-92.
36. Grenda R et al. ESCAPE TRIAL GROUP. Urinary excretion of endothelin-1 (ET-1), transforming growth factor- beta1 (TGF- beta 1) and vascular endothelial growth factor (VEGF165) in paediatric chronic kidney diseases: results of the ESCAPE trial. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22(12):3487-94.
37. Grubb A et al. A cystatin C-based formula without anthropometric variables estimates glomerular filtration rate better than creatinine clearance using the Cockcroft-Gault formula. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005; 65(2):153-162.
38. Groothoff JW et al. Increased arterial stiffness in young adults with end-stage renal disease since childhood. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13(12):2953-61.
39. Halperin ML et al. Ammonium excretion in chronic metabolic acidosis: benefits and risks. *Am J Kidney Dis.* 1989; 14(4):267-271.
40. Harambat J et al. Epidemiology of chronic renal failure in children: a report from Sweden 1986-1994. *Swedish Pediatric Nephrology Association. Pediatr Nephrol.* 2012; 27(3):363-73.
41. Heilbron DC et al. Expressing glomerular filtration rate in children. *Pediatr Nephrol.* 1991; 5(1):5-11.
42. Hiruma T, Nakamura H. Origin and development of the pronephros in the chick embryo. *J Anat.* 2003; 203:539-552.
43. Huang XR et al. Mice overexpressing latent TGF-beta1 are protected against renal fibrosis in obstructive kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008; 295:118-27.

44. Huang XR et al. Latent TGF-beta1 protects against crescentic glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19(2):233-42.
45. Hui Y L. Diverse Roles of TGF- β /Smads in Renal Fibrosis and Inflammation. *Blood*. 1996; 87(4):1439-45.
46. Humes HD et al. Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest*. 1989; 84(6):1757-61.
47. Chambless LE et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997; 146(6):483-94.
48. Chang H et al. Genetic analysis of the mammalian transforming growth factor-beta superfamily. *Endocr Rev*. 2002; 23(6):787-823.
49. Chang CP et al. Calcineurin is required in urinary tract mesenchyme for the development of the pyeloureteral peristaltic machinery. *J Clin Invest*. 2004; 113(7):1051-8.
50. Chavers BM et al. Cardiovascular disease in pediatric chronic dialysis patients. *Kidney Int*. 2002; 62(2):648-53.
51. Chen W et al. Oral delivery of group A streptococcal cell walls augments circulating TGF-beta and suppresses streptococcal cell wall arthritis. *J Immunol*. 1998; 161(11):6297-304.
52. Chung KH, Chevalier RL. Arrested development of the neonatal kidney following chronic ureteral obstruction. *J Urol*. 1996; 155(3):1139-44.
53. Joannides R et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation*. 1995;91(5):1314-9.
54. Johansen KL. Exercise in the end-stage dialysis population. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18(6):1845-54.
55. Johnstone LM et al. Left ventricular abnormalities in children, adolescents and young adults with renal disease. *Kidney Int*. 1996; 50(3):998-1006.
56. Jourdan C et al. Normative values for intima-media thickness and distensibility of large arteries in healthy adolescents. *J Hypertens*. 2005; 23(9): 1707-1715.
57. Kaneyama K et al. Associated urologic anomalies in children with solitary kidney. *J Pediatr Surg*. 2004; 39(1):85.
58. KDOQI Work Group. KDOQI Clinical Practice Guideline for Nutrition in Children with CKD: 2008 update. Executive summary. *Am J Kidney Dis*. 2009; 53(3 Suppl 2):S11-104.
59. Kitamura M et al. Transforming growth factor-beta 1 is the predominant paracrine inhibitor of macrophage cytokine synthesis produced by glomerular mesangial cells. *J Immunol*. 1996; 156(8):2964-71.
60. Klahr S. Urinary tract obstruction. *Semin Nephrol*. 2001; 21(2):133-45.

61. Koloušková S. Chyby a omyly v diagnostice – hodnocení růstu. *Pediatric pro praxi*. 2004; 3:121-6.
62. Kopp JB et al. Transgenic mice with increased plasma levels of TGF-beta 1 develop progressive renal disease. *Lab Invest*. 1996; 74(6):991-1003.
63. Kraut JA, Madias NE. Consequences and therapy of the metabolic acidosis of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2011; 26(1):19-28.
64. Lai HL et al. Hyperinsulinemia in pediatric patients with chronic kidney disease: the role of tumor necrosis factor-alpha. *Pediatr Nephrol*. 2007; 22(10):1751-1756.
65. Li JH et al. Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease. *Faseb J*. 2004; 18(1):176-8.
66. Lindholm A et al. Ischemic heart disease -major cause of death and graft loss after renal transplantation in Scandinavia. *Transplantation*. 1995; 60(5): 451-7.
67. Litwin M et al. Altered morphologic properties of large arteries in children with chronic renal failure and after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16(5): 1494-1500.
68. Liu N et al. Delayed administration of suramin attenuates the progression of renal fibrosis in obstructive nephropathy. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011; 338(3):758-66.
69. Locatelli F et al. Proteinuria and blood pressure as causal components of progression to end-stage renal failure. Northern Italian Cooperative Study Group. *Nephrol Dial Transplant*. 1996; 11(3):461-467.
70. Mamì C et al. Outcome and management of isolated moderate renal pelvis dilatation detected at postnatal screening. *Pediatr Nephrol*. 2009; 24(10):2005-8.
71. Matsui F et al. Late recurrence of symptomatic hydronephrosis in patients with prenatally detected hydronephrosis and spontaneous improvement. *J Urol*. 2008; 180(1):322-5.
72. McDonald SP, Craig JC. Long-term survival of children with end-stage renal disease. Australian and New Zealand Paediatric Nephrology Association. *N Engl J Med*. 2004; 350(26):2654-62.
73. Misseri R et al. TNF-alpha mediates obstruction-induced renal tubular cell apoptosis and proapoptotic signaling. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005; 288(2):406-11.
74. Misseri R, Meldrum KK. Mediators of fibrosis and apoptosis in obstructive uropathies. *Curr Urol Rep*. 2005; 6(2): 140-5.
75. Mitsnefes MM et al. Severe left ventricular hypertrophy in pediatric dialysis: prevalence and predictors. *Pediatr Nephrol*. 2000; 14(10-11):898-902.
76. Mitsnefes MM et al. Abnormal carotid artery structure and function in children and adolescents with successful renal transplantation. *Circulation*. 2004; 110(1): 97-101.

77. Mitsnemes MM et al. Cardiac and vascular adaptation in pediatric patients with chronic kidney disease: role of calcium-phosphorus metabolism. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16(9):2796-803.
78. Mitsnemes MM. Cardiovascular complications of pediatric chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2008; 23(1): 27-39.
79. Mitsnemes MM. Cardiovascular disease in children with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2012; 23(4):578-85.
80. Mong Hiep TT et al. Clinical characteristics and outcomes of children with stage 3-5 chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2010; 25(5):935-40.
81. Morris KP et al. Cardiovascular abnormalities in end stage renal failure: the effect of anaemia or uraemia? *Arch Dis Child.* 1994; 71(2):119-22.
82. Nakagawa T et al. TGF-beta induces proangiogenic and antiangiogenic factors via parallel but distinct Smad pathways. *Kidney Int.* 2004; 66(2):605-13.
83. Nath KA et al. Increased ammoniogenesis as a determinant of progressive renal injury. *Am J Kidney Dis.* 1991; 17(6):654-657.
84. Nathanson S et al. Acute neurological involvement in diarrhoea-associated hemolytic uremic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5(7):1218-28.
85. Noble NA, Border WA. Angiotensin II in renal fibrosis: should TGF-beta rather than blood pressure be the therapeutic target? *Semin Nephrol.* 1997; 17(5):455-66.
86. North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies.(NAPRTCS) The NAPRTCS 2005 Annual Report. The EMMES Corporation, Rockville, MD.
87. North American Pediatric Renal Trials and Cooperative Studies. (NAPRTCS), The NAPRTCS 2011 Annual Report. The EMMES Corporation, Rockville, MD.
88. Oakes RS et al. Predictors of fatality in postdiarrheal hemolytic uremic syndrome. *Pediatrics.* 2006; 117(5):1656-62
89. Oh J et al. Stimulation of the calcium-sensing receptor stabilizes the podocyte cytoskeleton, improves cell survival, and reduces toxin-induced glomerulosclerosis. *Kidney Int.* 2011; 80(5):483-492.
90. Orta-Sibu N et al. Renal diseases in children in Venezuela, South America. *Pediatr Nephrol.* 2002;17(7):566-9.
91. Palmer LS et al. Urine levels of transforming growth factor-beta 1 in children with ureteropelvic junction obstruction. *Urology.* 1997; 50(5):769-73.
92. Pattaragarn A et al. Exercise capacity in pediatric patients with end-stage renal disease. *Perit Dial Int.* 2004; 24(3):274-80.
93. Peters CA. Urinary tract obstruction in children. *J Urol.* 1995; 154(5):1874-83.
94. Peterson JC et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease. The Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med.* 1995; 123(10):754-62.

95. Phisitkul S et al. Amelioration of metabolic acidosis in patients with low GFR reduced kidney endothelin production and kidney injury, and better preserved GFR. *Kidney Int.* 2010; 77(7):617–623.
96. Portale AA et al. Effect of dietary phosphorus on circulating concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D and immunoreactive parathyroid hormone in children with moderaterenal insufficiency. *J Clin Invest.* 1984; 73(6):1580-9.
97. Potter E. Bilateral renal agenesis. *J Pediatr.* 1946; 26:68–76.
98. Poyrazoglu HM et al. Carotid artery thickness in children and young adults with end stage renal disease. *Pediatr Nephrol.* 2007; 22(1):109-116.
99. Prokai A et al. Post-transplant diabetes mellitus in children following renal transplantation. *Pediatr Transplant.* 2008; 12(6):643–649.
100. Quan A, Baum M. Protein losses in children on continuous cycler peritoneal dialysis. *Pediatr Nephrol.* 1996; 10(6):728-31.
101. Queisser-Luft A et al. Malformations in newborn: results based on 30,940 infants and fetuses from the Mainz congenital birth defect monitoring system (1990-1998). *Arch Gynecol Obstet.* 2002; 266(3):163.
102. Querfeld U. Disturbances of lipid metabolism in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol.* 1993; 7(6): 749-757.
103. Radović N et al. Effect of unilateral ureteral obstruction and anti-angiotensin II treatment on renal tubule and interstitial cell apoptosis in rats. *Croat Med J.* 2008; 49(5):600-7.
104. Rao M et al. Cytokine gene polymorphism and progression of renal and cardiovascular diseases. *Kidney Int.* 2007; 72:549–556.
105. Raz E et al. Modulation of disease activity in murine systemic lupus erythematosus by cytokine gene delivery. *Lupus.* 1995; 4(4):286-92.
106. Renjen P et al. Advances in uroradiologic imaging in children. *Radiol Clin North Am.* 2012; 50(2):207-18.
107. Ritz E. Why are lipids not predictive of cardiovascular death in the dialysis patient? *Miner Electrolyte Metab.* 1996; 22(1-3): 9-12.
108. Roberts AB et al. New class of transforming growth factors potentiated by epidermal growth factor: isolation from non-neoplastic tissues. *Proc Natl Acad Sci.* 1981; 78(9):5339-43.
109. Rodriguez ME et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007; 292(5):1390-5.
110. Rossert J et al. Anemia management and the delay of chronic renal failure progression. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14(7 Suppl 2):173-7.
111. Schwartz GJ et al. The use of plasma creatinine concentration to estimate glomerular filtration rate in infancy, childhood and adolescents. *Pediatr Clin North Am.* 1987; 34(3):571-90.
112. Seeman T et al. Ambulatory blood pressure monitoring in children after renal transplantation. *Transplant Proc* 2004; 36(5):1355-1356.

113. Sedlak TW, Snyder SH. Bilirubin benefits: cellular protection by a biliverdin reductase antioxidant cycle. *Pediatrics*. 2004; 113(6):1776-1782.
114. Shah SN et al. Serum bicarbonate levels and the progression of kidney disease: a cohort study. *Am J Kidney Dis*. 2009; 54:270–277.
115. Shroff RC et al. Mineral metabolism and vascular damage in children on dialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2007; 18(11):2996-3003.
116. Shroff R et al. Cardiovascular complications in children with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2011; 7(11):642-9.
117. Staples AO et al. Anemia and risk of hospitalization in pediatric chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009; 4:48–56.
118. Sun D et al. Enhanced release of prostaglandins contributes to flow-induced arteriolar dilation in eNOS knockout mice. *Circ Res*. 1999; 85(3):288-93.
119. Taha MA et al. Pelvi-ureteric junction obstruction in children: the role of urinary transforming growth factor-beta and epidermal growth factor. *BJU Int*. 2007; 99(4):899-903.
120. Tan X et al. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17(12):3382-93.
121. Tom A et al. Growth during maintenance hemodialysis: impact of enhanced nutrition and clearance. *J Pediatr*. 1999; 134(4):464-71.
122. Torikai S. Tubular prostaglandin E2 production and its role in urinary hypotonicity after release of ureteral occlusion in the rat. *Clin Sci (Lond)*. 1987; 73(4):395-9.
123. US Renal Data system: USRDS 2011 Annual Data report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, Bethesda, MD, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2011.
124. US Renal Data system: USRDS 2012 Annual Data report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, Bethesda, MD, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2012.
125. Ureña Torres PA et al. Protocol adherence and the progression of cardiovascular calcification in the ADVANCE study. *Nephrol Dial Transplant*. 2013; 28(1):146-52.
126. Vachvanichsanong P et al. Childhood chronic kidney disease in a developing country. *Pediatr Nephrol*. 2008; 23(7):1143-7.
127. Valle C et al. Cinacalcet reduces the set point of the PTH-calcium curve. *J Am Soc Nephrol*. 2008; 19(12):2430-6.
128. Van der Heijden BJ et al. Renal replacement therapy in children: data from 12 registries in Europe. *Pediatr Nephrol*. 2004; 19(2):213-21.
129. Van Guldener C. Why is homocysteine elevated in renal failure and what can be expected from homocysteine-lowering? *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21(5):1161-6.

130. Wanner C et al. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med.* 2005; 353(3):238-248.
131. Warady BA, Ho M. Morbidity and mortality in children with anemia at initiation of dialysis. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18(10):1055-1062.
132. Wang W et al. Signaling mechanism of TGF-beta1 in prevention of renal inflammation: role of Smad7. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16(5):1371-83.
133. Wasilewska A et al. KIM-1 and NGAL: new markers of obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol.* 2011; 26(4):579-86.
134. Wilson AC et al. High Prevalence of the Metabolic Syndrome and Associated Left Ventricular Hypertrophy in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Pediatr Transplant.* 2010; 14(1):52-60.
135. Wolf G et al. Angiotensin II-induced hypertrophy of proximal tubular cells requires p27Kip1. *Kidney Int.* 2003; 64(1):71-81.
136. Wong CS et al. Hypoalbuminemia and risk of death in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* 2002; 61(2):630-7.
137. Wühl E et al. ESCAPE Trial Group. Strict blood-pressure control and progression of renal failure in children. *N Engl J Med.* 2009; 361(17):1639-50.
138. Yamamoto T et al. Risk factors for neurological complications in complete hemolytic uremic syndrome caused by *Escherichia coli* O157. *Pediatr Int.* 2009; 51(1):166-7.
139. Yang Y et al. Renal expression of epidermal growth factor and transforming growth factor-beta1 in children with congenital hydronephrosis. *Urology.* 2006; 67(4):817-21.
140. Zhang PL et al. Ureteropelvic junction obstruction: morphological and clinical studies. *Pediatr Nephrol.* 2000; 14(8-9):820-6.
141. Zhang Y et al. Vitamin D receptor attenuates renal fibrosis by suppressing the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21(6):966-73.
142. Zieg J et al. Hemolyticko-uremický syndrom. *Pediatr praxi.* 2011; 12(2):102-4.
143. Zittermann A et al. Vitamin D and vascular calcification. *Curr Opin Lipidol.* 2007; 18(1):41-6.
144. Ziyadeh FN et al. Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97(14):8015-20.

Publikace a prezentace v rámci PGS:

Publikace zahraniční (součásti přílohy)

1. **Zieg J**, Bláhová K, Seeman T, Bronský J, Dvořákova H, Pechová M, Janda J, Matoušovic K.: Urinary transforming growth factor- β 1 in children with obstructive uropathy. *Nephrology*, 2011, 16(6):595-8. (IF 1,311)

2. Fencl F, Malina M, Stará V, **Zieg J**, Mixová D, Seeman T, Bláhová K.: Discordant expression of a new WT1 gene mutation in a family with monozygotic twins presenting with congenital nephrotic syndrome. *Eur J Pediatr*. 2011, 171(1):121-4. (IF 1,879)

3. **Zieg J**, Křepelová A, Baradaran-Heravi A, Levtchenko E, Guillén-Navarro E, Balaščíková M, Seeman T, Dušek J, Šimánková N, Rosík T, Sukova M, Skálová S, Lebl J Boerkoel CF: Rituximab resistant Evans syndrome and autoimmunity in Schimke immuno-osseous dysplasia, *Pediatr Rheumatol Online J.*, 2011, 121-4.9(1), 27. (IF 1,44)

4. Dvořáková HM, Szitanyi P, Dvořák P, Janda J, Seeman T, **Zieg J**, Lánská V, Kotaška K, Pitha J: Determinants of premature atherosclerosis in children with end-stage renal disease. *Physiol Res*. 2012;61(1):53-61. (IF 1,555)

5. **Zieg J**, Dušek J, Marejková M, Limrová P, Blažek D, Pavlíček P, Grega M, Janda J: Fatal case of hemolytic uremic syndrome with shiga toxin induced cerebral edema. *Pediatr. Int.*, 2012, 54(1):166-7. (IF 0,626)

6. **Zieg J**, Háček J. Surprisingly favourable outcome in a patient with Goodpasture's disease. *Hemodial. Int.*, 2013, 17(1):135-7. (IF 1,54)

Publikace tuzemské

1. Marejková M, Dědičová D, Vašáková M, **Zieg J**, Fencl F, Bláhová K, Petráš P: Dva případy diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolané enterohemoragickými kmeny *Escherichia coli* O157 a O111, *Zprávy CEM (SZÚ Praha)*, 2007; 16(8):366-68.

2. Marejková M, **Zieg J**, Dušek J, Bláhová K, Petráš P: Smrtelný případ diareapozitivního hemolyticko-uremického syndromu vyvolaného enterohemoragickým *Escherichia coli* O26, *Zprávy CEM(SZÚ Praha)*, 2009; 18(6):212-14

3. **Zieg J**, Skálová S: Postižení ledvin při Henoch Schönleinově purpře, *Pediatric pro praxi*, 2010; 11(3):169-171.

4. Skálová S, **Zieg J**, Minxová L.: Henoch-Schönlein purpura –diagnostika a léčba z pohledu současných poznatků, review, Československá pediatrie, 2010; 65(11):660-6.
5. **Zieg J**, Bláhová K, Dušek J, Janda J: Hemolyticuremic syndrome, *Pediatrie pro praxi*, 2011; 12(2):102-4.

Ústní sdělení

1. **Zieg J**, Bláhová K, Seeman T, Pechová M, Janda J, Matoušovic K: Urinary TGF beta 1 levels in children with hydronephrosis. 17th Meeting of ES-PCR, (formerly Meeting of Central European Countries of Pediatric Research), 2008, Innsbruck, Rakousko.
2. **Zieg J**, Bláhová K, Seeman T, Pechová M, Janda J, Matoušovic K: Močové koncentrace TGF beta 1 u dětí s hydronefrozou. Studentská vědecká konference 2.LF UK, 2008, Praha, Česká republika.
3. **Zieg J**: Schimke immuno-osseous dysplasia. Salzburg Medical Seminar, 2011, Salzburg, Rakousko.
4. **Zieg J**: Evansův syndrom u pacientky s těžkou formou Schimkeho immuno-osseální dysplázie. 32. Pracovní dny dětské nefrologie, 2011, Plzeň, Česká republika.
5. **Zieg J**, Geier P, Walker S, Pytlak M, Feber J: Můžeme odhalit sníženou relativní funkci ledviny pomocí stanovení GFR a/nebo ultrazvukem? 32. Pracovní dny dětské nefrologie, 2011, Plzeň, Česká republika.
6. **Zieg J**, Bláhová K, Seeman T, Pechová M, Janda J, Matoušovic K: 33. Pracovní dny dětské nefrologie, 2012, Uherské Hradiště, Česká republika
7. **Zieg J**: Hemolyticko uremický syndrom. Diskuzní soustředění v dětské nefrologii, IPVZ, 2012, Praha, Česká republika
8. **Zieg J**: Hyponatremie u dětí. Diskuzní soustředění v dětské nefrologii, IPVZ, 2013, Praha, Česká republika
9. **Zieg J**: Evans syndrome in Schimke immuno-osseal dysplasia. Advanced course on rare and metabolic renal diseases. 2013, Řím, Itálie

Postery

1. **Zieg J**: Akutní fokální bakteriální nefritida s primárním odontogenním fokusem 28. Pracovní dny dětské nefrologie, 2007, Valtice, Česká republika.
2. Bláhová K, Fencel F, Mixová D, Vondrák K, **Zieg J**, Stará V, Háček J, Cinek O, Malina M: Wilm's tumor gene 1 in monozygous twins with congenital nephrotic syndrome. 33. kongres České nefrologické společnosti, 2010, Praha, Česká republika.

3. **Zieg J**, Balaščíková M, Šimánková N, Dušek J, Semanová E, Bláhová K, Fencel F, Lebl J, Křepelová A: Severe form of Schimke immuno-osseous dysplasia. 2010, IPNA Congress, 2010, New York, USA.

(Abstract in *Pediatric Nephrology*, 2010, 25(9), 1970)

4. **Zieg J**, Dušek J, Blažek D, Pavlíček P, Šimánková N, Seeman T, Vondrák K, Janda J: Acute renal failure in patient with chronic cough- Goodpasture disease. 31. Pracovní dny dětské nefrologie, 2010, Hradec Králové, Česká republika.

5. Marejková M, Bláhová K, **Zieg J**, Dusek J, Petráš P: Family outbreak caused by Shiga toxin 2 producing *Escherichia coli* O26:H11 with a fatal case of hemolytic-uremic syndrome. VTEC 2012 International Conference, Amsterdam, Nizozemí.

Přílohy