

UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

HABILITAČNÍ PRÁCE

Roman Šafránek

2018

UNIVERZITA KARLOVA

Lékařská fakulta v Hradci Králové

Obor: Vnitřní nemoci

Název práce:

Nové možnosti optimalizace hemodialyzační strategie

Roman Šafránek

2018

Prohlášení autora

Prohlášení:

Prohlašuji tímto, že jsem tuto práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy.

Hradec Králové, 2018

podpis autora

Poděkování

Nesoulad mezi předpokladem, zvykem, očekáváním a skutečností vede k údivu, podněcuje zvědavost a touhu objevovat svět. Nevím, kde se berou a jak jsou kódovány pořadím bází nukleové kyseliny. Ale ať již je to tato nebo jiná primární emoce, je to to, co je základem filozofie, žene lidstvo do neznáma a také to, co stálo na začátku cesty, která nikdy a nikde nekončí a která dala vzniknout této práci.

Velké poděkování patří mému vynikajícímu školiteli postgraduálního studia, prof. MUDr. Milanu Holečkovi, DrSc., který mne přivedl tam, kde končí poznání a začíná bádání. Naučil mne nedělat z problémů vědu, ale jít na ně vědecky.

„どうもうおりがとうございました “ – dómó arigató gozaimašta patří těm, kteří mi ukázali „jak se dělá věda o studené rýži a syrovém mase“. Ishibashi Nobuya, Oka Yousuke a Araki Yasumi mi byli nejvíce nápomocni při objevování neznámého a kvantifikování neviditelného v jejich prazvláštní zemi.

Hranice možností současné medicíny mi ukázali desítky lékařů více nežli dvaceti oddělení, především naší Fakultní nemocnice Hradec Králové. Děkuji těm, kteří se podělili o svoje zkušenosti a dokázali poradit ve prospěch pacientů.

Zásadní poděkování si zaslouží prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc., MBA, která moji cestu nasměrovala k nefrologii. Velmi si vážím zkušeností, které ve svém životě nelehko sbírala a mě ochotně předávala.

Nelze nepoděkovat Ing. Petru Moučkovi a všem zaměstnancům Hemodialyzačního střediska, kteří vytváří výborné prostředí pro dobrou péči o naše pacienty a ještě něco navíc.

Děkuji i rodičům, manželce a dalším nejbližším za podporu a pochopení pro počítání molekul pobíhajících na polysulfonových membránách pod taktovkou rotorů peristaltických pump.

Děkuji i všem přímo nejmenovaným, kteří svými radami či pomocí přispěli ke vzniku této práce.

Obsah

Seznam použitých zkratek	7
1. Cíle	8
2. Přehled o současném stavu problematiky.....	9
2.1 Od dřevěných rotujících lamel k vysokoobjemové on-line hemodiafiltraci.....	9
2.2 Od renální osteodystrofie k CKD-MBD	10
2.3 Současné používané varianty mimotělní náhrady funkce ledvin.....	11
2.4 Vápník v dialyzačním roztoku	12
2.5 Hořčík v dialyzačním roztoku.....	23
2.6 Použití dialyzačních roztoků s kyselinou citronovou	23
2.7 Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D.....	28
2.8 Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů.....	29
2.9 Vliv hemodialyzační procedury na koncentrace thyroidálních hormonů	30
2.10 Kardiovaskulární bezpečnost procedury, hydratace	31
3. Dosažené výsledky	40
3.1 Vápník v dialyzačním roztoku; vliv přidaného citrátu	40
3.2 Vliv použití dialyzačního roztoku s obsahem kyseliny citronové na koncentrace hořčíku	44
3.3 Sérové koncentrace fosforu	47
3.4 Vliv použití dialyzačních koncentrátů s citrátem na změny parathormonu při hemodialyzační proceduře	50
3.5 Srovnání měření hladin parathormonu různými metodami	53
3.7 Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D.....	54
3.8 Sklerostin a vitamin D-binding protein při suplementaci cholekalciferolem....	59
3.9 Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů.....	64
3.10 Vliv modifikací hemodialyzační procedury na koncentrace thyroidálních hormonů	66

3.11	Změny relativního objemu krve a prokrvení kůže při HD.....	68
3.12	Ukazatele kostního obratu a další látky u různých typů hemodialyzačních procedur.....	77
4.	Interpretace vybraných získaných výsledků	80
4.1	Vliv použití dialyzačního roztoku s obsahem kyseliny citrónové na koncentrace hořčíku	80
4.2	Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D.....	80
4.3	Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů.....	82
4.4	Vliv modifikací hemodialyzační procedury na koncentrace thyroidálních hormonů	83
5.	Souhrn – hlavní závěry a doporučení	84
6.	Literatura	89
7.	Přílohy – publikace autora související s tématem práce	102

Seznam použitých zkratk

BMI – body mass index

CRP – C-reaktivní protein

CKD-MBD – kostní choroba u chronického onemocnění ledvin

DM – diabetes mellitus

FT3 – volná frakce T3

FT4 – volná frakce T4

HD – hemodialýza

HDF – on-line hemodiafiltrace

PTH – parathormon

RRT – náhrada funkce ledvin (renal replacement therapy)

T3 – trijódtyronin

T4 – tyroxin

TSH – thyreotropní hormon

UF – ultrafiltrace

VDR – receptor vitaminu D

1. Cíle

Cílem práce je přinést nové poznatky, které mohou vést k optimalizaci hemodialyzační strategie z hlediska korekce poruch fosfokalciového metabolismu a kardiovaskulární tolerance procedury u pacientů s chronickým selháním ledvin.

Hlavní cíle:

A. Popis akutních změn fosfokalciového metabolismu při různých mimotělních eliminačních strategiích: Hemodialýza: srovnání vlivu hemodialyzačních roztoků s různými koncentracemi vápníku. Definovat akutní změny sérových koncentrací vápníku a fosforu. Určit, zda nastává akutní stimulace či inhibice aktivity příštítných tělísek (s posouzením dlouhodobého výsledného trendu). Analogické sledování provést u hemodiafiltrace. Provést srovnání standardních dialyzačních roztoků s roztoky obsahujícími citrát sodný. Dále ohodnotit možný vliv dalších faktorů a molekul, které by mohly ovlivňovat fosfokalciový metabolismus v rámci CKD-MBD.

B. Ohodnocení bezpečnosti stran klinické odezvy na výše uvedené varianty hemodialýzy, jmenovitě vlivu na periferní mikrocirkulaci a na změny intravaskulárního objemu krve.

C. Naměřená data využít k sestavení doporučených návrhů dialyzační strategie stran účinnosti a bezpečnosti dialyzačního procesu, rychlosti ultrafiltrace, použití dialyzačních roztoků s a bez citrátu sodného s konkrétními koncentracemi vápníku pro jednotlivé koncentráty roztoků a pro specifické skupiny pacientů dle stavu minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin.

2. Přehled o současném stavu problematiky

2.1 Od dřevěných rotujících lamel k vysokoobjemové on-line hemodiafiltraci

Lidské sny o nesmrtelnosti, zázračných uzdravovacích schopnostech a náhradě ztracených orgánů jsou prastaré. Historie náhrady vitálních orgánů je ale velmi krátká. Otcem dialýzy bývá někdy nazýván Thomas Graham, skotský chemik, který popsal principy, které jsou podstatné pro děje, které se odehrávají na membráně v dialyzátoru. V roce 1861 píše ve své práci: „ Půl litru moči, dialyzované po 24h, předá krystalické látky do vody ve vnějším prostoru. Ta, po vypaření ve vodní lázni, vydá bílou krystalickou hmotu. Z této hmoty pomocí alkoholu byla extrahována urea v tak čisté podobě, jaká se vyskytuje v krystalických slucích po vypaření alkoholu...“

Dialýza byla v té době čistě experimentální metodou k izolaci a separaci elektrolytů, čištění bílkovin apod. Tak to zůstalo až do počátku 20. století. První snaha léčit selhání ledvin pomocí dialýzy byla poprvé uskutečněna na pacientovi Georgem Haasem v roce 1924. Po provedení dialýzy zaznamenal ústup uremických obtíží pacienta.

Tím zásadním zlomem v historii hemodialýzy bylo úspěšné provádění dialýz na pacientech Willemem Kolffem, které započal v roce 1943. Jde v podstatě o první úspěšně realizovanou náhradu vitálního orgánu. „Dialyzační přístroj“, který byl použit pro první dialýzy, byl sestaven mimo jiné z plechů sestřeleného německého bombardéru, vodního čerpadla Ford, motoru ze šicího stroje. Jeho energie byla přenášena pomocí cyklistického řetězu na válec s dřevěnými lamelami. Na ně se natahovalo „celofánové potrubí“, které bylo dostupné díky jeho výrobě jako obal na párky pro hot dogy. Důležitá pro úspěšnost provádění mimotělního očišťování byla mimo jiné dostupnost levného heparinu. 11. září 1945 dr. Kolff provedl dialýzu u ženy, která díky mimotělnímu očištění přežila akutní selhání ledvin a je považována za prvního člověka, kterému dialýza významně prodloužila život. (Ing 2012)

V dnešní době tou nejlepší variantou hemodialyzační léčby, kterou můžeme pacientům nabídnout, je tzv. vysokoobjemová on-line hemodiafiltrace. Nejdelší přežití pacienta na hemodialyzační léčbě je v současné době 41 let.

2.2 Od renální osteodystrofie k CKD-MBD

Chronické onemocnění ledvin je celosvětově narůstající zdravotnický problém postihující více nežli 5 % populace. S tím souvisí i stále stoupající počet dialyzovaných pacientů, který již nyní přesahuje 2 milióny. Tito nemocní mají ve srovnání se stejně starými pacienty bez selhání ledvin výrazně vyšší morbiditu i mortalitu. Pravidelně dialyzovaní dnes ale neumírají na „selhání ledvin“ ani komplikace hemodialyzační procedury. Selhání ledvin je ale výrazným faktorem mnohonásobně zvyšujícím kardiovaskulární riziko. A právě na tato onemocnění umírá většina dialyzovaných pacientů. Spoluzodpovědné jsou za to komplexní metabolické změny, které se objevují již v časných stádiích chronického onemocnění ledvin a progredují s postupným zhoršováním funkce ledvin.

Postižení kostí při onemocnění ledvin, obvykle označované jako renální osteodystrofie, bylo známo již od čtyřicátých let minulého století. Po zavedení dialyzační léčby do klinické praxe v 60. letech minulého století se zjistilo, že dialyzační léčba postižení kostí neodstraní. V následujících desetiletích byla postupně poznávána komplexnost změn. Termín renální osteodystrofie je dnes vyhrazen pouze pro kostní změny. Oproti tomu nový název „chronic kidney disease – mineral and bone disorder, CKD -MBD“ zahrnuje minerálové a kostní změny při chronickém onemocnění ledvin a pro diagnostiku zahrnuje tři základní oblasti – laboratorní abnormality, kostní změny a extraskeletální kalcifikace. Laboratorní komponenta CKD-MBD tradičně zahrnuje změny koncentrací fosforu, vápníku, vitamínu D, kostního izoenzymu alkalické fosfatázy. Dnes ale víme, že se mění koncentrace desítek dalších látek, které mohou ovlivňovat rovnováhu pro a protikalcifikačních dějů, ať již jde o FGF-23, fetuin-A a další. Řada z těchto látek je navíc ovlivňována hemodialyzační léčbou. Podrobnějším poznáním dějů, ke kterým při HD dochází a dalším zlepšováním námi poskytované dialyzační terapie můžeme výrazně snížit stále tak vysoké riziko komplikací při CKD-MBD.

Za velmi rizikovou skupinu jsou dnes považováni pacienti s adynamickou kostní chorobou. Dnes, i vzhledem k doporučení KDIGO (2009) neprovádět kostní biopsie u pacientů s nízkým PTH jde o pacienty s předpokládaným nízkým kostním obratem dle biochemických ukazatelů. U těchto pacientů je změněn osud vápníku v organismu po jeho náloži. Zejména u těchto pacientů např. při léčbě analogy vitamínu D, vápníkovými vazači fosfátů nebo při použití neadekvátně vysoké koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

je výrazně zvýšené riziko ukládání vápníku mimo kost s tvorbou mimokostních a cévních kalcifikací. A i přes často vyšší sérové koncentrace vápníku je při nízkém PTH vyšší riziko zlomenin krčků stehenní kosti. Tento stav je spojen s významně vyšší morbiditou a mortalitou.

2.3 Současné používané varianty mimotělní náhrady funkce ledvin

Konvenční hemodialýza (HD) představuje dosud nejrozšířenější způsob náhrady funkce ledvin (RRT, renal replacement therapy) metodami mimotělního očišťování krve u pacientů s chronickým selháním ledvin. Odstraňování látek a vody během HD probíhá na podkladě difuze (přestup látek přes semipermeabilní membránu mezi krví a dialyzačním roztokem, hnací silou je koncentrační gradient) a konvekce či ultrafiltrace (hnací silou je hydrostatický tlak). (Dusilová Sulková 2014)

V řadě evropských zemí se stále více uplatňuje jiná metoda, hemodiafiltrace (HDF). Hemodiafiltrace pracuje zásadně s vysoko propustnými (high-flux) membránami, které umožní eliminaci širšího spektra molekul (Canaud 2006). Hemodiafiltrace využívá rovněž difusi a konvekci, avšak díky vysoké propustnosti membrány konvektivní objem významně převyšuje potřebnou ultrafiltraci. Velký objem tekutin, odstraněný konvekcí, vyžaduje tekutinovou substituci. Příprava sterilního a apyrogenního substitučního roztoku přímo z dialyzačního koncentrátu a ultračisté vody (neboli „on-line“) významně přispěla k rozšíření hemodiafiltrace, označované jako online HDF. (Dusilová Sulková 2014)

Pracovní skupina EUDIAL definuje hemodiafiltraci takto (Tattarsall 2013): hemodiafiltrace je metoda mimotělního očišťování krve, která užívá high-flux membránu a kombinuje difusi a konvekci. High-flux membrána je charakterizována ultrafiltračním koeficientem vyšším než 20 ml/hod/mmHg/m² a prosévacím koeficientem pro beta-2-mikroglobulin více než 0,6. Konvekcí odstraněný objem tekutin musí být nejméně 20% kumulativního objemu krve, který byl během procedury očištěn v mimotělním okruhu. Odpovídající bilance tekutin je zajištěna infusí apyrogenního a sterilního substitučního roztoku do mimotělního okruhu. (Dusilová Sulková 2014)

Z hlediska místa aplikace substitučního roztoku lze rozlišit tyto varianty uspořádání: postdiluční hemodiafiltrace, prediluční hemodiafiltrace, mid-diluce, mixed-diluce a další možnosti uspořádání (Tattersall 2013; Ledebó 2010).

Při predilučním uspořádání je substituční roztok aplikován do přívodné části krevního okruhu, před hemodialyzátor. Nejprve tedy nastává diluce, až poté konvekce. Krev vstupuje do dialyzátoru naředěná a celkový objem substituce je pro dosažení srovnatelné účinnosti podstatně vyšší, než při postdiluci. Při postdilučním uspořádání dochází nejprve ke konvekci a až následně k diluci. Jde o nejčastěji používanou variantu, mimo jiné pro její nejvyšší účinnost a současně technickou jednoduchost. Při mid-diluci je substituční tekutina aplikována uprostřed, tj. nastává konvekce, pak diluce, pak opět konvekce. Toto uspořádání vyžaduje specifické technické vybavení. Mixed HDF (mixed-dilution) spočívá v aplikaci části substitučního roztoku před dialyzátor a části až za dialyzátor. Jde tedy o sekvenci diluce – konvekce – diluce. Stejně jako další varianty (např. push-pull) není toto uspořádání v současné době běžně používáno. (Dusilová Sulková 2014)

Mixed HDF byla označena za velmi slibný hemodialyzační mód, který díky kombinaci prediluce a postdiluce v proměnlivém poměru v čase během procedury zlepšil reologické poměry v dialyzátoru, lépe zachová permeabilitu dialyzátoru a bude možné dosáhnout i vyšší clearance např. i pro beta-2 mikroglobulin ve srovnání nejen s prediluční, ale i postdiluční HDF (Pedrini 2003, Feliciani 2007).

2.4 Vápník v dialyzačním roztoku

O vápníku jako důležité složce dialyzačního roztoku pojednáváme v přehledném článku (Šafránek 2011, příloha č. 1). Dlouhodobě dialyzovaní pacienti jsou postiženi výraznou tvorbou arteriálních kalcifikací i vyšším rizikem zlomenin. Jedním z mnoha faktorů zvyšujících výskyt těchto komplikací je přebytek nebo nedostatek vápníku v organismu. Volba koncentrace vápníku v roztoku pro dialyzační proceduru je přitom důležitý faktor podílející se na vytváření vápníkové bilance našich pacientů. (Covic 2009, Goodman 2000 a 2004, Cozzolino 2005, Moe 2009, Adragao 2009, Alem 2000, Nickolas 2008).

Historický vývoj

Při zavádění dialyzační terapie do širší klinické praxe v 60. letech 20. století byla původně používána koncentrace ionizovaného kalcia v dialyzačním roztoku 1,25 mmol/l. Byla vybrána jako koncentrace, která nejvíce odpovídá plazmatické hladině ionizovaného kalcia. Při jejím používání ale docházelo často k poklesům plazmatické koncentrace vápníku, časté byly nekorigovatelné hyperparathyreózy. Proto se brzy přešlo na používání vyšších

koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku (1,75 mmol/l) s cílem prevence hypokalcémie, dodávání kalcia při dialýze a prevence renální osteodystrofie.

V 70. letech se stala běžnou substituce aktivního vitamínu D, koncem 80. let se rozšířilo používání vápník obsahujících fosfátových vazačů. Touto změnou terapie se výrazně zvýšil perorální příjem vápníku. V případě vysokých dávek vazačů i několikanásobně. Kombinací s aktivním vitamínem D se navíc výrazně zvýšil i absorbovaný podíl. To vedlo v kombinaci s nadále používanou vysokou koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku k velkému zatížení pacientů vápníkem s častou hyperkalcémií (Slatopolsky 1986). Jedním z možných řešení tohoto problému byl návrat k nižším koncentracím vápníku v dialyzačním roztoku (Slatopolsky 1989).

V dnešní době je terapie našich pacientů dále obohacena o používání vazačů fosfátů, které neobsahují ani aluminium ani kalcium, o analoga vitamínu D a kalcimimetika. Pestřejší terapeutické možnosti významně ovlivňují bilanci vápníku a to s velkými interindividuálními rozdíly v závislosti na typu a dávkách zvolených léků. Jako důsledek jsou dnes používány koncentrace v širším rozpětí od 1 mmol/l (Gotch 2010) až po 1,75 mmol/l (Seyffart 2009). V Japonsku, Austrálii a Evropě převažuje používání koncentrací 1,5 mmol/l, v Americe jsou v průměru používány koncentrace nižší.

Vliv koncentrace kalcia v dialyzačním roztoku na jeho bilanci při dialyzační proceduře

Zásadním faktorem kalciové bilance při HD je rozdíl koncentrací ionizovaného kalcia v dialyzačním roztoku a plazmě. Při zahájení dialyzační procedury je faktorem jednoznačně nejdůležitějším. Během dialýzy je velikost bilance ovlivňována i dalšími, níže popsanými faktory. Důležité je, že množství kalcia odstraněného při HD není závislé na celkovém příjmu kalcia v mezidialyzačním období (Sigrist 2006). Hemodialýza tedy nemůže sloužit jako jakýsi automaticky fungující faktor ve vyrovnání kalciové bilance.

Vliv různých koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku na bilanci vápníku při 4h HD proceduře metodou sběru veškerého dialyzátu studovala např. Hou (1991). Při koncentraci Ca 1,75 mmol/l byla pozitivita bilance při proceduře průměrně 879 mg vápníku, při Ca 1,25 mmol/l 216 mg Ca a negativní bilance (231 mg) byla při koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku 0,75 mmol/l. Na základě výpočtu bilancí vápníku při 4h HD

Yokoyama (2002) odhadl vyrovnanou bilanci vápníku při užití dialyzačního roztoku s koncentrací Ca 1,395 mmol/l. Toto následně potvrdil pomocí výpočtu celkové bilance vápníku u 11 náhodně vybraných pacientů.

Dle jiných autorů je negativita bilance dosaženo již při použití dialyzačního roztoku o koncentraci Ca 1,25 mmol/l. Při 4h trvajícím HD byla bilance vápníku negativní u 83 % pacientů, a to -187 ± 232 mg Ca (Sigrist 2006), Yokoyama uvádí -94,5 mg (výpočet z měření na jiných koncentracích) (Yokoyama 2002). Při použití koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1 mmol/l je bilance vápníku negativní o -645 mg Ca, při koncentraci 1,5 mmol/l je bilance při 4h HD pozitivní o +456 mg Ca (Yokoyama 2002).

Obdobné výsledky ukazuje i recentní práce Karohl (2010) a spolupracovníků. Autoři měřili pomocí sběru veškerého použitého dialyzačního roztoku bilance kalcia při hemodialyzační proceduře u 4 koncentrací kalcia. Přibližně vyrovnané vápníkové bilance bylo dosaženo při koncentraci Ca 1,5 mmol/l dialyzačního roztoku. Negativní při užití koncentrací Ca 1 a 1,25 mmol/l a pozitivní při koncentraci Ca 1,75 mmol/l.

Výrazně negativní bilance vápníku při HDF naměřil metodou sběru veškerého dialyzačního roztoku Malberti (1994). Mírné negativita bylo dosaženo při užití koncentrace Ca 1,75 mmol/l, výrazně negativní při koncentracích nižších. Příčinou těchto výsledků může být velký rozdíl mezi koncentrací vápníku udávanou výrobcem a koncentrací ionizovaného kalcia naměřenou, která byla např. pro roztok 1,75Ca 1,37 mmol/l! Dalším zjištěním je vztah mezi účinností on-line HDF danou rychlostí ultrafiltrace/substituce a bilance vápníku. Při srovnatelných koncentracích ionizovaného vápníku na straně krevní a v dialyzačním roztoku se bilance se změnou účinnosti nemění (tedy zůstává vyrovnaná). Při snížení koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku pod koncentraci ionizovaného vápníku v krvi je bilance vápníku negativní a se zvýšením účinnosti tato negativita dále stoupá.

Velikost ultrafiltrace neovlivňuje zásadním způsobem bilanci kalcia při HD (Sigrist 2006). Významným faktorem je konvektivní transport při hemodiafiltraci (Malberti 2003). Vlastní rychlost substituce ale neovlivňuje výrazně bilanci vápníku při on-line HDF (Malberti 1994). Karohl a spol. (2010) nezjistila vliv užívání vitamínu D, jeho analog ani různých typů

vazačů fosfátu na bilanci kalcia při HD. Orientační bilanci vápníku při dialyzační proceduře v závislosti na použité koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku ukazuje Tabulka 1.

Co se týká celkové bilance vápníku, Sigrist (2006) vypočítal pozitivní bilanci kalcia u pacientů dialyzovaných s fixní koncentrací kalcia 1,25 mmol/l, a to i u pacientů bez léčby kalciovými vazači fosfátů. Pozitivita bilance kalcia stoupala s rostoucím příjmem, daným zejména kalciovými vazači fosfátů. Na druhou stranu, velikost ztrát kalcia s výší příjmu vápníku nesouvisela.

Vliv jiných faktorů na bilanci kalcia při hemodialýze

Vliv stavu kostní remodelace

Stav kostní tkáně zásadním způsobem ovlivňuje celkovou bilanci kalcia při hemodialýze. Karohl a spol. (2010) měřili kromě celkové bilance vápníku několik ukazatelů kostní remodelace: iPTH, osteokalcin, kostní isoformu alkalické fosfatázy, osteoprotegerin a deoxypyridinolin. Kostní biopsie prováděna nebyla. Pokud rozdělili pacienty do dvou skupin dle iPTH (pod a nad 300 pg/ml), tak skupina s vyšším iPTH měla při stejné predialyzační sérové koncentraci kalcia signifikantně negativnější kalciovou bilanci při dialýze s dialyzačním roztokem o koncentraci Ca 1 mmol/l (-420 ± 219 vs. -783 ± 472 mg/HD proceduru). Možné vysvětlení tohoto jevu je následující: pool plazmatického vápníku je malý a během HD procedury dochází k nevelkým změnám v koncentraci plazmatického vápníku. Vápníkové ionty jsou tedy ihned deponovány do nebo uvolňovány z poolu mnohem většího. Jeho existenci a kapacitu na matematických modelech dokládá Gotch a spolupracovníci (2010). Jde o pool rychle mobilizovatelného kalcia, který se nachází v kostní tkáni, především jde o vápník navázaný na nekolagenní proteiny kosti. Množství vápníku, které se z kosti může uvolnit nebo které se může do kostní tkáně navázat je, jak ukázal Kurz a spol. (1994), významně ovlivněno stavem kostní remodelace – je významně snižené u dynamické kostní choroby. V případě hyperparathyreózy je snazší rychlá mobilizace kalcia daná větším poelem Ca vázaného na nekolagenní proteiny, např. osteokalcin, který byl v popisované studii výrazně vyšší ve skupině s vyšším iPTH. Osteokalcin, nekolagenní bílkovina s největším zastoupením v kostní tkáni, je syntetizována osteoblasty právě v důsledku stimulace parathormonem (Yu 2008).

Stav kostní remodelace tím, že ovlivňuje bilanci kalcia při HD, může být jedním z klíčových faktorů velkého interindividuálního rozptylu celkové bilance kalcia při užití určité koncentrace Ca v dialyzačním roztoku. Navíc jde o parametr, který je alespoň orientačně hodnotitelný měřením PTH. Jeho koncentrace je rutinně stanovována v pravidelných intervalech u všech dialyzovaných pacientů a inkorporace tohoto parametru do úvah o volbě koncentrace Ca v dialyzačním roztoku nevyžaduje tedy žádná další vyšetření. Ve skupině pacientů s vysokými hladinami iPTH by tedy jen ve zdůvodněných případech měly být voleny roztoky s nízkými koncentracemi Ca v dialyzačním roztoku (1 a 1,25 mmol/l). (Karoohl 2010)

Dalším z možných faktorů, které mohou při dané koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku ovlivňovat jeho bilanci při proceduře je např. polymorfismus genu pro receptor vitamínu D (Yokoyama 2002). Při HD s 1,25 mmol/l vápníku byla dle genomu odlišná celková bilance vápníku i odpověď příštítných tělísek co do sekrece PTH při proceduře.

Současná doporučení pro klinickou praxi

Platná současná doporučení nejsou ani jednotná, ani jednoznačná. National Kidney Foundation (New York, United States) ve svých doporučeních (Kidney Disease Outcome Quality Initiative – K/DOQI) z roku 2003 preferuje používání nižších koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku. Upřednostňuje koncentraci 1,25 mmol/l před 1,5 mmol/l. Důvodem je snaha vyhnout se velké náloži vápníku do organismu a předcházet kalcifikacím cév.

KDIGO ve svých doporučeních z roku 2009 navrhuje používání koncentrací kalcia v rozmezí 1,25 – 1,5 mmol/l. Tyto koncentrace by u většiny pacientů měly zajistit přibližně neutrální bilanci kalcia při hemodialyzační proceduře. V případě pacientů s adynamickou kostní nemocí by neměla být při užívání výše uvedených koncentrací příliš velká pozitivita kalciové bilance, která by byla škodlivá. U pacientů s hypokalcémií lze předpokládat mírně pozitivní bilanci, která je v tomto případě žádoucí. Tato doporučení vychází z malého počtu studií na nemnoha pacientech a nebyla prospektivně testována. Síla doporučení 2D. Úroveň doporučení 2 znamená „navrhujeme, různé možnosti mohou být odpovídající pro různé pacienty“, D znamená „velmi nízká kvalita důkazů, hodnocení účinku je velmi nejisté a může být daleko od pravdy“. Nedostatek dat a nejistotu doporučení ukazuje i

nutnost hlasování expertní skupiny v tomto bodě. Nové poznatky ani jasnější doporučení nepřináší komentář KDOQI (Uhlig 2010). Dle některých expertů je vhodné ke snížení positivity kalciové bilance používat koncentrace nižší, a to 1 mmol/l dialyzačního roztoku (Gotch 2010).

Update výše zmiňovaných KDIGO doporučení z roku 2017 uvádí opět doporučovanou koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku 1,25 až 1,5 mmol/l, síla doporučení je nadále 2, podloženost důkazy je posunuta z D (velmi nízká kvalita důkazů) na C (nízká kvalita důkazů). Konkrétnější doporučení nejsou možná, protože většina i recentních studií zaměřených na srovnání dopadů používání různých koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku obvykle srovnává dialyzační roztoky s rozdílem koncentrací minimálně 0,5 mmol/l.

Klinické zkušenosti s používáním různých koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku

Vliv na management sekundární hyperparathyreózy

Dvacetileté klinické zkušenosti s používáním koncentrací 1,5 a 1,75 mmol/l vápníku v dialyzačním roztoku publikoval Seyffart a spol. (2009). Mezi výhody jimi používaných vyšších koncentrací vápníku uvádí velmi nízký výskyt sekundární hyperparathyreózy s extrémně nízkou nutností parathyroidektomie (1 operace na téměř 400 dialyzovaných pacientů). Autoři přitom nezaznamenali vysoký výskyt hyperkalcémií, četnost měkkotkáňových kalcifikací považovali za nízkou (ale nebylo po nich cíleně pátráno!).

Gotch a spol. (2010) při dlouhodobém používání dialyzačního roztoku o koncentraci 1 mmol/l nepozorovali vzestup hladin iPTH. Naproti tomu Yokoyama (2002) zjistil po převedení pacientů z dialyzačního roztoku o koncentraci vápníku 1,5 na 1,25 mmol/l a jeho měsíčním používání signifikantní vzestup iPTH o 14 %. Nutno poznamenat, že pacienti byli léčeni Ca-obsahujícími vazači fosfátů, ale nedostávali žádný aktivní vitamin D. Obdobně uspořádaný experiment provedla Fernandez a spol. (1995). Třicet pět pacientů bylo převedeno z dialyzačního roztoku o koncentraci vápníku 1,75 na 1,25 mmol/l a sledování 1 rok. Zároveň se změnou dialyzačního roztoku byl změněn typ používaného

vazače fosfátu z aluminiového na kalciový. Aktivní vitamin D byl podáván pacientům s iPTH nad 15 pmol/l. Během sledovaného období došlo k výraznému vzestupu parathormonu (z $18,6 \pm 5$ na $33,2 \pm 7$ pmol/l, $p < 0,001$) i alkalické fosfatázy.

Vliv na management adynamické kostní choroby

Obvyklý rozdíl koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 0,5 mmol/l je používán i ve studii Spasovského (2007). Jde o dobře provedenou randomizovanou studii u pacientů s adynamickou kostní nemocí (hodnocenou jako predialyzační PTH pod 100 pg/ml). Nevýhodou je používání pouze vápníkových vazačů fosfátu. Při použití vyšší vápníkové koncentrace v dialyzačním roztoku byly dle očekávání vyšší sérové koncentrace celkového i ionizovaného vápníku po dialyzační proceduře. Během šestiměsíčního sledování došlo k vzestupu markerů ukazujících na vzestup kostního obratu při používání nižší koncentrace vápníku (celková i kostní frakce alkalické fosfatázy, iPTH) a tady ukazatele byly vyšší ve srovnání se skupinou s vyšší koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku. V případě předpokládaného nízkého kostního obratu šlo tedy o pozitivní vývoj, který nebyl doprovázen vyšším výskytem nežádoucích účinků při HD (křeče, hypotenze apod.). Pro léčbu adynamické kostní choroby by z pohledu doporučení mohlo být vhodné používání koncentrace 1,25mmol/l. Další snižování koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku by nemuselo být zapotřebí – v této studii došlo ke vzestupu ukazatelů kostního obratu i při koncentraci 1,25 mmol/l za současného používání vápníkových vazačů fosfátů.

Velmi zajímavá je recentní studie Ok a spolupracovníků (2016), která má řadu pozitiv (randomizace, dvouleté sledování, současné vyšetření kalcifikačního skóre koronárních arterií a kostní histomorfometrie). Studie bohužel opět používá obvyklý rozdíl koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 0,5 mmol/l, tedy 1,25 a 1,75 mmol/l. Zařazeni byli pacienti s PTH nižším nežli 300 pg/ml. I při takto relativně vysoké koncentraci PTH byl překvapivě vysoký výskyt adynamické kostní choroby dle histomorfometrie – 79 a 85 %. Během dvouletého sledování došlo při použití Ca 1,25 mmol/l k poklesu adynamické kostní choroby z 85 na 41 %. Při použití Ca o koncentraci 1,75 mmol/l ke statisticky významné změně nedošlo. Co se týká kalcifikačního skóre koronárních arterií, tak důležitým výsledkem je významně pomalejší vzestup tohoto skóre u skupiny s nižší

koncentrací Ca v dialyzačním roztoku. Ve skupině s použitím Ca 1,25 mmol/l v dialyzačním roztoku nebylo pro nežádoucí účinky nutné ukončení takto vedené léčby u žádného pacienta. Na druhou stranu, ve skupině s Ca 1,75 mmol/l byla u 7 % pacientů upravena léčba z důvodu hyperkalcémie. I v této studii se tedy jeví použití dialyzačního roztoku s koncentrací Ca 1,25 mmol/l jako jednoznačně lepší ve srovnání s koncentrací 1,75 mmol/l (pro pacienty s PTH do 300 pg/ml). A to jak z pohledu cévních kalcifikací i kostní histomorfometrie, navíc byla nižší koncentrace dobře tolerována.

Vliv mimotělních eliminačních metod na hladiny parathormonu

Za akutní změny PTH při hemodialýzách odpovídá akutní změna koncentrace ionizovaného kalcia. A to ať již je vyjádřena jako aktuální či korigovaná na pH. Koncentrace iPTH stoupá při poklesu ionizovaného kalcia a naopak. (Rudnický 1993, Panichi 1996, Peris 2007, Bellazzi 1991) Pokud nejsou signifikantní změny koncentrace ionizovaného kalcia, nedochází ani ke změnám PTH (Bellazzi 1991). Míra poklesu koncentrace PTH při HD je proporcionální s velikostí změny koncentrace ionizovaného kalcia (Saha 1992).

Vliv aktuální kalcémie je pro změnu PTH při proceduře zásadní a není výrazně ovlivněn volbou metody – platí pro hemodialýzu, hemodiafiltraci i hemofiltraci (Bellazzi 1991, Panichi 1996, Bouillon 1975, Peris 2007). Zásadním způsobem neovlivňuje změny PTH při dialýze ani vzestup pH či pokles fosfatémie během procedury. (Rudnický 1993)

Změna koncentrace PTH při dialýze odpovídá vápníkové bilanci za danou proceduru. Tak např. Yokoyama (2002), při užití roztoku s 1,395 mmol/l Ca naměřil vyrovnanou bilanci vápníku. Hodnoty iPTH se při takto vedené dialýze neměnily (181 vs. 184 pg/ml). Při koncentraci 1 mmol/l naměřil negativní vápníkovou bilanci a v souladu s tím i vzestup hladiny iPTH během HD. Při hemodialýze tedy dochází k akutnímu poklesu PTH při používání kalcia v dialyzačním roztoku o koncentraci 1,5 mmol/l (Saha 1992), 1,75 mmol/l a vyšší (Bouillon 1975, Bellazzi 1991, Melan 1993). Při použití koncentrace kalcia 1,25 mmol/l dle některých autorů k signifikantní změně PTH při HD proceduře nedochází (Bellazzi 1991).

Vliv funkce příštítných tělísek na změny iPTH při proceduře

U pacientů s nedostatečně korigovanou hyperparathyreózou je fyziologická reakce příštítných tělísek na změnu kalcémie potlačena. Panichi (1996) naměřil výrazně větší pokles iPTH při vzestupu kalcémie při hemodiafiltraci ve skupině s iPTH průměrně 124 ± 111 pg/ml ve srovnání se skupinou s iPTH 1015 ± 382 pg/ml. Melan (1993) rozdělil pacienty do 4 skupin dle predialyzační hodnoty PTH a sledoval supresibilitu sekrece PTH při HD s dialyzačním roztokem o koncentraci kalcia 1,75 mmol/l. K výraznému poklesu iPTH došlo ve skupinách s průměrnou predialyzační koncentrací iPTH 36, 157 i 452 pg/ml. Nejmenší pokles byl zaznamenán ve skupině s nejvyšší průměrnou koncentrací iPTH – 906 pg/ml. Při vysokých koncentracích kalcia v dialyzačním roztoku (1,75 – 2 mmol/l) dochází k signifikantnímu poklesu PTH hladin u pacientů s i bez výrazné hyperparathyreózy (Bellazzi 1991). Terapie kalcitriolem ani alfakalcidolem nemění míru poklesu PTH danou změnou koncentrací ionizovaného kalcia při HD (Saha 1992).

Vliv dialyzačních roztoků s vyšší koncentrací vápníku na známky zánětu a celkovou mortalitu

Výsledky observačních studií (Young 2005, Hsu 2010) i experimentálních modelů (Bussiere 2002) naznačují neblahý vliv zvýšených koncentrací vápníku na zvýšení známek zánětu a v případě dialyzovaných pacientů i zvyšování mortality. Příčinná souvislost ale prokázána nebyla. V případě cílené prospektivní studie, která si kladla za cíl odpovědět na otázku vlivu používání různých koncentrací kalcia na mortalitu, byla dvouletá mortalita nejvyšší ve skupině s nejvyšší koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku (1,75 mmol/l). Bohužel nešlo o studii randomizovanou, ale do skupiny s dialyzačním roztokem o koncentraci 1,75 mmol/l byli cíleně zařazeni pacienti, kteří byli během dialýz hemodynamicky nestabilní, a tato nestabilita nebyla ovlivnitelná jinou terapií. (Hsu 2010)

Cílová bilance vápníku

Pro klinickou praxi je zcela zásadní otázka cílové bilance vápníku, způsoby jejího určení u konkrétního pacienta a možnosti jejího dosažení. Přesné určení bilance vápníku u konkrétního dialyzovaného pacienta je krajně obtížné i za experimentálních podmínek a zcela nemožné u křesla pacienta na dialyzačním středisku. V běžném provozu není přesně kvantifikovatelný perorální příjem vápníku, vstřebaný podíl ani přesuny kalcia

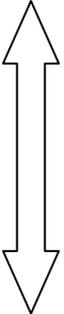
v jednotlivých kompartmentech. Běžně používané laboratorní parametry – sérové Ca, P, PTH, ALP nevypovídají dostatečně o stavu kosti ani potřebě či přebytku vápníku v organismu.

Celková bilance vápníku je u anurických dialyzovaných pacientů zjednodušeně vyjádřitelná rovnicí: *celková bilance vápníku = absorpce vápníku ze střeva – odstranění vápníku při dialýze*. Pokud chceme u stabilních pacientů zachovat vyrovnanou vápníkovou bilanci, tak z předchozí rovnice vyplývá: *absorpce vápníku ze střeva = odstranění vápníku při dialýze*. Vyjdeme-li z předpokladu, že u naprosté většiny dialyzovaných pacientů je v mezidialyzačním období pozitivní bilance vápníku, bilance vápníku při HD by měla být negativní. (Gotch 2010)

Vyrovnané bilance vápníku je možné dosáhnout výraznou pozitivitou v mezidialyzačním období a následnou dialýzou s velmi nízkou koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku (např. léčba Ca obsahujícími vazači fosfátu, kalcitriolem a dialýza s Ca 1 mmol/l) nebo udržováním nižšího příjmu v mezidialyzačním období s přibližně vyrovnanou bilancí vápníku při dialýze (např. léčba sevelamerem, parikalcitolem, dialýza s Ca 1,25 či 1,5 mmol/l). Proti prvnímu způsobu vedení léčby s výraznými výkyvy v příjmu a výdeji vápníku hovoří pravděpodobnost neschopnosti rychlé mobilizace vápníku z cévní stěny při HD s nízkou koncentrací vápníku v roztoku – vápník je pravděpodobně mobilizován z kostní tkáně. A při výrazně pozitivní bilanci v mezidialyzačním období se vytváří podmínky pro ukládání vápníku do kosti. Tyto úvahy jsou zatím podpořeny pouze experimentálními daty, údaje z prospektivních klinických studií zatím chybí.

V případě stavu organismu, u kterého by měla být vápníková bilance nenulová (např. růst kostní hmoty, léčba osteoporózy), by tento stav měl být respektován stejně jako v normální populaci.

Tabulka 1 Orientační bilance vápníku při dialýze v závislosti na použité koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku

Ca v roztoku (mmol/l)		Bilance vápníku při hemodialýze	
	1	Negativní	-600 mg
	1,25		-200 mg
	1,4	Vyrovnaná	0
	1,5	Pozitivní	+ 200 mg
	1,75		+ 800 mg

Cílové sérové hladiny kalcia

Z velkých studií je snaha odvodit sérové koncentrace kalcia, které dávají pacientům nejlepší perspektivu z pohledu morbidity a mortality. Pro kalcium nejsou výsledky stejně přesvědčivé jako např. pro fosfor. Je ale shoda v tom, že příliš vysoké sérové koncentrace jsou jednoznačně rizikovým faktorem. Koncentrace, od které toto riziko stoupá, je však předmětem diskuzí a ve studiích se lze setkat s hodnotami od 2,38 mmol/l (Block 2004), přes 2,6 mmol/l (Wagner 2011), po 2,85 mmol/l (Young 2005). Co se týká nízkých sérových koncentrací kalcia, jejich souvislost s mortalitou je ještě méně objasněna a publikované výsledky nekonsistentní. Dle některých prací (Block 2004) je závislost kalcémie a mortality téměř lineární a s jejím poklesem riziko úmrtí klesá. V jiné velké studii bylo naopak pozorováno stoupající riziko úmrtí již při poklesu kalcémie pod 2,25 mmol/l (Miller 2010). Příčinou různorodosti výsledků je pravděpodobně snaha interpretovat izolovaně pouze kalcémii vytrženou z komplexnosti onemocnění CKD-MBD. Tak např. nízká kalcémie v kombinaci s nízkou fosfatémií není nepříznivým faktorem, ale současná přítomnost nízké kalcémie s hyperfosfatémií riziko úmrtí zvyšuje. Obdobná závislost byla popsána i pro vztah kalcémie a sérového iPTH. (Miller 2010).

Zatím nejsou dostatečné údaje, které by pomáhaly určit cílové koncentrace kalcia u specifických skupin pacientů, např. užívajících kalcimimetika. Skupina expertů

vytvářejících KDIGO 2009 doporučení uzavírá analýzu studií doporučením udržovat sérové hladiny kalcia u pacientů CKD 5D v normálním rozmezí.

2.5 Hořčík v dialyzačním roztoku

Hořčík je jedním ze základních intracelulárních kationtů. Ze znalosti jeho fyziologických a patofyziologických účinků vyplývá důležitost jeho koncentrace v dialyzačním roztoku. Klinickou významnost v nedávné době potvrdila analýza dat z registrů. Při ní se ukázalo, že hypomagnezémie je významným prediktorem jak kardiovaskulární, tak celkové mortality hemodialyzovaných pacientů (Sakaguchi et al 2013). Hořčík ovlivňuje tvorbu i sekreci PTH, kardiální stabilitu a četnost hypotenzních epizod během HD, výskyt křečí, bolesti hlavy, svědění a tím výrazně i kvalitu života hemodialyzovaných pacientů. Hořčík je zároveň součástí některých fosfátových vazačů.

2.6 Použití dialyzačních roztoků s kyselinou citronovou

Tzv. A-koncentrát pro přípravu dialyzačního roztoku je z důvodu minimalizace srážecí reakce mezi bikarbonátem a chloridem vápenatým okyselován nízkou koncentrací kyseliny. Od 80. let do současnosti je standardně používána kyselina octová (cca 3-5 mmol/l). Pro omezení srážení reakce je zapotřebí snížit pH výsledného roztoku pod 7,3. Za tímto účelem lze teoreticky použít kterékoli druhy kyselin, které nebudou jiným způsobem reagovat se složkami dialyzačního roztoku a nebudou mít nežádoucí vliv na metabolismus dialyzovaných pacientů. Při vývoji suché směsi pro přípravu dialyzačního roztoku byla jako kyselá složka navržena kyselina citronová (Ahmad 2000). A-koncentrát s touto kyselinou byl pod obchodním názvem Citrasate k dispozici pro klinické použití nejdříve ve Spojených státech amerických (Advanced Renal Technologies, Kirkland, USA) a od roku 2009 po získání CE certifikátu je možné jeho používání i v České republice (Medites s.r.o., Rožnov pod Radhoštěm). Roztok obsahuje 0,3 mmol/l acetátu a 0,8 mmol/l citrátu. V jiných zemích jsou používány i roztoky s nulovou koncentrací acetátu a 1 mmol/l citrátu (Schmitz 2016). To znamená, že celková vazebná kapacita kyselých složek byla zachována, ale větší část či všechna kyselina octová byla nahrazena kyselinou citronovou. Změna acidifikující složky může mít významný vliv na děje ovlivňující pH, metabolismus vápníku a může mít i některé specifické účinky.

Výsledky klinického použití

Technicky bezproblémové použití Citrasate na různých hemodialyzačních přístrojích používaných v České republice (přístroje firem Fresenius, Gambro, B. Braun a Nikkiso) a jeho základní bezpečnost byla ukázána v práci Lopota (2009). Funkční je regulace koncentrace Na^+ a HCO_3^- v celém rozsahu. Při míchání dialyzačního roztoku bez jakýchkoli alarmů vodivosti. Při stejném nastavení byla při použití Citrasate naměřena tendence k vyšším koncentracím bikarbonátového aniontu a výrazně nižší koncentrace ionizovaného vápníku (o 0,35-0,55 mmol/l).

Důležitý je osud citrátu. Jde o malou molekulu, která může po koncentračním gradientu procházet membránou dialyzátoru. Při hemodialýze je nálož citrátu malá. Výrazně větší je při pre- i post-diluční HDF. Např. při prediluční HDF s Citrasate plazmatické koncentrace citrátu pozvolna během procedury stoupají a na jejím konci jsou cca 0,25 - 0,3 mmol/l (Richtrová 2017). Citrát je relativně rychle metabolizován za produkce bikarbonátu s biologickým poločasem cca 1h. Pokud toto srovnáme s dávkami citrátu dodaného do krve při regionální citrátové antikoagulaci, tak při použití dialyzačního roztoku s koncentrací citrátu 0,8 – 1 mmol/l jsou naměřené koncentrace citrátu v plazmě a celková dodaná dávka do organismu nízká a nehrozí kumulace citrátu. Celková do organismu dodaná dávka citrátu byla např. při prediluční HDF přibližně 20 mmol za celou proceduru (Richtrová 2017). Navíc bylo ukázáno, že regionální citrátová antikoagulace je vhodná pro většinu pacientů, dokonce je dobře tolerována i pacienty s mírným i těžším jaterním poškozením (Slowinski 2015).

Z pohledu klinického použití byla na nežádoucí účinky zaměřena recentní studie německých autorů (Schmitz 2016). Roztoky s anebo bez citrátu sodného (1 mmol/l) byly používány po dobu jednoho měsíce (cross-over uspořádání). Byla zjištěna celkově dobrá tolerance obou roztoků, a to jak při HD, pre- i post-diluční HDF. Četnější výskyt méně závažných intradialyzačních nežádoucích účinků byl zjištěn při použití citrátového roztoku. Křeče a hypotenze tvořily dvě třetiny těchto příhod při použití citrátu. Zajímavým zjištěním byl pokles četnosti výskytu těchto nežádoucích účinků po dvou týdnech pravidelného používání citrátového roztoku. Z toho je usuzováno na adaptaci pacientů, která se během tohoto období rozvine.

Citrátový roztok a vápník

Při změně z acetátu na kyselinu citronovou o stejné koncentraci kalcia dochází k poklesu poddialyzační koncentrace ionizovaného kalcia, a to pro koncentrace Ca v dialyzačním roztoku 1,25 i 1,5 mmol/l (Gabutti 2009). Během 4h trvajících HD je rozdíl v poklesu ionizovaného kalcia 0,08 mmol/l (-7 %). Autoři také srovnávali vliv typu acidifikace roztoku na poddialyzační kalcémii. Podobných změn kalcémie při HD bylo dosaženo, pokud byla koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku Citrasate o 0,25 mmol/l vyšší, nežli v tradičním dialyzačním roztoku s acetátem. (Gabutti 2009, Schmitz 2016)

Při použití dialyzačních roztoků s koncentrací kalcia 1,75 mmol/l naměřil Lopot (2009) o 40% menší vzestup celkové koncentrace kalcia během HD procedury v případě Citrasatu. Při používání nižších koncentrací vápníku - Citrasate s koncentrací kalcia 1,25 mmol/l byly laboratorně zjišťovány asymptomatické hypokalcémie (Gabutti 2009). Nižší intradialyzační koncentraci vápníku v krvi potvrzují i recentní randomizované zaslepené studie (Leung 2016).

Používání Citrasate neovlivňuje predialyzační hodnoty ionizovaného kalcia. A to jak při krátkodobém (Gabutti 2009, Lopot 2009), měsíčním (Schmitz 2016) tak šestiměsíčním používání (Kossmann 2009).

Vliv na další ionty, zejména magnézium, zatím detailně zkoumán nebyl.

Výše popisované změny jsou dávány do souvislosti s výskytem křečí během dialyzační procedury. A jsou častější při používání nižších koncentrací vápníku. Recentní randomizovaná studie zaměřená na nežádoucí účinky použití roztoku s kyselinou citronovou (1 mmol/l) zcela bez citrátu ukazuje častější výskyt křečí při použití tohoto roztoku (Schmitz 2016). Je to dáváno do souvislosti s poklesem plazmatické koncentrace ionizovaného vápníku během procedury při použití kyseliny citronové. Souvisejícím nálezem při srovnání obou dialyzačních roztoků je pokles hořčíku a vzestup parathormonu během procedury.

Vliv použití roztoků s kyselinou citronovou na acidobazickou rovnováhu

V souladu s tendencí k vyšším koncentracím bikarbonátu při míchání roztoku Citrasate (Lopot 2009) je naměření signifikantně vyšších predialyzačních koncentrací bikarbonátu. Ty byly naměřeny i při velmi krátkodobém používání (3 dialýzy) (Gabutti 2009).

Opačný výsledek – pokles predialyzační koncentrace bikarbonátu byl zjištěn při dlouhodobém používání Citrasate – pokles z $24,0 \pm 3,4$ na $22,5 \pm 3,2$ mmol/l ($p < 0,001$) (Kossmann 2009). Studium acidobazické rovnováhy nebylo cílem této studie a autoři se k signifikantní změně bikarbonátu ve své práci nevyjadřují. Práce ale na velkém souboru ukazuje, že ani dlouhodobé používání Citrasate nevede k alkalóze.

Studie zaměřená na nežádoucí účinky používání citrátového roztoku (Schmitz 2016) zjistila častější výskyt příliš vysoké koncentrace bikarbonátu (nad 32 mmol/l) na konci procedury při používání bezcitrátového roztoku. Ve studii byly používány HD, pre- i post-diluční HDF. Je známo, že při účinné HDF proceduře s vyššími substitučními objemy stoupá koncentrace citrátu v krvi. Např. při prediluční HDF s Citrasate jsou plazmatické koncentrace citrátu na konci procedury cca 0,3 mmol/l (Richtrová 2017). Citrát je metabolizován za produkce bikarbonátu až po ukončení procedury a hypoteticky by mohlo dojít k vyrovnání postdialyzační koncentrace bikarbonátu.

Vliv použití roztoků s kyselinou citronovou na hemodynamické parametry

Gabutti (2009) v cross-over studii hodnotí vliv Citrasate na krevní tlak, symptomatickou hypotenzi a neinvazivně měřené další hemodynamické parametry s využitím monitoru Finometer (prstový monitor využívající analýzy pulzové křivky). Při použití Citrasate dochází k poklesu systolického i diastolického krevního tlaku. Pravděpodobnou příčinou je pokles systémové cévní rezistence. Ten je nezávislý na koncentraci použitého kalcia. Autoři použili koncentraci kalcia stejnou, jako u HD bez Citrasate a zvýšenou o 0,25mmol/l. U pacientů s intradialyzační hypertenzí byl pokles krevního tlaku při použití Citrasate výraznější.

Gabutti zároveň v jednoduše zaslepené studii popisuje trend k lepší subjektivně vnímané toleranci hemodialyzační procedury s Citrasate (16 % pacientů uvádí zlepšení tolerance, 80 % beze změny, 4 % zhoršení). Nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky či příhody.

Vliv použití roztoků s kyselinou citronovou na účinnost hemodialyzační procedury

Autoři se shodují na tom, že převod na Citrasate zvyšuje účinnost hemodialyzační procedury. Lopot naměřil zvýšení Kt/V o 7 % (2009). Při měřeních na menším počtu

pacientů (25) a pouze jednorázovým používání dialyzátorů Gabutti pozoroval při použití Citrasate pouze statisticky nevýznamný trend ke zvýšení Kt/V a významně vyšší odstraněné množství fosforu (Gabutti 2009). Největší studií s cílem hodnocení změn Kt/V při užívání Citrasate provedl Kossmann a spol. (2009). 142 pacientů bylo převedeno na Citrasate na dobu 6 měsíců. Došlo k vzestupu eKt/V z $1,51 \pm 0,01$ na $1,57 \pm 0,01$ ($p < 0,0001$). V souladu s tím byl naměřen signifikantní pokles predialyzačních hodnot urey, kreatininu, fosfátu a beta2-mikroglobulinu. Zvýšení eKt/V při používání Citrasate bylo trvalé (1 rok). Zato u skupiny, která po šestiměsíčním používání Citrasate byla převedena zpět na původní dialyzační roztoky, došlo po převodu k poklesu účinnosti dialýzy. Pravděpodobnou příčinou vzestupu účinnosti HD je vliv citrátu na srážení na membráně dialyzátoru. Větší zvýšení Kt/V lze předpokládat u pacientů s nedostatečnou antikoagulací. Pokud je použití Citrasate spojeno s vysazením antikoagulace, tak je naměřitelné snížení účinnosti dialýzy (Richterová 2017).

Vliv použití roztoků s kyselinou citronovou na koagulaci

Jednou z možností hodnocení aktivace systémové koagulace je měření koncentrací komplexů trombin-antitrombin a protrombinových fragmentů 1+2. Při srovnání jejich koncentrací při používání Citrasate a acetátem acidifikovaného dialyzačního roztoku nebyly zjištěny při HD proceduře signifikantní rozdíly. (Gabutti 2009)

Naproti tomu Lopot (2009) ukázal vliv Citrasate na systémovou koagulaci pomalejším poklesem aktivovaného srážecího času k normálním hodnotám po podání heparinu (kvantifikováno výpočtem eliminační konstanty K_e).

Příznivý vliv kyseliny citronové na snížení koagulace vedl k myšlence možnosti snížit nebo úplně vysadit antikoagulaci k hemodialyzační proceduře. Řada prací ukazuje na možnost úspěšného dokončení hemodialyzačních procedur za těchto podmínek z krátkodobého pohledu. Pokud je antikoagulace vysazena úplně, obvykle to ale vede k vyššímu srážení v dialyzátoru a ke snížení účinnosti dialýzy i ke snížení biokompatibility. Tak je to i v případě prediluční HDF (Richtrová 2017) i postdiluční HDF (Dolley-Hitze 2016). V případě postdiluční HDF vede již menší snížení antikoagulace během delšího časového období k vyššímu výskytu klinicky významného srážení krve v mimotělním oběhu (Dolley-Hitze 2016). Některé menší recentní studie neukázaly příznivý vliv citrátu vůbec (Leung 2016).

Citrasate lze tedy s výhodou použít při krátkodobé potřebě omezení či vysazení antikoagulace. Z pohledu dlouhodobé léčby je ale zachování antikoagulace a kontrola její efektivity žádoucí.

Pokud se potřebujeme vyhnout systémové antikoagulaci, tak dalším logickým krokem je kombinace dvou metod ke snížení koagulace v dialyzátoru, které jsou jako samostatné nedostatečně účinné – použití heparinizovaných membrán společně s roztokem s přídatkem citrátu. Recentní randomizovaná studie s crossover uspořádáním (Meijers 2017) srovnávala tuto kombinaci s druhou možností antikoagulace mimotělního oběhu bez systémového ovlivnění koagulace – regionální citrátovou antikoagulací. Z pohledu základní proveditelnosti a dokončitelnosti dialyzační procedury bez nutnosti výměny mimotělního oběhu byly obě metody srovnatelně účinné.

2.7 Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D

Vitamin D může být produkován endogenně v kůži, kde s pomocí ultrafialového záření dochází ke konverzi 7-dehydrocholesterolu na cholekalciferol, tzv. vitamin D₃. Druhou možností je jeho příjem potravou, obvykle ve formě ergokalciferolu, tzv. vitamínu D₂. Oba vitaminy musí být ke své aktivaci podstoupit dvě hydroxylace. První hydroxylace probíhá v játrech. Jejím produktem je 25-hydroxyvitamin D (kalcidiol, 25-D). Jeho sérové koncentrace dobře odráží jeho zásoby v organismu. Obecně sérové koncentrace 25-D nad 75 nmol/l indikují dostatečné zásoby vitamínu D. I koncentrace nad 50 nmol/l jsou mnohými autory považovány za dostatečné. Kalcidiol je dále konvertován 1 α -hydroxylázou na kalcitriol – dihydroxylovanou aktivní formu vitamínu D (1,25-D). Tento enzym je přítomen v řadě tkání a orgánů a je zodpovědný za lokální produkci kalcitriolu. Za sérové koncentrace kalcitriolu je ale zodpovědná z velké části renální 1 α -hydroxyláza. Ať již je kalcitriol produkován lokálně nebo v ledvinách, v organismu plní různorodé funkce (Holick 2007).

U pacientů s chronickým onemocněním ledvin a zejména u dialyzovaných pacientů bývají hladiny kalcitriolu nízké. Toto je tradičně vysvětlováno nízkou, či dokonce chybějící hydroxylací v ledvinách. Výsledkem je sekundární hyperparathyreóza (Slatopolsky 1999, Cunningham 2011).

U většiny pacientů s chronickým onemocněním ledvin je nízká také hladina vitamínu D. Tyto nízké hladiny souvisí se zhoršenou sekundární hyperparathyreózou (Jean et al. 2010), zhoršením funkcí kardiovaskulárního aparátu (London et al. 2007) a řadou dalších nepříznivých důsledků (Icardi et al. 2012, Szeto et al. 2009, Stubbs et al. 2010) včetně zhoršení prognózy těchto pacientů (Anand et al. 2013, Drechsler et al. 2011, Pilz et al. 2011). Za příčinu velmi nízkých sérových koncentrací 25-D je označována kombinace řady faktorů: nízká expozice slunečnímu záření, porušená konverze vitamínu D z prekurzorů, nízký příjem vitamínu D potravou, ztráty vitamín D-binding proteinu při proteinurii a akcelerovaný katabolismus vitamínu D (González et al. 2004, Armas et al. 2012, Tokmak et al. 2008, Jones 2010, Michaud et al. 2010).

Tradičně nízké sérové hladiny 25-D a suplementace vitamínem D byla u pacientů s chronickým onemocněním ledvin zanedbávána. K léčbě sekundární hyperparathyreózy byly nefrology používány kalcitriol nebo jiné aktivátory receptoru pro vitamín D. Toto se mění v posledních letech ruku v ruce s postupným poznáváním významu mimo renální 1α -hydroxylace. Ta je totiž přímo závislá na dostatku substrátu – 25-D (Jones 2010, Taskapan et al. 2006, Cunningham a Zehnder 2011, Cunningham 2009, Kandula et al. 2011). Nedostatek vitamínu D a jeho substituce je nyní velmi diskutovaným a zatím nedořešeným tématem (Melamed et al. 2012, Nigwekar et al. 2012, Patel et al. 2009, Moorthi et al. 2011).

K dispozici jsou dva základní léčebné přístupy: suplementace vitamínu D, která poskytuje substrát pro hydroxylaci a podávání aktivních aktivátorů receptoru pro vitamín D, obvykle s cílem potlačit produkci parathormonu. Tyto dva přístupy je možné kombinovat. Tato duální léčba je možná pro pacienty přínosná (Jones 2010), ale údajů o tomto způsobu léčby je zatím málo (Vondráček a Hoody 2011).

Cílem naší práce bylo ohodnotit vliv nízkých substitučních dávek u hemodialyzovaných pacientů. A to jak v monoterapii, tak v kombinační léčbě s přímými VDR aktivátory u pacientů se sekundární hyperparathyreózou.

2.8 Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů

Denosumab je monoklonální protilátka, která představuje novou možnost v léčbě osteoporózy schválenou FDA v roce 2010 (Cummings et al. 2009). Váže se na RANKL –

receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand. Tím napodobuje osteoprotegerin. Navázáním na RANKL denosumab snižuje signál, který stimuluje osteoklasty. A to jak jejich tvorbu, vyžívání, funkci i přežívání. Inhibice RANKL nemá vliv na funkci osteoblastů.

Na rozdíl od většiny ostatních antiosteoporotických léků není denosumab kontraindikován při chronickém onemocnění ledvin. Není ledvinami ani metabolizován. Při pokročilém chronickém onemocnění ledvin a při poškození funkce ledvin se nemění farmakokinetické parametry a není tedy zapotřebí úprava dávkování. Podávání vápníku a suplementace vitamínem D je jednoznačně doporučována (Block et al. 2012). Zatím však nejsou zkušenosti s dlouhodobou terapií, v publikovaných případech jednotlivých případů či nevelkých sérií pacientů byla léčba ukončena po první dávce pro hypokalcémii (McCormick et al. 2012, Torregrosa 2013, Ivanov a Khedr 2013, Ungprasert et al. 2013, Talreja 2012, Agarwal et al. 2013).

2.9 Vliv hemodialyzační procedury na koncentrace thyroideálních hormonů

Hemodiafiltrace s využitím on-line připravovaného sterilního apyrogenního substitučního roztoku se stává stále více používanou variantou extrakorporální náhrady funkce ledvin. HDF při odstraňování retinovaných látek využívá kombinace difuze a konvektivního transportu. To je umožněno velkou permeabilitou použité membrány. (Tattersall et al. 2013) High-flux membrány používané pro HDF jsou charakterizovány velkým ultrafiltračním koeficientem a vysokou permeabilitou pro beta-2-mikroglobulin (reprezentant tzv. uremických toxinů o střední velikosti, Mr 11,8 kDa), která umožňuje dosažení jeho clearance alespoň 20 ml/min (Drueke 2009, KDOQI Hemodialysis adequacy guidelines 2006). Spektrum odstraňovaných molekul je tedy při HD a HDF odlišné. Podle posledních velkých prospektivních kontrolovaných studií rozhodně HDF není horší metodou ve srovnání s HD (Nistor et al. 2014, Ohtake et al. 2012). Spíše naopak. A recentní data ukazují i na mortalitní benefit pacientů léčených HDF (Maduell et al. 2013). Stále ale máme velmi málo údajů o tom, zda HD a HDF se odlišují ve svém účinku na změny koncentrací jednotlivých hormonů a dalších regulačních látek.

Abnormality při laboratorním vyšetření funkce štítné žlázy jsou přitom u hemodialyzovaných pacientů velmi časté (Lim 2001, Horáček et al 2012, Meuwese et al. 2012). Na klinický význam těchto nálezů ukazuje zvýšená mortalita pacientů se sníženou

hladinou T3 i TSH (Horáček et al 2012, Meuwese et al. 2012). Recentní data naznačují i možnost, že by tyto hormonální abnormality mohly být i potencionálním terapeuticky ovlivnitelným cílem (Rhee et al 2013).

Literární údaje o vlivu hemodialyzační modalita na hormony štítné žlázy jsou velmi sporé (Weissle et al. 1986, Sakurain et al. 1988, Goffin et al. 1993, Shamsadini et al. 2006, Alsarani et al. 2011). Většina měření přitom byla provedena i před několika desetiletími, kdy byla dialyzační technika velmi odlišná od současné (nekompatibilita dialyzačních membrán, nízká kvalita vody, nízká intenzita eliminace). V těchto studiích byl několikrát pozorován vzestup poměru FT3/FT4 beze změny TSH. Vzestup volných frakcí hormonů štítné žlázy byl často připisován heparinu a způsoben kompeticí o vazebná místa s volnými mastnými kyselinami, které stoupaly po podání heparinu (Goffin et al. 1993, Alsarani et al. 2011). Vliv technických aspektů byl také znám (Weissle et al. 1986). Dosud nebyla publikována žádná práce, která by se zabývala tímto tématem s použitím současných strategií mimotělní eliminace, zejména on-line HDF.

2.10 Kardiovaskulární bezpečnost procedury, hydratace

Při dlouhodobé hemodialyzační léčbě intermitentně nahrazujeme některé funkce ledvin. Během 4 – 5 h dlouhé HD procedury se snažíme nahradit chybějící funkci ledvin za období 48-72h. Z toho vyplývá, že změny, ke kterým při HD dochází, musí být velmi rychlé. Navíc jde o změny velmi komplexní. Dochází samozřejmě k výrazným změnám intravaskulárního objemu i koncentrací odstraňovaných klasických retenčních solutů (urea, kreatinin...) a s tím souvisejícím změnám osmolarity. Odstraňují se ale i mnohé další látky, které ovlivňují vaskulární systém (např. asymetrický dimethylarginin). V závislosti na koncentračním gradientu dochází i k přesunům základních iontů, které mohou ovlivňovat kardiovaskulární toleranci procedury – sodíku, vápníku, hořčíku. Podstatným způsobem může být tolerance procedury ovlivněna i tepelnou bilancí při vlastní proceduře. Důsledkem těchto změn je například pokles prokrvení srdce při HD. Velikost poklesu prokrvení závisí na řadě faktorů, z nichž rychlost ultrafiltrace je zásadní. Ale již během 30 minut HD bez ultrafiltrace dochází k poklesu prokrvení srdečního svalů o cca 14 %, aniž by došlo k poklesu srdečního výdeje (Dasselaar 2009).

Pro hodnocení kardiovaskulární bezpečnosti lze používat řadu metod. V klinické rutinní praxi se používá častého měření krevního tlaku a pulzu před, během a po proceduře. Stabilita krevního tlaku a pulzu však není zárukou bezpečně probíhající procedury.

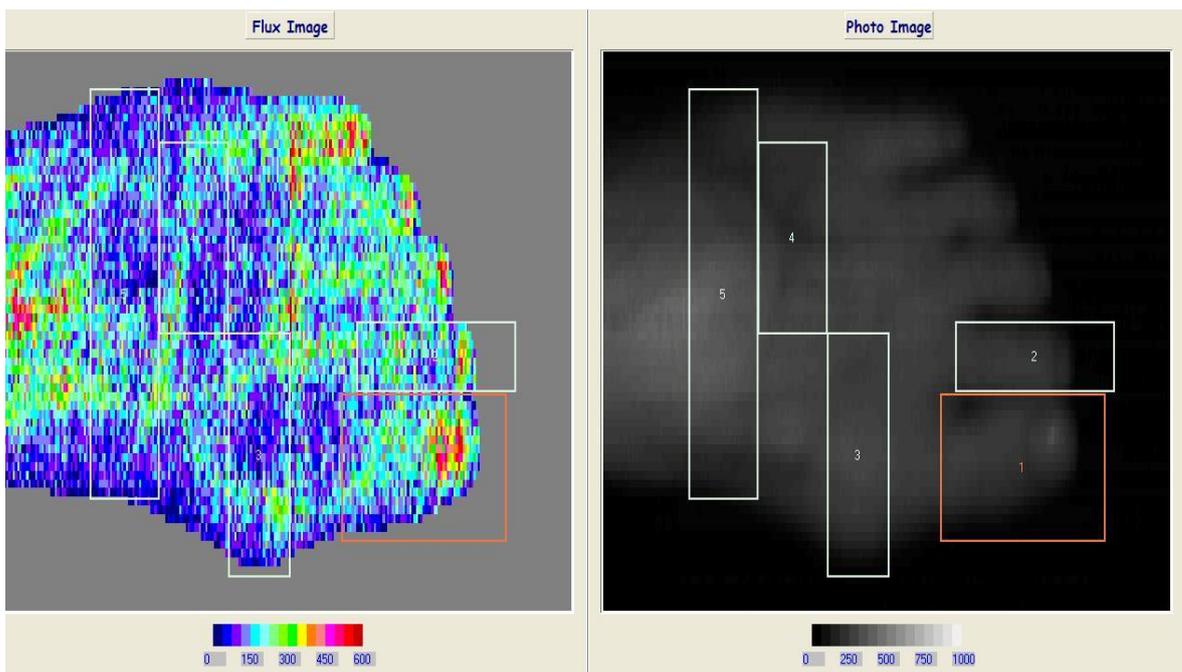
Jednou z dalších možností je hodnocení relativních změn objemu krve při HD proceduře. K tomu se využívá kontinuálního měření hematokritu v krvi nasávané do mimotělního oběhu.

Výzkumnou metodou k hodnocení vlivu procedury na periferní prokrvení je laser Doppler line scanner. Následující obrázky ukazují jak vlastní přístroj, tak možné grafické výstupy měření. (Obrázek 1 a Obrázek 2)

Obrázek 1 Laser Doppler Line Scanner



Obrázek 2 Grafický výstup z měření prokrvení pomocí Laser Doppler Line Scanneru



Z uvedeného vyplývá, že pro bezpečnost procedury je zcela zásadní správné posouzení hydratace pacienta a tedy stanovení optimální hmotnosti. Tedy hmotnosti, na kterou cílíme ultrafiltraci při dialyzační proceduře.

Hodnocení hydratace

Správné ohodnocení hydratace je pro pacienta zásadní. Vede jednak k dobré toleranci hemodialyzační procedury, tak delšímu přežívání pacientů. Hyperhydratace je považována za výrazný rizikový faktor mortality. Hemodialyzační centra, která se snaží o striktní udržování hydratace, obvykle reportují dlouhé přežívání svých pacientů.

Dnešní možnosti hodnocení hydratace pacienta jsou stručně shrnuty v našem přehledném článku Malé a spoluautorů (2016). I v dnešní době stále platí, že není jedna spolehlivá metoda, podle které by bylo možné správně stanovit optimální hydrataci pacienta. V klinické praxi je vždy nadále nutné vycházet z řady údajů a metod. Stanovení optimální hmotnosti je tedy výsledkem správného vyhodnocení údajů subjektivních, z fyzikálního vyšetření i výsledků přístrojových vyšetření. Používaná vyšetření se přitom liší mezi dialyzačními středisky. A to z důvodů dostupnosti, ceny, zkušenosti i absence doporučení, jak správně při stanovení optimální hmotnosti postupovat.

Referenční metody měření vody v organismu jsou založeny na diluci izotopů. Tyto metody jsou přesné, ale v klinické praxi pro složitost a nákladnost nepoužitelné. K měření celkové tělesné vody je používáno diluce deuteria. Ke zjišťování množství intracelulární vody je využíváno diluce draslíku a pro extracelulární vodu diluce bromidu. Pomocí těchto metod je sice možné změřit objemu vody v jednotlivých kompartmentech, výsledek ale nepřináší klinicky relevantní informace. V klinické praxi není zapotřebí znát absolutní množství vody, ale odchylku od optima. U zdravých jedinců je toto optimum kontinuálně posuzováno ledvinami. U pacientů se selháním ledvin je tato zodpovědnost přenesena na dialyzačního lékaře a určování optimální hmotnosti patří mezi základní úkoly nefrologa.

Jedním z důležitých aspektů hodnocení jak správnosti nastavení optimální hydratace, tak kardiovaskulární bezpečnosti procedury je hodnocení reakce na ultrafiltraci při HD. Toto

hodnocení má složku subjektivní tolerance HD, základní měření (TK, pulz) a jsou využívány i přístrojové metody.

Vždy je nutno hodnotit subjektivní vnímání procedury. Při nepřiměřeně rychlé nebo vysoké ultrafiltraci jsou časté slabosti, neschopnost soustředění, nauzea, křeče, motání a ospalost po HD. Při měření TK a pulzu můžeme naměřit intradialyzační hypotenzi, tachykardii, častější jsou tachyarytmie, ortostatická hypotenze. Nepřítomnost výše uvedených obtíží a známek je pouze hrubým ukazatelem a není potvrzením správně vedené léčby. Naopak přítomnost těchto známek by vždy měla vést k úpravě dialyzační léčby. Protože geneze těchto obtíží je komplexní, je vždy nutno brát v úvahu nejen výši a rychlost ultrafiltrace, ale také složení a teplotu dialyzačního roztoku, obsah minerálů v krvi pacienta, antihypertenzní léčbu atd.

Z přístrojových metod nám pro hodnocení kardiovaskulární bezpečnosti procedury i hydratace vypomáhá kontinuální měření hematokritu při HD. Je vyjádřitelné jako vzestup hematokritu, ale častěji je používáno vyjádření změny krevního objemu krve (deltaRBV) v procentech.

Vyjádřeno vzorcem: $\Delta RBV = 100 * (Hct_{t_0} - Hct_{t_x}) / Hct_{t_0}$

Technicky je používáno ve dvou modifikacích. Jako měření hematokritu pomocí ultrazvuku, a to v modulech BVM (Blood Volume Monitor) zabudovaných do dialyzačních monitorů Fresenius. Druhou možností je měření optickou metodou, kterou využívá přístroj Crit-line (On-line diagnostics, USA). Obě metody jsou dostatečně přesné a poskytují stejné výsledky.

Celková změna krevního objemu je dána rychlostí ultrafiltrace na jedné straně a doplňováním tekutiny zejména z intersticia a méně z intracelulárního prostoru na straně druhé (tzv. refill tekutiny do intravaskulárního prostoru). Rychlost refillu je určována také hydratací – při hyperhydrataci výrazně stoupá. Je ale ovlivňována i přítomností zánětu, stavem kardiovaskulárního aparátu, složením intersticiálního prostoru.

Klinické důsledky vztahu optimální hmotnosti, rychlosti ultrafiltrace a mezidialyzačního přírůstku

Z možností a postupů používaných při stanovování optimální hmotnosti je zřejmá jejich nedokonalost a z toho plynoucí nepřesnost ve stanovování optimální hmotnosti. Přesto bylo ukázáno, že udržování pacientů na optimální hmotnosti vede ke snížení jejich kardiovaskulární i celkové mortality (Chazot 2012, Ozkahya 2006, Flythe 2015). Neschopnost jejího dosahování při HD toto riziko naopak zvyšuje. Pokud se snažíme snížit výskyt intradialyzačních komplikací charakteru křečí, hypotenzí atd., je doporučováno limitovat rychlost ultrafiltrace. Zavedení limitu rychlosti ultrafiltrace vede ke snížení výskytu intradialyzačních hypotenzí (Pirkle 2017)

Zavedení limitu rychlosti ultrafiltrace ale vede zpětně k opakovanému nedosahování optimální hmotnosti na konci dialyzační procedury a mortalitu pacientů naopak zvyšuje. Např. ve Spojených státech amerických, kde ve srovnání s Českou republikou, jsou dialýzy kratší, limitace rychlosti ultrafiltrace i na poměrně vysoké rychlosti 13 ml/kg tělesné hmotnosti/h již vede k významné nadváze po HD (Flythe 2017). Mezi parametry, kterými se hodnotí kvalita dialyzační péče, jsou dnes řazeny i parametry jako rychlost ultrafiltrace a schopnost dosahovat optimální hmotnost (Flythe 2015, Weiner 2017). Tyto snahy vychází ze zjištění, která ukazují, že rychlost ultrafiltrace je rizikový faktor mortality. Ta jsou shrnuta v recentním přehledném článku (Assimon 2015).

Se stanovením a udržováním optimální hmotnosti a rychlostí ultrafiltrace úzce souvisí krevní tlak. Při striktním udržování normohydratace je možné dosáhnout normotenze i bez antihypertenzní léčby u většiny pacientů a snižuje to jejich kardiovaskulární mortalitu (Chazot 2012). Kardiovaskulární riziko je vyšší u pacientů s predialyzační hypo i hypertenzí i intradialyzační hypo i hypertenzí (Ozkahya 2006, Choi 2017, Stefansson 2014).

Dosahování optimální hmotnosti po HD při dodržení limitace rychlosti ultrafiltrace je možné buď snížením mezidialyzačních přírůstků nebo prodloužením délky procedury. Opakované edukace o velikosti mezidialyzačních přírůstků, omezení příjmu sodíku a vody jsou obvyklou součástí léčby. Doporučení je ale pro pacienty obtížné dlouhodobě dodržovat a jejich striktní dodržování je vnímáno některými pacienty jako těžko realizovatelné a snižující kvalitu života. Prodloužení dialýzy je také vnímáno pacienty velmi

negativně a prodloužení procedury může být jen těžko realizovatelné z organizačních důvodů – navazování dialyzačních směn, délka směn ošetřujícího personálu, organizace transportu apod. Prodloužení HD je ale jednoznačně krokem, který umožňuje provádět HD, které jsou lépe tolerovány stran kardiovaskulárního aparátu. Prodloužení HD o 1h vede např. i k nižšímu vzestupu periferního cévního odporu (Czyzewski 2017).

Řízení ultrafiltrace během procedury pomocí dialyzačního monitoru

Ke zvýšení pravděpodobnosti dosažení optimální hmotnosti za minimalizace nežádoucích intradialyzačních příhod jsou vyvíjeny algoritmy k řízení ultrafiltrace. Dnešní dialyzační monitory jsou k tomu vybaveny technickými možnostmi – kromě kontinuálního měření hematokritu jde o měření a řízení teploty krve/dialyzačního roztoku nebo vodivosti dialyzačního roztoku.

Na dialyzačních přístrojích firmy Fresenius je možné využití řízení ultrafiltrace dialyzačním monitorem v kombinaci s izotermickou dialýzou. Krátce řečeno, nejdříve dialyzační monitor během několika procedur monitoruje kontinuálně hematokrit a je pečlivě sledován výskyt klinických komplikací. Poté je vybrána tzv. kritická hodnota změny hematokritu, která by neměla být dosažena – z důvodu minimalizace nežádoucích účinků a ta je zadána do dialyzačního monitoru. Ten při následujících dialyzačních procedurách aktivně řídí aktuální rychlost ultrafiltrace k dosažení maximální ultrafiltrace při nepřekročení kritické změny hematokritu. To lze, ke zvýšení efektivity, kombinovat s tzv. izotermickou dialýzou, při které dialyzační monitor aktivně řídí teploty dialyzačního roztoku tak, aby tělesná teplota pacienta na konci HD byla stejná jako na jejím začátku. Obvykle je při tomto řízení dosahováno negativní energetické bilance.

Druhou možností je kombinace řízení ultrafiltrace kombinovaná s řízením vodivosti dialyzačního roztoku. Ta je dostupná na přístrojích Nikkiso. Při tomto způsobu přístroj reaguje na změnu hematokritu také změnou vodivosti dialyzačního roztoku. Celková bilance sodíku by ale neměla být tímto ovlivněna – je dána před dialýzou stanovenou koncentrací sodíku v dialyzačním roztoku.

Obě výše popsané a jiné obdobné metody poskytují ve studiích nejednoznačné výsledky. V menší studii, do které byli zařazeni pouze vstupně hyperhydratovaní pacienti, vedlo použití aktivní řízení ultrafiltrace s řízením teploty dialyzačního roztoku k dosažení optimální hmotnosti s menším výskytem nežádoucích příhod (Antlanger 2017). Oproti tomu ve velké šestiměsíční randomizované studii nevedlo použití intradialyzačního monitoringu pomocí Crit-line k pozitivnímu klinickému efektu (Reddan 2005).

Vliv vápníku a hořčíku na hemodynamickou stabilitu při dialyzační proceduře

Vápník je prvkem, který má zásadní úlohu v kontraktilitě, a to jak cévní stěny, tak srdeční svaloviny. Výrazné výkyvy jeho koncentrace při dialyzační proceduře mohou tyto procesy klinicky významným způsobem ovlivňovat. Při dialýze s nižší koncentrací vápníku dochází k většímu poklesu krevního tlaku i u osob s normální srdeční funkcí (van Kuijk 1997). Jev je vysvětlován poklesem kontraktility levokomorové svaloviny. U kardiálně kompromitovaných pacientů používání koncentrace vápníku 1,75 mmol/l vede k lepší hemodynamické toleranci procedury (van der Sande 1998, Locatelli 2004). Ve studii van der Sande docházelo při použití Ca v dialyzačním roztoku 1,25 mmol/l k výraznějšímu poklesu TK i přes to, že během procedury nedocházelo k poklesu iCa. V kontrolní skupině s 1,75 mmol/l v dialyzačním roztoku docházelo samozřejmě k odpovídajícímu vzestupu sérových koncentrací vápníku.

Lze spekulovat o tom, jestli u pacientů se závažným kardiálním postižením, špatnou hemodynamickou tolerancí procedury a omezeným přežitím, je koncentrace 1,75 mmol/l ta správná volba. Pro tuto skupinu pacientů může být zvýšení kardiální stability při dialýze výrazným přínosem zvyšujícím krátkodobé přežití. Riziko pozitivní vápníkové bilance s následným rozvojem kalcifikací v časově delším horizontu se stává problémem druhořadým.

Intradialyzační hypotenze vzniká obvykle z kombinace řady příčin a nejčastěji k ní dochází v druhé polovině procedury. Snížit výskyt hypotenzí bez navýšení vápníkové nálože si kladlo za cíl profilování vápníku během dialýzy. Dialýza první dvě hodiny probíhala oproti koncentraci vápníku 1,25 mmol/l, další dvě hodiny 1,75 mmol/l. Při takto vedené dialýze

pozorovali autoři snížený výskyt intradialyzačních hypotenzí bez zbytečně vysoké nálože vápníku. (Kyriazis 2002)

Tento přístup by ale limitoval používání nižší koncentrace vápníku v situacích, kdy je to z pohledu fosfo-kalciového metabolismu žádoucí, zejména u předpokládané adynamické kostní choroby. Studie Slatopoského (2007) ukazuje, že u neselektované skupiny hemodialyzovaných s předpokládanou adynamickou kostní chorobou ve věku 57 a 61 let nevedlo používání koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1,25 k vyššímu výskytu křečí a hypotenzí ve srovnání s koncentrací 1,75 mmol/l. Závažné nežádoucí účinky při použití koncentrace vápníku 1,25 nebyly zjištěny ani v jiných recentních studiích (např. Ok 2016).

Jinou, experimentálně ověřenou, možností ke zvýšení hemodynamické tolerance dialýzy, a to bez zvýšení pozitivní vápníkové bilance, je zvýšení koncentrace hořčíku v dialyzačním roztoku na 0,75 mmol/l (Kyriazis 2004).

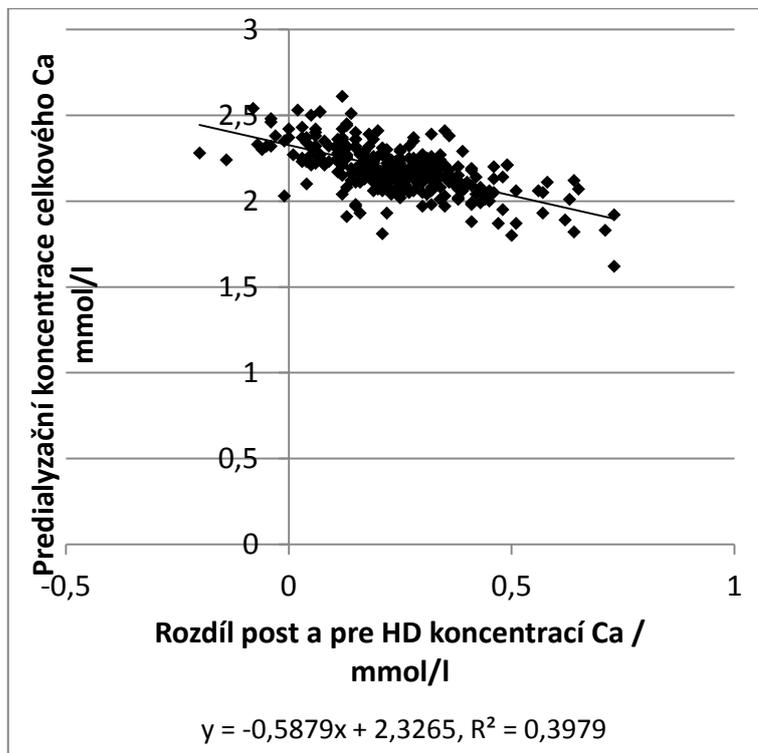
3. Dosažené výsledky

3.1 Vápník v dialyzačním roztoku; vliv přidaného citrátu

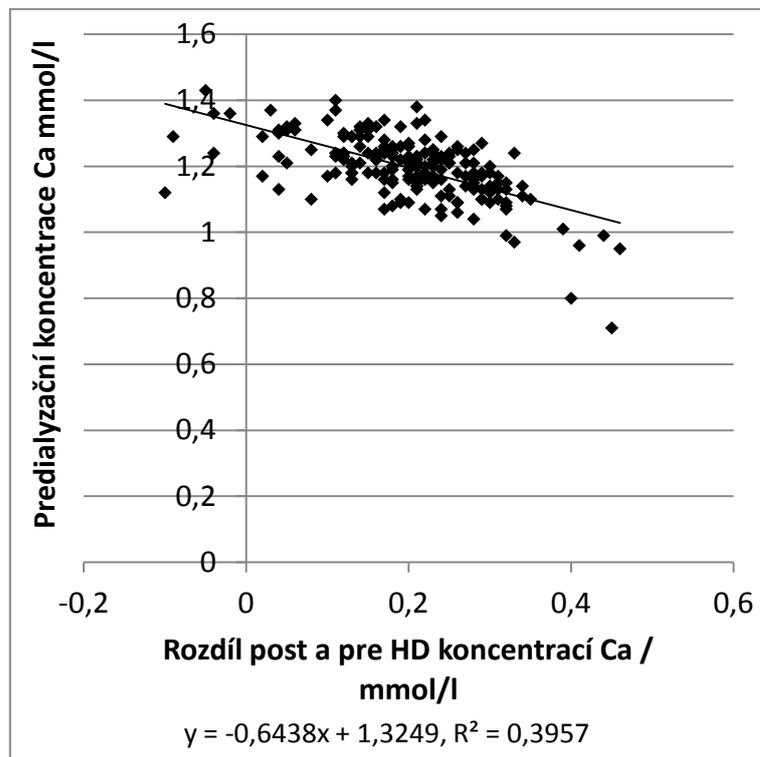
Následující data ukazují změny vápníku (celkového i ionizovaného), které byly měřeny při 605 HD procedurách u 115 chronicky dialyzovaných pacientů.

Nejdříve byly analyzovány procedury s koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku, která je v klinické praxi používána nejčastěji - 1,5 mmol/l. Dle očekávání došlo u většiny pacientů během HD ke vzestupu sérových koncentrací vápníku. Grafy ukazují, že při použití standardních roztoků bez přidaného citrátu stoupá sérová koncentrace vápníku při HD při predialyzační hladině sérového vápníku menší nežli 2,33 mmol/l pro celkový vápník a 1,33 mmol/l pro ionizovaný (Graf 1 a Graf 2). Při použití dialyzačního roztoku s přidaným citrátem jsou tyto koncentrace nižší – 2,19 mmol/l pro celkový (Graf 3) a 1,23 mmol/l pro ionizovaný vápník (Graf 4).

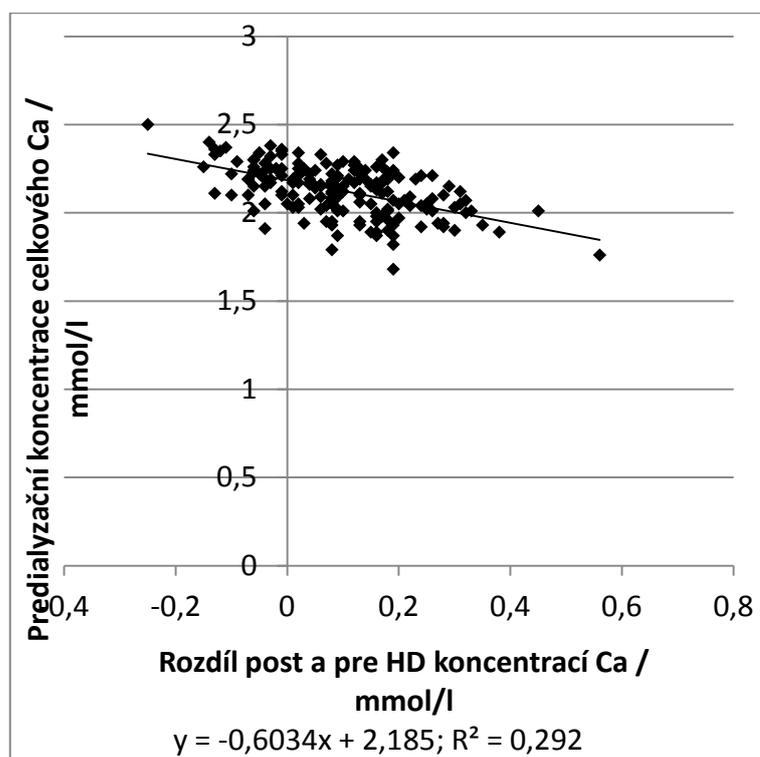
Graf 1 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací vápníku při HD s dialyzačním roztokem bez citrátu



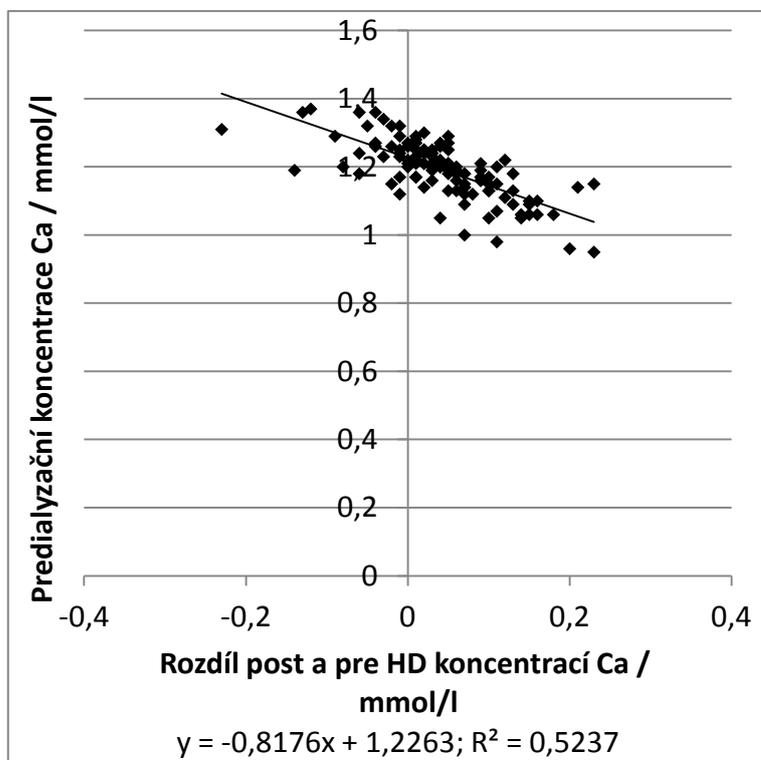
Graf 2 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací ionizovaného vápníku při HD s dialyzačním roztokem bez citrátu



Graf 3 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací vápníku při HD s dialyzačním roztokem s citrátem



Graf 4 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací ionizovaného vápníku při HD s dialyzačním roztokem s citrátem



Koncentrace vápníku i velikosti změn v číslech při HD s i bez přidaného citrátu shrnuje tabulka (Tabulka 2).

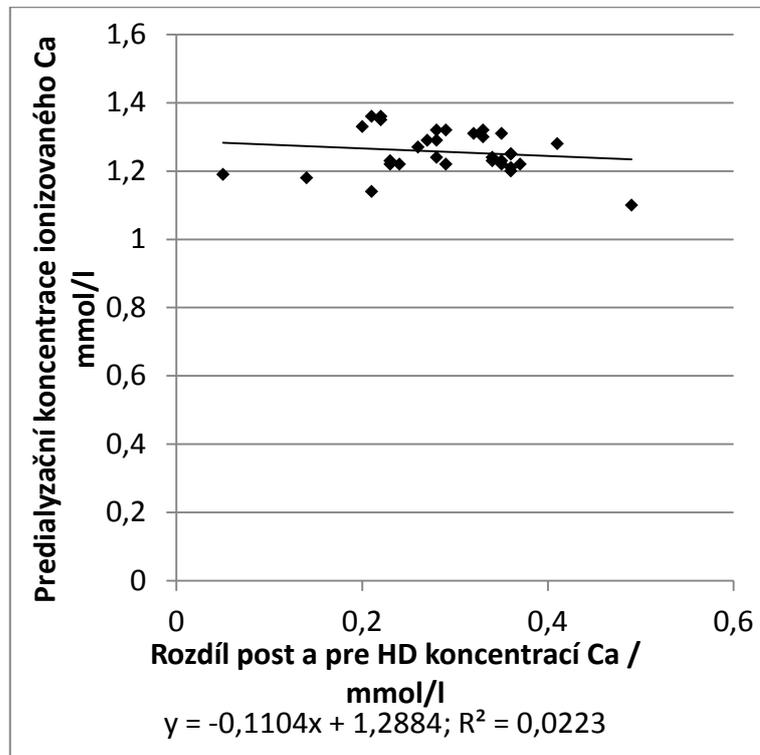
Tabulka 2 Sérové koncentrace vápníku a jejich změna při použití dialyzačního roztoku s 1,5 mmol/l vápníku

Sérové koncentrace vápníku	Typ použitého dialyzačního roztoku	
	Standardní	S přidaným citrátem
Ca celkové pre HD	2,19 (2,11; 2,27)	2,15 (2,04; 2,22)
Ca celkové post HD	2,43 (2,35; 2,5)	2,23 (2,14; 2,31)
změna celkového Ca	0,24 (0,15; 0,32)	0,09 (0,01; 0,18)
Ca _i pre HD	1,20 (1,14; 1,25)	1,19 (1,14; 1,25)
Ca _i post HD	1,40 (1,35; 1,45)	1,23 (1,2; 1,27)
změna koncentrace Ca _i	0,20 (0,15; 0,26)	0,05 (0,00; 0,09)

Všechny koncentrace uvedeny v mmol/l. Ca_i – koncentrace ionizovaného vápníku. Data uvedena jako medián (interkvartilové rozpětí).

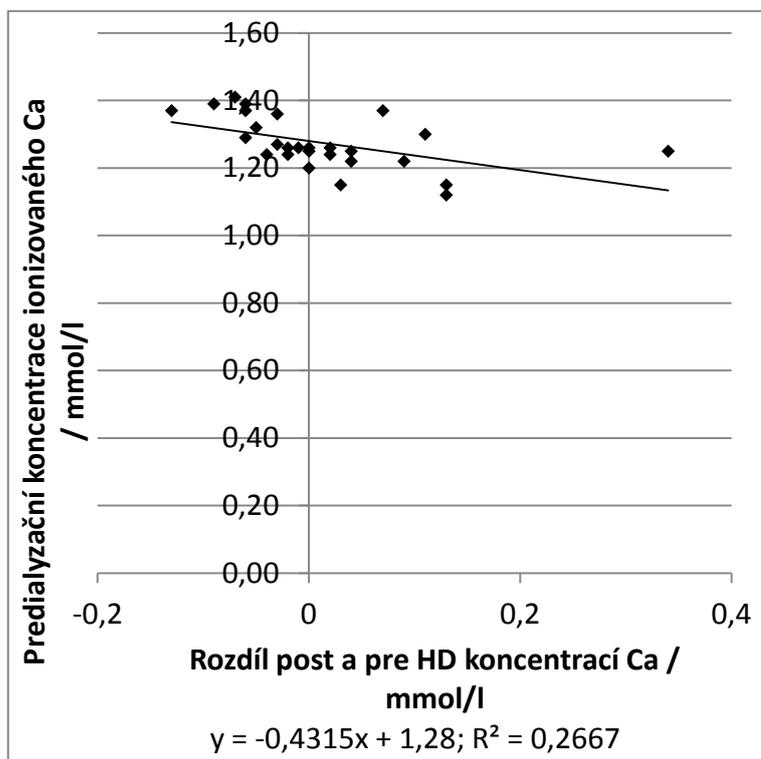
Při použití koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1,75 mmol/l dochází při HD proceduře ke vzestupu sérových koncentrací vápníku u všech pacientů, a to bez ohledu na typ použitého dialyzačního roztoku (Graf 5).

Graf 5 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací ionizovaného vápníku při HD s dialyzačním roztokem s 1,75 mmol/l vápníku



Při HD s roztoky s koncentrací vápníku 1,25 mmol/l ke změně sérové koncentrace téměř nedochází (Graf 6).

Graf 6 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací ionizovaného vápníku při HD s dialyzačním roztokem s 1,25 mmol/l vápníku



3.2 Vliv použití dialyzačního roztoku s obsahem kyseliny citronové na koncentrace hořčíku

Zjišťovali jsme, zda během procedury dochází ke změnám sérových koncentrací hořčíku ve vztahu k typu použitého dialyzačního roztoku.

Na rozdíl od volitelných koncentrací kalcia a kalia je koncentrace hořčíku ve většině běžně používaných typů dialyzačních roztoků shodná (0,5 mmol/l ionizovaného resp. difusibilního magnezia). Sledovali jsme, zda změny sérové koncentrace hořčíku budou u dialyzačního roztoku s obsahem citrátu (0,8 mmol/l, roztoky BIC) shodné s konvenčními roztoky (BIK). Obsah magnezia je v obou roztocích shodný a dosud této oblasti nebyla věnována žádná cílená pozornost.

Po ověření, že změny hořčíku v séru jsou shodné při hemodialýze a hemodiafiltraci při použití téhož typu roztoku jsme stanovili koncentraci h v séru před a po dialyzační proceduře u celkem 133 hemodialýz a 67 hemodiafiltrací. Koncentrace ionizovaného hořčíku byly měřeny pouze u části procedur. Výsledky viz

Tabulka 3.

Tabulka 3 Změny koncentrace hořčíku během procedury – srovnání roztoků s a bez citrátu sodného

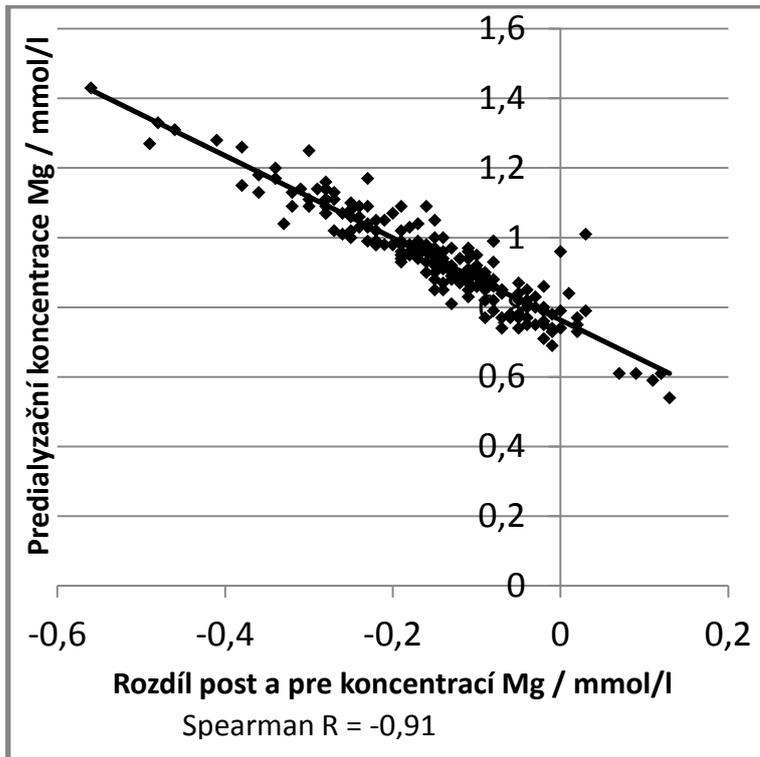
Dialyzační roztoky s kyselinou citrónovou (BIC)							
	Mg-pre	Mg-post	deltaMg	dMg/KtV	Mgl-pre	Mgl-post	deltaMgl
průměr	0,86	0,72	-0,15	-0,10	0,47	0,39	-0,09
SD	0,17	0,06	0,12	0,08	0,09	0,03	0,07
medián	0,85	0,71	-0,13	-0,09	0,45	0,38	-0,07
1kv	0,76	0,68	-0,20	-0,14	0,43	0,36	-0,10
3kv	0,95	0,75	-0,07	-0,05	0,49	0,40	-0,03
Dialyzační roztoky bez kyseliny citrónové (BIK)							
	Mg-pre	Mg-post	delta Mg	dMg/KtV	Mgl-pre	Mgl-post	delta Mgl
průměr	0,95	0,79	-0,16	-0,09	0,51	0,46	-0,05
SD	0,14	0,05	0,11	0,07	0,09	0,06	0,08
medián	0,93	0,78	-0,14	-0,09	0,52	0,45	-0,03
1kv	0,86	0,76	-0,23	-0,13	0,44	0,44	-0,11
3kv	1,03	0,82	-0,09	-0,06	0,58	0,48	0,00
statistická významnost mezi skupinami (hodnota p)							
	0,000497	4,66E-13	0,503293	0,771442	0,26	0,0003	0,24

Normální rozpětí pro sérové Mg 0,65 – 1,05 mmol/l, pro ionizované Mg 0,45 – 0,6 mmol/l. d (delta)Mg – rozdíl Mg-post a Mg-pre. Mgl – koncentrace ionizovaného hořčíku. Koncentrace uvedeny v mmol/l.

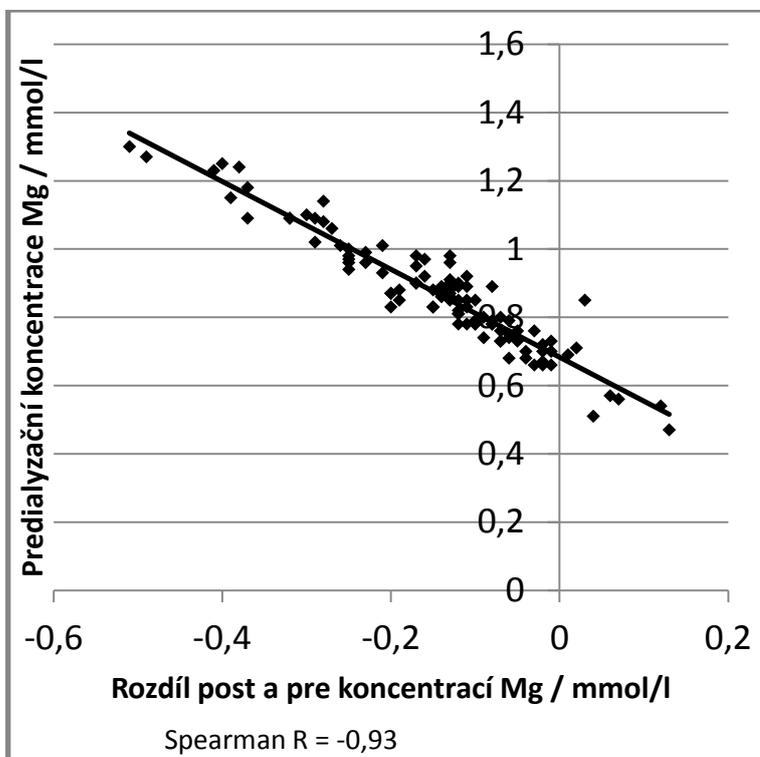
Zjistili jsme pokles sérových koncentrací celkového hořčíku u obou typů procedur (medián poklesu byl 0,13 mmol/l při BIK roztoku a 0,14 mmol/l při BIC roztoku, n. s. mezi skupinami). Vstupní koncentrace hořčíku byla u pacientů dialyzovaných dlouhodobě s roztokem BIC významně nižší (mediány hodnot 0,85 vs. 0,93 mmol/l, p 0,001) a velmi významně se lišily postdialyzační hodnoty (Tabulka 3). Hlavním zjištěním byla zcela rozdílná koncentrace magnezia po proceduře, současně však pacienti léčení dlouhodobě roztoky BIC měli statisticky významně nižší koncentraci magnezia v séru již před hemodialyzační procedurou.

Velmi zajímavé je srovnání obou dialyzačních roztoků stran změny při HD. Při použití roztoků bez citrátu docházelo během HD k poklesu sérových koncentrací hořčíku, pokud byla jeho predialyzační koncentrace nad 0,76 mmol/l (Graf 7). V případě dialyzačních roztoků s přídatkem citrátu je predialyzační koncentrace hořčíku, při které nedochází ke změně sérové koncentrace nižší - 0,68 mmol/l (Graf 8).

Graf 7 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací hořčíku při HD s dialyzačním roztokem bez citrátu



Graf 8 Rozdíl postdialyzačních a predialyzačních koncentrací hořčíku při HD s dialyzačním roztokem s citrátem



K vyloučení možného vlivu rozdílné dialyzační dávky jsme změnu sérové koncentrace magnezia vyjádřili jako změnu sérové koncentrace magnezia vztahenou k indexu Kt/V (výpočet $spKt/V$ standardizovaným způsobem podle Daugirdasovy rovnice druhé generace). Nezjistili jsme žádný vztah mezi změnou koncentrace magnezia v séru a dialyzační dávkou.

V dalším sledování jsme se proto zaměřili i na změny koncentrace parathormonu v séru při jednotlivých typech dialyzačních roztoků (BIC a BIK) při stejných koncentracích kalcia (1,5 mmol/l, kalcium difusibilní) i magnezia (0,5 mmol/l).

3.3 Sérové koncentrace fosforu

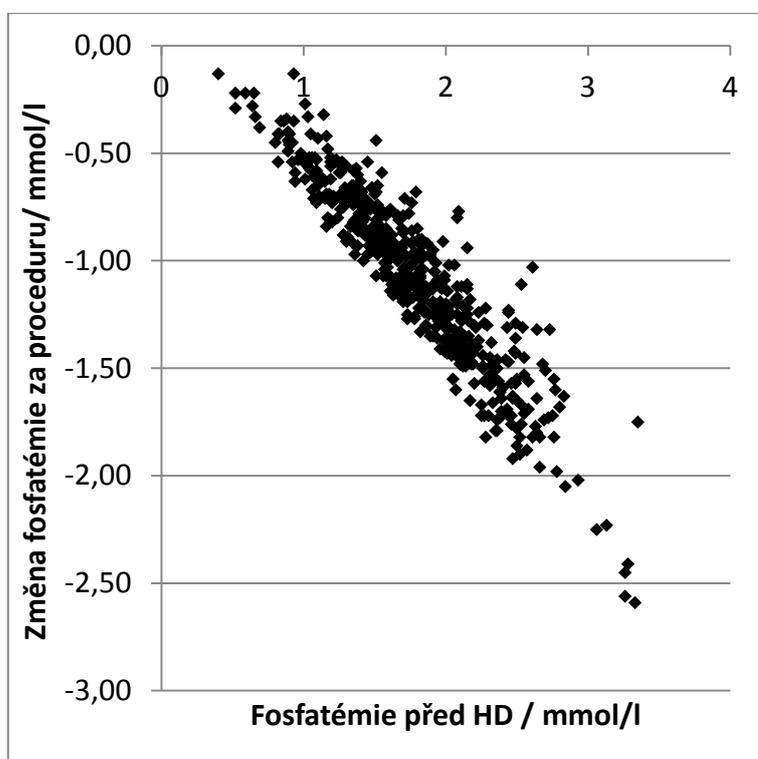
Sérové koncentrace fosforu před a po hemodialyzační proceduře byly hodnoceny v základním experimentu při 640 procedurách. Srovnávány byly mimo jiné procedury s dialyzačními koncentráty s a bez přidaného heparinu a HD s HDF. Zároveň bylo provedeno sledování vývoje fosfatémie s odběry prováděnými měsíčně v průběhu půl roku.

Pokud srovnáváme procedury HD a HDF v postdilučním módu (Tabulka 4), tak při standardizovaných ostatních parametrech při HDF dle očekávání je dosahováno vyšší účinnosti procedury. Predialyzační koncentrace fosforu byly ve skupině HDF o 0,1 mmol/l vyšší a během procedury došlo k výraznějšímu poklesu fosfatémie. Podialyzační koncentrace byly po HDF mírně nižší. Kt/V pro ureu je pro HD špatným měřítkem odstraňování fosforu za hemodialyzační proceduru, pokud ale srovnáváme standardizované hemodialyzační procedury s rozdílným Kt/V ve vztahu ke změně fosfatémie, je možnou metodou vyjádření poměr změny fosfatémie za proceduru / Kt/V . Při tomto způsobu vyjádření je změna fosfatémie při HD i HDF téměř identická.

Tabulka 4 Srovnání základních parametrů fosforu při HD a HDF

Měřený parametr	Metoda		Mann-Whitney U test
	HD	HDF postdiluční	p
P před HD (mmol/l)	1,70 (1,39; 2,01)	1,80 (1,40; 2,17)	0,08
P po HD (mmol/l)	0,71 (0,59; 0,83)	0,68 (0,56; 0,77)	0,045
změna P (mmol/l)	-0,98 (-1,26; -0,76)	-1,11 (-1,41; -0,80)	0,015
Kt/V	1,49 (1,29; 1,69)	1,7 (1,53; 1,87)	< 0,0001
dP/Kt/V	-0,67 (-0,91; -0,52)	-0,66 (-0,84; -0,47)	0,11

Graf 9 Změna fosfatémie za proceduru v závislosti na predialyzační fosfatémii



Při sledování vývoje fosfatémie v čase se ukazuje jejich velká proměnlivost. A to jak mezi jednotlivými pacienty – variační koeficient v jednotlivých měsících sledování 26 – 32 %, tak i u jednotlivých pacientů v čase – variační koeficient 15 (11; 23) %.

Základní data srovnávající fosfatémie při použití dialyzačních roztoků s a bez přidaného citrátu sodného ukazuje tabulka (Tabulka 5). Před HD s přidaným citrátem měli pacienti mírně vyšší fosfatémie, čemuž odpovídá statisticky nevýznamně větší pokles fosfatémie za proceduru (Graf 9). Podialyzační fosfatémie byly identické. Pro nesterjnorodost souboru

byla ve skupině s roztokem s přidaným citrátem významně nižší účinnost HD hodnocená Kt/Vurea. Pro nesterorodost srovnávaných souborů s rozdílnou predialyzační koncentrací fosforu a Kt/V nelze jednoznačně uzavřít, zda přidaný citrát do dialyzačního roztoku ovlivňuje odstraňování fosforu. Lze ale říci, že odstraňování fosforu při použití roztoků s přidaným citrátem není menší.

Tabulka 5 Srovnání Kt/V a fosfatémií při použití dvou typů dialyzačních roztoků

Měřený parametr	Dialyzační roztok		Mann-Whitney U test
	bez citrátu	s citrátem	p
P před HD (mmol/l)	1,71 (1,37; 2,1)	1,79 (1,44; 2,1)	0,17
P po HD (mmol/l)	0,69 (0,56; 0,80)	0,69 (0,59; 0,81)	0,36
změna P (mmol/l)	-1,03 (-1,32; -0,75)	-1,08 (-1,35; -0,84)	0,16
Kt/V	1,62 (1,44; 1,81)	1,51 (1,27; 1,74)	< 0,001
dP/Kt/V	-0,63 (-0,84; -0,47)	-0,74 (-0,92; -0,55)	< 0,001

Sérové koncentrace fosforu vykazují u dialyzovaných pacientů velkou variabilitu. A to i při kontinuálním sledování pacientů v čase. Během účinnějších HDF procedur (hodnoceno Kt/Vurea) dochází k výraznějšímu poklesu fosfatémie. Jsou-li ostatní parametry procedury (zejména její délka, ale i plocha dialyzátoru a další) srovnatelné, lze při těchto procedurách předpokládat větší množství odstraněného fosforu. To se však během našeho sledování neprojevilo v predialyzačních koncentracích. Ty jsou dány řadou dalších, velmi dobře známých faktorů, zejména příjmem fosforu potravou a užíváním vazáčů fosfátů. Hemodialyzační procedura je tedy jedním z faktorů, který se podílí na fosfátové bilanci pacientů a delší čas procedury (námi zde nestudovaný) i vyšší účinnost procedury mohou napomoci ve zvýšení eliminace fosfátů z organismu.

Mixed HDF byla testována převedením pacientů z HDF v postdilučním i predilučním módu. Nepotvrdil se teoretický předpoklad dosažení lepší clearance beta2-mikroglobulinu a nedošlo k vzestupu Kt/V urea. Substituční objemy dosažené při mixed HDF byly proměnlivé dle pacienta a v rozmezí mezi módy predilučním a postdilučním (jde o jejich kombinaci). Stejně tak základní hodnocené parametry iontového metabolismu nevybočovaly z mezí daných predilučním a postdilučním módem.

3.4 Vliv použití dialyzačních koncentrátů s citrátem na změny parathormonu při hemodialyzační proceduře

Hemodialyzační procedura i hemodiafiltrace významně ovlivňují koncentrace parathormonu. Je doloženo, že při konvenčním dialyzačním roztoku s obsahem 1,5 mmol/l difusibilního kalcia (a 0,5 mmol/l difusibilního magnezia) se koncentrace PTH snižuje. To jsme ověřili v souboru 71 dlouhodobě dialyzovaných a klinicky stabilních pacientů, a to jak metodou druhé generace (stanovení iPTH), tak i metodou třetí generace (PTH 1-84). Koncentrace iPTH se snížily o 66,7 %, koncentrace PTH(1-84) o 60 % (mediány).

Dialyzační roztok s přidáním citrátu ovlivňuje sérové koncentrace PTH zcela jiným způsobem, a to bez ohledu na identické koncentrace kalcia i magnezia v roztoku. Koncentrace iPTH se při citrátovém roztoku v souboru snížily o 5,5 % (medián hodnot), a u části pacientů se dokonce zvýšily (u čtvrtiny pacientů o 17,8 a více %). Podobný trend byl patrný pro stanovení PTH(1-84). (Tabulka 6 a Tabulka 7)

Tabulka 6 Změna PTH(1-84) během hemodialýzy/hemodiafiltrace s konvenčním roztokem a s roztokem s obsahem citrátu

	Před HD/HDF	po HD/HDF	rozdíl	rozdíl v %
	PTH1-84 (DiaSorin; pmol/l), roztok BIK (bez obsahu citrátu)			
medián	14,5	4,1	-9,2	-66,7
1kv	9,9	2,7	-13,7	-75,6
3kv	20,5	7,9	-3,8	-54,1
	PTH1-84 (DiaSorin), roztok BIC (s obsahem citrátu)			
medián	16	15,6	-1,8	-12,6
1kv	12,8	9,4	-4,65	-32,1
3kv	21,9	20,55	2,9	13,1
p	Ns	<0,001	<0,001	<0,001

Tabulka 7 Změna koncentrace iPTH během hemodialýzy/hemodiafiltrace s konvenčním roztokem a s roztokem s obsahem citrátu

	Před HD/HDF	po HD/HDF	Rozdíl	rozdíl v %
iPTH (Immulate, pmol/l), roztok BIK (bez obsahu citrátu)				
medián	26,1	10,1	-14,9	-59,8
1kv	19,75	6,6	-21,2	-72,7
3kv	36,4	15,9	-8,9	-43,4
iPTH (Immulate), roztok BIC (s obsahem citrátu)				
medián	30,1	26,6	-2	-5,5
1kv	24,2	18,7	-8,5	-29,9
3kv	51,7	36,7	7	17,8
p	ns	<0,002	<0,001	<0,001

Postdialyzační koncentrace se tedy významně liší podle toho, zda je do roztoku přidán acetát (3 mmol/l) či je jeho část nahrazena citrátem (0,8 mmol/l), a to i při jinak zcela identickém složení. Dlouhodobý význam tohoto opakovaného výkyvu hodnot PTH je nyní předmětem zkoumání našeho i dalších pracovišť.

V dalším experimentu byly u 28 pacientů stanoveny sérové hladiny parathormonu vždy před a po HD proceduře. A to 2x s použitím roztoku bez přidaného citrátu a 1x s roztokem s citrátem. Parathormon byl stanoven metodou Immulate Intact PTH (Siemens). U všech roztoků bylo použito stejné koncentrace vápníku (1,5 mmol/l) a hořčíku (0,5 mmol/l). Základní data ukazuje Tabulka 8.

Tabulka 8 Srovnání změn PTH během dialyzační procedury s roztoky s/bez přidaného citrátu

PTH	Bez citrátu				S citrátem	
	preHD	postHD	preHD	postHD	preHD	postHD
medián	22,2	8,0	18,4	7,4	27,0	28,0
1. kvartil	15,3	5,9	12,9	4,8	20,6	21,5
3. kvartil	34,0	12,5	27,9	9,2	36,9	41,2

Data ukazují výrazný pokles parathormonu během procedury se standardním dialyzačním roztokem o 64, respektive 60 %. Při použití dialyzačního roztoku s přidaným citrátem došlo ke vzestupu o 4 %.

3.5 Srovnání měření hladin parathormonu různými metodami

U 75 stabilních dlouhodobě dialyzovaných pacientů jsme změřili sérové hladiny parathormonu pomocí čtyř metod:

1. LIAISON PTH 1-84 (test 3. generace), DiaSorin; (1-84 DS)
2. LIAISON iPTH (test 2. generace), DiaSorin; (iPTH DS)
3. Elecsys PTH 1-84 (test 3. generace), Roche; (1-84 R)
4. Elecsys iPTH (test 2. generace), Roche; (iPTH R)

Výsledky ukazuje Tabulka 9.

Tabulka 9 Sérové koncentrace parathormonu – srovnání čtyř metod stanovení

	1-84 DS	iPTH DS	1-84 R	iPTH R
medián	15,3	20,9	17,5	26,3
1. kvartil	10,0	14,5	12,5	18,7
3. kvartil	21,2	28,8	22,6	36,9

Korelace mezi použitými čtyřmi metodami je velmi dobrá a dosahuje 0,987 – 0,997. Absolutní hodnoty jsou však rozdílné. A to nejen mezi druhou a třetí generací použitých metod ($p < 0,001$), ale i mezi metodami stejné generace od různých výrobců ($p < 0,001$ – platí pro druhou i třetí generaci srovnávaných způsobů stanovení). Tyto rozdíly jsou klinicky významné. U srovnávaných analýz firem DiaSorin a Roche není konstantní ani poměr 1-84 PTH a iPTH (Tabulka 10).

Tabulka 10 Poměr hodnot 1-84PTH a iPTH

	DiaSorin	Roche
medián	0,73	0,66
1. kvartil	0,68	0,60
3. kvartil	0,79	0,71

3.7 Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D

Do této studie byli zařazeni všichni chronicky dialyzovaní pacienti našeho hemodialyzačního střediska ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. Byly měřeny sérové koncentrace vitamínu D (25-D, nmol/L, přímá kompetitivní chemiluminiscenční imunoanalýza, LIAISON 25 OH Vitamin D TOTAL Assay; DiaSorin, Italy) spolu s řadou parametrů minerálového a kostního metabolismu (viz níže).

U pacientů s hladinou 25 D pod 50 nmol/l bez hyperkalcémie byla zahájena suplementace cholekalciferolem.

Sérové hladiny vápníku (Ca, mmol/l), fosfátů (P, mmol/l) a alkalické fosfatázy (ALP) byly měřeny měsíčně. Sérové koncentrace imunoreaktivního parathormonu (PTH, pmol/l; elektrochemiluminiscenční imunoanalýza, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Německo) byly měřeny minimálně v dvouměsíčních intervalech. Sérové hladiny 25-D a beta-cross-laps (CTX, µg/l, sendvičová imunoanalýza s chemiluminiscenční detekcí, Roche, SRN) byly měřeny na začátku studie a po 15 týdnech.

Devadesát sedm klinicky stabilních chronicky dialyzovaných pacientů bylo ohodnoceno na začátku studie. Devadesáti pacientům byla dle výsledků zahájena suplementace cholekalciferolem a byli zahrnuti do analýzy suplementace vitamínem D. Pacientům se vstupní hladinou vitamínu D 30 - 50 nmol/l (N = 15) bylo podáváno 5000 IU cholekalciferolu jedenkrát za dva týdny; pacientům se vstupní hladinou pod 30 nmol/l (N = 75) 5000 IU týdně. Pro zajištění maximální možné adherence s doporučenou suplementací byl vitamín D podáván pacientům zdravotním personálem během první HD procedury v týdnu. Používán byl cholekalciferol v kapkách pro perorální podání (500 IU/kapka).

Pacientům se sekundární hyperparathyreózou byl podáván cholekalciferol společně s parikalcitolem nebo kalcitriolem. Abychom mohli srovnat suplementaci cholekalciferolem v monoterapii s kombinovanou suplementací cholekalciferol + aktivní vitamín D, vytvořili jsme na začátku studie dvě podskupiny:

(a) 34 pacientů léčených pouze cholekalciferolem (5000 IU/týden) a (b) 34 pacientů léčených cholekalciferolem (5000 IU/týden) v kombinaci s parikalcitolem (medián 10 µg/týden i.v.).

Vazači fosfátů bylo léčeno 72 pacientů, cinacalcet hydrochloridem 6 pacientů (maximální dávka 60 mg/den, užívány více nežli 12 h před odběry krve). Žádný pacient neužíval vápník obsahující fosfátové vazače ani perorální suplementaci vápníkem. Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku byla ve všech případech 1,5 mmol/l. Další detaily metody a charakteristika souboru viz příloha.

Vstupní zhodnocení

Devadesát sedm chronicky hemodialyzovaných pacientů (z toho 64 mužů) bylo klinicky stabilních v průběhu studie, zúčastnili se vstupního i výstupního zhodnocení a bylo zahrnuto do analýz. Základní laboratorní ukazatele jsou ukázány v tabulce (Tabulka 11).

Tabulka 11 Výsledky vstupního laboratorního vyšetření

N = 97	Jednotky	Normální rozpětí	Vstupní hodnoty
Ca	mmol/l	2.15 - 2.55	2.17 ± 0.15
P	mmol/l	0.87 - 1.45	1.71 ± 0.43
ALP	μkat/l	M: 0.67 - 2.15 F: 0.58 - 1.74	1.54 ± 0.60
CTX	μg/l	M (30-50 y) 0 - 0.584 M (50-70 y) 0 - 0.704 M (nad 70 y) 0 - 0.854 F (před menopauzou) 0 - 0.573 F (po menopauze) 0 - 1.008	1.9 (1.39 - 2.61)
PTH	pmol/l	1.3 - 6.8	32.3 (20.0 - 45.0)
25-D	nmol/l	50 - 250	22 ± 10.8

PTH = imunoreaktivní parathormon. CTX = beta-cross-laps. F = ženy, M = muži. Sérové PTH a CTX jsou vyjádřeny jako medián (interquartilové rozpětí), ostatní hodnoty jako průměr ± standardní odchylka. N = počet pacientů.

Pouze 5 pacientů mělo vstupní sérové koncentrace vitamin D nad 50 nmol/l (všichni tito pacienti již před zahájením studie užívali cholekalciferol). Sedmdesát čtyři pacientů mělo hladiny pod 25 nmol/l. 82 % pacientů, kteří vstupně neužívali cholekalciferol tedy mělo vstupně nízké hladiny vitamin D.

Analýza vstupních dat neukázala vztah sérové koncentrace vitamin D s měřenými biochemickými parametry. Sérové CTX pozitivně korelovaly s PTH ($r = 0,53$; $p = 0,01$) a sérové hladiny fosforu s PTH ($r = 0.41$, $p = 0.01$).

Vliv suplementace cholekalciferolem na sérové hladiny vitamin D a ukazatele kostního metabolismu.

Cholekalciferol byl podáván devadesáti pacientům. V dávkách 5000 IU 1x týdně ($N = 75$) nebo 5000 IU 1x za dva týdny ($N = 15$). Tyto dávky se během studie neměnily. Tabulka 12 ukazuje vstupní a výstupní hladiny vitamin D ukazatelů kostního metabolismu.

Tabulka 12 Vliv suplementace cholekalciferolem na hladiny vitaminu D a parametry kostního metabolismu

N = 90	Jednotky	Vstupní hodnoty	Výstupní hodnoty	Statistická významnost
Ca	mmol/l	2.16 ± 0.14	2.17 ± 0.15	n.s.
P	mmol/l	1.71 ± 0.43	1.80 ± 0.48	n.s.
ALP	μkat/l	1.56 ± 0.62	1.61 ± 0.75	n.s.
CTX	μg/l	1.9 (1.39 - 2.50)	2.05 (1.51 - 2.65)	n.s.
PTH	pmol/l	32.3 (21.1 - 43.0)	21.8 (23.2 - 16.1)	0.001
25-D	nmol/l	20.3 ± 8.7	66.8 ± 19.0	0.0001

CTX = beta-cross-laps. F = ženy, M = muži. Sérové PTH a CTX jsou vyjádřeny jako medián (interquartilové rozpětí), ostatní hodnoty jako průměr ± standardní odchylka. N = počet pacientů.

U pěti pacientů došlo ke vzestupu 25-D nad nmol/L (maximum 128 nmol/L). Ani u těchto pacientů nedošlo ke změnám sérových koncentrací vápníku a fosforu. Během studie nebyla zaznamenána ani žádná epizoda hyperkalcémie.

Srovnání duální léčby s monoterapií cholekalciferolem

Duální léčba (cholekalciferol s parikalcitolem) byla srovnána s monoterapií cholekalciferolem. Sérové koncentrace 25-D jsou v tabulce. (Tabulka 13)

Tabulka 13 Srovnání duální léčby a monoterapie cholekalciferolem na sérové koncentrace vitamínu D

Léčba	Sérové 25-D (nmol/l)		Rozdíl (%)	P (v rámci léčebné skupiny)
	Vstupní	Výstupní		
Cholekalciferol v monoterapii (N=34)	18.4 ± 8.2	68.6 ± 21.2	+340	0.0001
Cholekalciferol s parikalcitolem (N=34)	18.4 ± 5.0	67.6 ± 17.7	+293	0.0001
P (mezi skupinami)	0,97 (n.s.)	0,83 (n.s.)	n.a.	n.a.

Vstupní i výstupní koncentrace sérového vápníku, fosforu i PTH jsou ukázány v následujících tabulkách. (Tabulka 14 a Tabulka 15)

Tabulka 14 Srovnání duální léčby vitamínu D s monoterapií cholekalciferolem: vliv na hladiny vápníku, fosforu

Léčba	Ca (mmol/l)			P (mmol/l)		
	Vstupní	Výstupní	P	Vstupní	Výstupní	P
Monoterapie (N=34)	2.14 ± 0.12	2.13 ± 0.14	n.s.	1.60 ± 0.37	1.77 ± 0.44	0.05
Duální léčba (N=34)	2.20 ± 0.13	2.23 ± 0.15	n.s.	1.82 ± 0.41	1.76 ± 0.48	n.s.
P	0.06	0.01	n.a.	0.01	0.05	n.a.

Tabulka 15 Srovnání duální léčby vitaminy D s monoterapií cholekalciferolem: vliv na koncentrace PTH

Léčba	PTH (mmol/l)		
	Vstupní	Výstupní	P
Mono terapie (N=34)	21.7 (17.3 - 35.4)	18.1 (15.3 - 24.7)	0.05
Duální léčba (N=34)	38.6 (31.8 - 53.3)	33.9 (26.1 - 47.5)	0.01
P (mezi skupinami)	0.01	n.s.	n.a.

Sérové hladiny parathormonu poklesly v obou skupinách – pouze mírně při monoterapii a k výraznému poklesu došlo při duální terapii. Nedošlo k žádným výrazným změnám v sérových koncentracích vápníku a fosforu, pouze k mírnému vzestupu fosforu při monoterapii.

Vliv dávkovacího schématu, věku, pohlaví a diabetes mellitus na hladiny vitamínu D

U 15 pacientů, kterým byla podávána dávka 5000 IU cholekalciferolu 1x za dva týdny, stouply sérové koncentrace vitamínu D o 29,6 nmol/l (z 30,4 ± 9,5 na 60,0 ± 13,3 nmol/l). Oproti tomu, u 75 pacientů s vyšším dávkováním - 5000 IU týdně, koncentrace 25-D stouply o 50,1 nmol/l (z 18,2 ± 8,7 na 68,3 ± 19,0 nmol/l). Tato úroveň vzestupu byla mezi skupinami signifikantně odlišná ($p < 0,001$).

Sérové hladiny 25-D se nelišily mezi pacienty staršími a mladšími nežli medián věku (16,6 vs. 18,6 $\mu\text{mol/l}$, n.s.). Při dávkování 5000IU týdně hladiny 25-D stouply na 64 $\mu\text{mol/l}$ a 64,5 $\mu\text{mol/l}$. To neukazuje na žádný vliv věku.

Vstupně byly koncentrace 25-D vyšší u mužů (21,9 ± 9,0 nmol/l) nežli u žen (17,3 ± 7,2; $p < 0.01$). Během suplementace tento rozdíl zmizel (67,5 ± 20,3 nmol/l u mužů a 65,5 ± 16,5 nmol/l u žen; n.s.).

Vstupní koncentrace 25-D byly u diabetiků ve srovnání s nediabetiky nižší $17,4 \pm 7,1$ nmol/l vs. $23,1 \pm 13,5$ nmol/l; $p < 0.01$). Při výstupním vyšetření již tyto rozdíly nebyly patrné (63.9 ± 17.7 pmol/L vs. 68.4 ± 21.3 pmol/L; n.s.).

Vliv ročního období je analyzován v příloze č. 4.

3.8 Sklerostin a vitamin D-binding protein při suplementaci cholekalciferolem

Sklerostin

Sklerostin je antagonist Wnt signální dráhy. Je produkován dominantně osteocyty. Reguluje osteoblastickou aktivitu a má klíčovou úlohu v regulaci kostního obratu. Vysoké hladiny sklerostinu snižují kostní denzitu, resp. jsou patognomické z hlediska osteoporózy. (Vykoukalová 2016)

Ukazuje se, že metabolická kostní nemoc při selhání ledvin není podmíněna jen poruchou minerálového metabolismu a porušenou aktivitou příštítných tělísek. V současné době se začíná více diskutovat i vztah mezi selháním ledvin a ostatními faktory, které (nezávisle na funkci ledvin) mění kostní obrat, resp. vedou k osteoporóze či jsou s ní spojeny. Jednou z takovýchto látek je sklerostin.

V rámci sledování efektu suplementace vitaminem D u hemodialyzovaných pacientů byl vyšetřen i sklerostin (před zahájením suplementace D vitaminem, po 15 týdnech suplementace; odběr před hemodialýzou). Sledovaný soubor představovalo 90 klinicky stabilních hemodialyzovaných pacientů.

Vyšetření sklerostinu bylo provedeno na Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN Praha (prof. Kalousová, prof. Zima). Souběžně byly k dispozici hodnoty sklerostinu u zdravých kontrol (výrobce Biomedica).

Střední hodnota (medián) výchozí koncentrace sklerostinu v souboru devadesáti hemodialyzovaných osob byla 131 pmol/l ($1\text{pg/ml} = 0,044$ pmol/l), mezikvartilové rozmezí bylo 81,9 až 164,1 pmol/l.

Tyto koncentrace sklerostinu hraničně inverzně korelovaly s hodnotami iPTH ($r = -0,28$; $p < 0,01$), nekorelovaly však s žádným dalším laboratorním ukazatelem kostního metabolismu (hladina 25-D, beta-cross-laps, kostní izoenzym alkalické fosfatázy, osteokalcin).

Po tříměsíční suplementaci cholekalciferolem (tj. a po normalizaci původní nízké hladiny cholekalciferolu) se koncentrace sklerostinu v séru nezměnily (medián 134 pmol/l, mezikvartilové rozmezí 95,8 až 177,7 pmol/l; n.s.). Při rozdělení pacientů na dvě podskupiny (duální léčba vitamínem D, tj. parikalцитol/kalcitriol plus cholekalciferol, oproti monoterapii cholekalciferolem) nebyl v hladinách sklerostinu zaznamenán žádný rozdíl (stabilní hladiny v obou podskupinách).

Původní inverzní korelace s hodnotami iPTH však již nebyla zaznamenána ($r = -0,15$, n.s.). Jeví se, že koncentrace sklerostinu jsou v daném časovém intervalu (15 týdnů) stabilní, na rozdíl od koncentrací PTH (mírný, avšak statisticky významný pokles při suplementaci vitamínem D, ať již v monoterapii, či v duální léčbě).

Koncentrace sklerostinu se lišily mezi muži a ženami: medián koncentrací u mužů byl 143,8 pmol/l (mezikvartilové rozmezí 81,4-185,1 pmol/l), u žen 121 pmol/l (84,7-147,1 pmol/l), $p = 0,0554$, hodnoty před zahájením suplementace cholekalciferolem; medián koncentrací u mužů 139 pmol/l (96,2; 185,2), u žen 124,8 (96,1; 145,5), $p = 0,024$, hodnoty po tříměsíčním intervalu.

Koncentrace sklerostinu u vyšetřovaných pacientů byly v širokém rozmezí (minimum 21,7; maximum více než 240 pmol/l), tj. mezi pacienty byl až desetinásobný rozdíl. To znamená, že hladina není podmíněna samotným selháním ledvin (retence), ale přinejmenším částečně je dependentní na rozdílné tvorbě. To je podpořeno i inverzní korelací s koncentrací PTH. Hladiny SOST jsou více zvýšeny u pacientů s nižší koncentrací PTH. Nález je v současné době ještě detailněji analyzován.

Literární data o hladinách sklerostinu a jeho klinickém významu u hemodialyzovaných pacientů jsou dosud ojedinělá a informace nejsou úplné. Jedna z prvních prací uvádí 1257 pg/ml, tj. 55,3 pmol/l (1pg/ml = 0,044 pmol/l), námi zjištěné hodnoty jsou významně vyšší. Tato práce dále uvádí korelaci s hladinami 25-D, my jsme tuto korelaci nepozorovali

ani před zahájením suplementace ani po úpravě hladin cholekalciferolu. Navíc, nepozorovali jsme žádnou změnu sklerostinu po tříměsíčním podávání vitamínu D s dosažením úpravy hladin cholekalciferolu, což ukazuje, že mezi sklerostinem a D vitamínem není u hemodialyzovaných pacientů přímý vztah.

Silná inverzní korelace mezi sklerostinem a koncentrací PTH byla doložena u pacientů s primární hyperparathyreózou (Ardawi 2012). Naše nálezy naznačují možnost této korelace i u hemodialyzovaných pacientů.

Sklerostin má prokazatelně negativní roli v patogenezi osteoporózy u osob s normální funkcí ledvin. Vysoké hladiny u části dialyzovaných pacientů pravděpodobně nejsou biologicky inertní. Nové práce naznačují jeho vztah jak k nízké kostní denzitě, tak i ke kalcifikačnímu riziku; nám však změřená data zatím dovolila jen krátkodobé a průřezové analýzy.

Závěry pro praxi

Nálezy ukázaly, že koncentrace sklerostinu v séru u pacientů se selháním ledvin jsou zvýšeny oproti kontrolám, avšak mezi jednotlivými pacienty jsou vysoce variabilní; jsou však v čase stabilní a nejsou ovlivněny několikaměsíční léčbou aktivátory receptoru pro vitamín D. S výjimkou hraniční inverzní korelace s koncentrací iPTH nekorelují u těchto pacientů s žádným ukazatelem kostního obratu, což komplikuje interpretaci naměřených hodnot. Nálezy neumožňují přímý závěr pro praxi, jsou však stimulační pro další analýzy.

Vitamin D binding protein

Vitamín D binding protein (DBP) má relativní molekulovou hmotnost 53 kDa. Běžnou hemodialýzou není odstraňován, při vysoce propustných membránách lze připustit jeho malé ztráty (u peritoneální dialýzy jsou ztráty vyšší). O sérových koncentracích této bílkoviny u hemodialyzovaných pacientů existují jen zcela ojedinělé literární zdroje (Lin, 2012). Ty ukazují, že hladiny DBP mohou být prognosticky významné: čtyřleté sledování celkem 60 hemodialyzovaných pacientů ukázalo velmi významný rozdíl v hladinách DBP mezi zemřelými pacienty (N=16) a pacienty (N=44), kteří nezemřeli a pokračovali v dialyzační léčbě (DBP v séru 165.6 ± 59.6 vs. 214.7 ± 60.8 mg/L, $p = 0.007$); přitom mezi

podskupinami nebyl rozdíl v délce dialyzační léčby, věku, tělesné konstituci, lipidovém spektru, fosfokalciovém metabolismu a ani v účinnosti dialýzy (Kt/V).

Vitamin D binding protein jsme stanovili u 90 klinicky stabilních pacientů hemodialyzačního programu, a to v rámci sledování účinku suplementační léčby cholekalciferolem. Vyšetření bylo provedeno na Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1.LF UK a VFN Praha (prof. Kalousová, prof. Zima). Souběžně byly k dispozici hodnoty DBP u zdravých kontrol (výrobce RD System, USA). Data jsou sumarizována v tabulce (Tabulka 16).

Během suplementační léčby se hladiny 25-D nezměnily (medián hodnot 235,9 vs. 233,7, n.s.). V porovnání s výše uvedenou prací jsou hladiny srovnatelné, resp. vyšší (medián hodnot našeho souboru je vyšší, než hodnoty pacientů s příznivou prognózou v citované práci).

Hladiny byly stanovovány ve vzorcích odebraných v únoru a červnu 2013. Během dvanácti měsíčního období zemřelo celkem 10 pacientů, jejich hladiny se však nelišily od ostatních. K ověření prognostického významu DBP u dialyzovaných pacientů je potřeba výrazně větší soubor, než byl publikován a než je tvořen naší sledovanou skupinou.

Hladiny vitamin D binding proteinu se nezměnily po normalizaci hladin kalcidiolu (25-D). Změnil se však vazebný poměr, resp. poměr 25-D/DBP. Hodnota tohoto poměru se průměrně zvýšila průměrně 3,5krát. Normalizace hladin 25-D při suplementaci nastala i u pacientů s velmi nízkými hodnotami DBP, což ukazuje, že hladiny DBP nejsou limitujícím prvkem při úpravě stavu zásob vitaminu D v organismu.

Mezi vstupními ani výstupními hladinami 25-D a hladinou DBP nebyla zjištěna korelace. Stav zásob vitaminu D tedy není nijak tímto parametrem ovlivněn. Vzhledem k normálním hodnotám u části pacientů nepředpokládáme, že by dialyzační procedura sama o sobě indukovala deficit vitamin D binding proteinu.

Tabulka 16 Sérové koncentrace vitamin D-binding proteinu

	Vitamin D binding protein (mg/l)		Poměr 25-D/DBP	
	Vstupní hodnota	po 15 týdnech suplementace cholecalciferolem	Vstupní hodnota	po 15 týdnech suplementace cholecalciferolem
Průměr	241,44	241,34	0,097	0,340
SD	81,31	88,75	0,067	0,248
Medián	235,9	233,7	0,077	0,278
1kv	182,5	196,45	0,060	0,215
3kv	310	303,3	0,108	0,388
Minimum	56	52,9	0,022	0,125
Maximum	399	446,7	0,414	1,593

3.9 Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů

Jednou z nových možností ovlivnění kostního metabolismu je použití denosumabu k léčbě osteoporózy. V našem případě byla opakovanými dávkami denosumabu úspěšně léčena třicetiletá žena, která byla léčena hemodialýzou od roku 2002.

Sekundární hyperparathyreóza byla léčena kalcitriolem (v letech 2005 – 2008) a následně parikalcitolem (5-15 µg týdně od roku 2008). In 2008, její T-skóre bylo -3,9 (DEXA, bederní páteř) a -3,6 (total hip). Off-label léčba alendronátem v letech 2008 až 2011 byla bez klinického efektu.

Léčba denosumabem (60 mg s.c.) byla zahájena v srpnu 2011 a dávky podávány v šestiměsíčních intervalech. Současně byla doporučena suplementace vápníkem a vitamínem D.

Pokles ukazatelů kostního obratu ukazuje Tabulka 17.

Tabulka 17 Ukazatele kostního metabolismu v průběhu léčby denosumabem

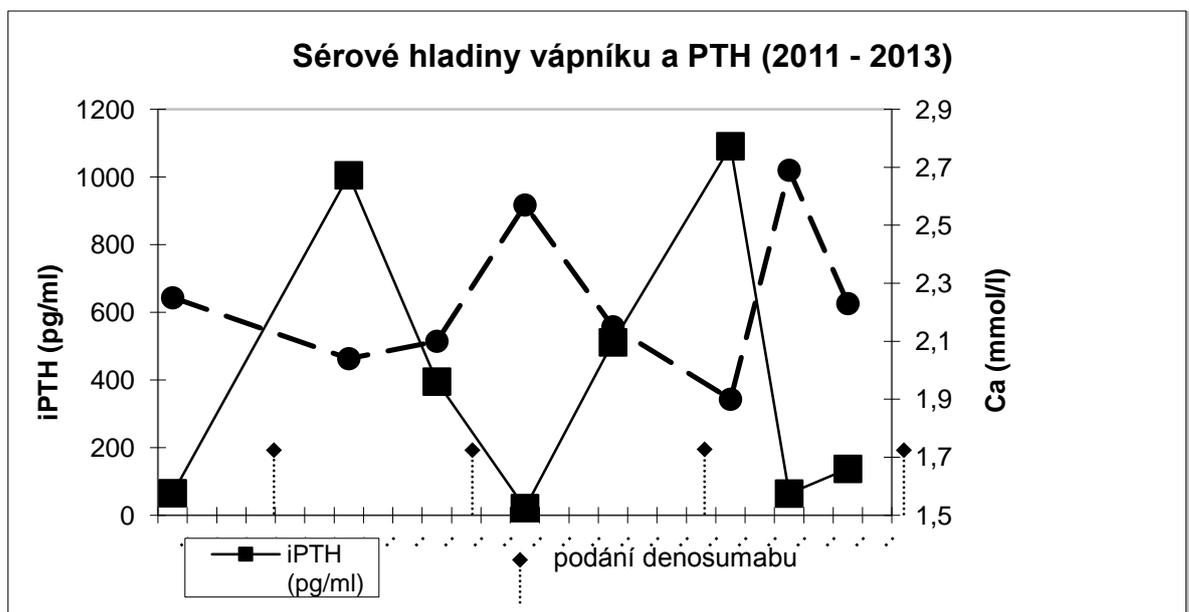
	Ca (mmol/l)	PTH (pmol/l)	25(OH)D (nmol/l)	Osteocalcin (µg/l)	CTX (µg/l)
Normální rozpětí	2.15-2.51	1.6-6.9	> 75 (doporučeno)	11-43	0.162-0.436
Před 1. podáním	2.4	5.5	31.6	154.1	1.60
2 měsíce po 1. dávce	2.26	30.5	není k dispozici	1.9	0.256
Před 2. dávkou	2.45	13.6	30.7	10.5	0.179
Před 3. dávkou	2.68	5	113.0	26.3	0.297
Před 4. dávkou	2.63	7	60.8	33.9	0.724

Po zahájení léčby došlo k rychlému poklesu ukazatelů kostního obratu s jejich normalizací v průběhu léčby. V případě osteokalcinu došlo po zahájení k výraznému poklesu během dvou měsíců od zahájení léčby s mírným pozvolným vzestupem během terapie.

Dostatečné zásoby vitamínu D v organismu byly udržovány pravidelnou suplementací – 300 000 IU cholekalciferolu v tříměsíčních intervalech.

Predialyzační sérové koncentrace vápníku, fosforu a PTH byly kontrolovány minimálně v měsíčních intervalech. Koncentrace fosfátů nepřesáhly 1,8 mmol/l. Během léčby jsme zaznamenali několik asymptomatických epizod hypokalcémie s doprovodným vzestupem PTH (Obrázek 3). Vždy došlo k úpravě po přizpůsobení suplementace vápníku a/nebo podávání parikalcitolu. Suplementace vitamínem D nebyla přerušována.

Obrázek 3



Kalcifikace měkkých tkání nebyly zaznamenány ani na RTG rukou ani na bočních snímcích hrudní a bederní páteře. Velmi mírná klínovitá deformita 11. hrudního obratle zůstala stabilní během léčby. Při UZ cíleném na vyšetření příštítných tělísek byla v roce 2010 zjištěn útvar o objemu 0,07 ml za levým lalokem štítné žlázy. V roce 2013 měl, při vyšetřování stejným lékařem, tento útvar ve stejné lokalizaci objem 0,03 ml. Do roku 2013 T-skóre stouplo jak v případě bederní páteře (z -3,9 na -2,8) tak stehenní kosti (z -3,6 na -2,9). Velmi důležité z pohledu pacientky bylo vymizení bolestí páteře, ke kterému došlo krátce po zahájení léčby denosumabem a během léčby se již neopakovalo. Toto vedlo k výraznému zlepšení subjektivně vnímané kvality života.

3.10 Vliv modifikací hemodialyzační procedury na koncentrace thyroidálních hormonů

V rámci experimentů zaměřených na bezpečnost procedury bylo kromě parametrů fosfokalciového metabolismu současně s měřením TK, změn krevního objemu, prokrvení periferních tkání měřeny i koncentrace TSH a thyroidálních hormonů. Analýzou TSH, FT3, FT4, T3, T4 před a po hemodialyzační proceduře od 102 pacientů nebyla zjištěna významná souvislost ani s parametry fosfokalciového metabolismu ani bezpečnostními ukazateli. Výsledky se však lišily dle typu prováděné hemodialyzační procedury. Proto byla designována následující cross-over studie ke zjištění vlivu hemodialyzační a hemodiafiltrační procedury na koncentrace TSH a thyroidálních hormonů.

Této studii se zúčastnilo 40 klinicky stabilních chronicky dialyzovaných pacientů (29 mužů, medián věku 57 let). Měřeny byly sérové koncentrace TSH, FT4, FT3, T3 a T4 společně s parametry acidobazické rovnováhy před a po on-line hemodiafiltraci a low-flux hemodialýze. Párově uspořádaná data byla srovnávána Wilcoxonovým testem. Podrobná charakteristika souboru a metodické detaily jsou popsány v příloze č. 10. Tabulka 18 ukazuje základní laboratorní parametry studovaného souboru pacientů a Tabulka 19 základní charakteristiky hemodialyzační procedury a koncentrace bikarbonátu.

Tabulka 18 Základní laboratorní parametry studovaného souboru pacientů

Látka (jednotky)	Před HDF	Normální rozpětí
Albumin (g/l)	42,8 (40,8; 44,2)	34 - 48
Prealbumin (g/l)	0,3 (0,27; 0,35)	0,2 – 0,4
CRP (mg/l)	4,2 (2,4; 9,3)	0 - 5
Fosfor (mmol/l)	1,76 (1,48; 2,22)	0,87 – 1,45
Kalcium (mmol/l)	2,23 (2,15; 2,34)	2,15 – 2,55
Úrea (mmol/l)	23,6 (20,5; 26,9)	1,7 – 8,3
Kreatinin (μmol/l)	958 (796; 1079)	M 60 - 110 / F 45 - 90

Hodnoty jsou vyjádřeny jako medián (interkvartilové rozpětí). HDF – on-line hemodiafiltrace v postdilučním uspořádání.

Tabulka 19 Charakteristiky hemodialyzační procedury a koncentrace bikarbonátu

Parametr	HD	HDF	HD vs. HDF – p
Délka procedury (h)	4,2 ± 0,3	4,2 ± 0,3	n.a.
Kt/V	1,52 ± 0,20	1,68 ± 0,25	0,000002
Substituční objem (l)	n.a.	24,8 (20,6; 27,0)	n.a.
Sérový bikarbonát před procedurou (mmol/l)	20,2 ± 2,0	20,3 ± 1,9	0,69
Sérový bikarbonát po proceduře (mmol/l)	26,2 ± 1,4	26,6 ± 1,5	0,25
Změna koncentrace bikarbonátu během procedury (mmol/l)	+ 6,0; p<0,0001	+6,3; p<0,00001	0,26

Hodnoty vyjádřeny jako průměr ± SD nebo medián (interquartilové rozpětí). Normální rozmezí pro sérový bikarbonát: 22 - 26 mmol/l. HD – low-flux hemodialýza

Všechny hemodialyzační procedury byly adekvátní stran Kt/V vzhledem ke KDOQI doporučením z roku 2006. Délka procedury, plocha dialyzátoru ani délka procedury nebyly během experimentu měněny. Dle předpokladu bylo spKt/V mezi HD a HDF odlišné. Přestože pro oba typy procedur byla použita stejná koncentrace bikarbonátu v dialyzačním a substitučním roztoku, pre- i post-dialyzační sérové koncentrace bikarbonátu nebyly odlišné. Parametry acidobazické rovnováhy byly během procedur korigovány srovnatelně.

Při obou typech hemodialyzačních procedur byly zjištěny výrazné změny v sérových koncentracích TSH i thyroidálních hormonů. Chování koncentrací korigovaného TSH bylo přitom závislé na typu procedury - stoupalo v průběhu HD a klesalo během HDF (Tabulka 20). Pokles TSH během HDF byl doprovázen poklesem T4 a žádnou významnou změnou T3. Naproti tomu při HD byl vzestup TSH doprovázen vzestupem T3 i T4. Koncentrace obou volných hormonů stoupaly významně během obou procedur.

Tabulka 20 Hodnoty TSH a thyroidálních hormonů před a po hemodialyzační proceduře

Thyroidální hormon (jednotky)	HDF			HD		
	před	po	P	před	po	P
TSH (mIU/l)	1,6 (1,2; 2,0)	1,0 (0,7; 1,5)	< 0,01	2,3 (1,1; 2,5)	2,7 (1,6; 3,5)	< 0,01
T4 (nmol/l)	92 (81; 101)	75 (64; 86)	< 0,001	73 (62; 86)	93 (78; 115)	< 0,001
FT4 (pmol/l)	14,5 (12,9; 15,6)	18,2 (15,9; 19,3)	< 0,001	12,9 (11,8; 13,8)	14,8 (13,9; 15,8)	< 0,001
T3 (nmol/l)	1,2 (1,1; 1,4)	1,2 (1,0; 1,3)	n.s.	1,4 (1,1; 1,5)	1,6 (1,3; 1,8)	< 0,001
FT3 (pmol/l)	3,7 (3,1; 4,2)	4,3 (3,5; 4,6)	< 0,01	3,3 (2,8; 3,7)	3,4 (3,0; 4,1)	< 0,001

Hodnoty vyjádřeny jako medián (interquartilové rozpětí). HD – low-flux hemodialýza, HDF – on-line hemodiafiltrace v postdilučním uspořádání. N = 40, párové uspořádání, Wilcoxonův test.

Hladinu albuminu sníženou pod normální rozmezí měl pouze jeden pacient a v případě prealbuminu pouze tři pacienti. CRP v normálním rozmezí mělo 55 % pacientů, mírně zvýšené koncentrace (do 10 mg/l) mělo 28 % a žádný pacient neměl CRP nad 20 mg/l.

U deseti pacientů nebyl k hemodialyzační proceduře podán heparin. Vzestup FT4 během těchto dialýz byl identický ve srovnání s procedurami s heparinizací (21%). Bez heparinové antikoagulace FT4 stoupl z 14,0 (12,5; 16,3) na 17,0 (14,6; 22,9) pmol/l ($p < 0.05$) a FT3 stoupl z 3,6 (3,3; 4,1) na 4,2 (3,4; 4,5) pmol/L ($p < 0.05$). Další výsledky jsou popsány v příloze č. 10.

3.11 Změny relativního objemu krve a prokrvení kůže při HD

Odstranění nadbytečných tekutin patří mezi základní úkoly při HD proceduře. Při HD by měl být odstraněn odpovídající objem tekutin bez hemodynamické nestability pacienta. Tím předcházíme zhoršování funkcí kardiovaskulárního aparátu, akutním komplikacím při HD a zlepšujeme i subjektivní toleranci HD se zlepšováním spolupráce s pacienty.

Do následujících experimentů bylo zahrnuto 35 stabilních chronicky dialyzovaných pacientů (21 mužů, věk 63 (36 – 83) let. Tito byli léčeni pravidelnou HD po 26 (5 – 179) měsících. Všichni byli dialyzováni 3 x týdně cestou AV fistule.

Během HD procedur byly zároveň měřeny změny relativního objemu krve (dBV) a změny kožního prokrvení ve vybraných lokalizacích. Změny prokrvení kůže byly měřeny pomocí LDLS. dBV byla měřena simultánně pomocí modulu BVM a Crit-line. Měření byla prováděna během prostřední HD v týdnu.

HD procedura byla standardizována (4h, low-flux parou sterilizovaný polysulfonový dialyzátor s ploše 1,6 m², průtok krve 300 ml/min, průtok dialyzačního roztoku 500 ml/min, konstantní rychlost ultrafiltrace na optimální hmotnost). Složení dialyzačního roztoku bylo pro všechny procedury následující: Na 138 mmol/l, Ca 1,5 mmol/l, K 3 mmol/l, glukóza 1%. Tělesná teplota pacientů byla během procedur udržována konstantní pomocí BTM modulu (tzv. isotermická HD).

Základní klinickou charakteristiku pacientů shrnuje Tabulka 21. Tabulka 22 ukazuje vybrané parametry během HD procedury – krevní tlak, pulz, dosaženou ultrafiltraci, relativní změnu krevního objemu a tepelnou bilanci procedury. V průběhu HD nedošlo ke změně tělesné teploty pacientů (preHD: 36,1 ± 0,3; postHD: 36,0 ± 0,3 °C).

Tabulka 21 Základní charakteristika pacientů a rychlost ultrafiltrace

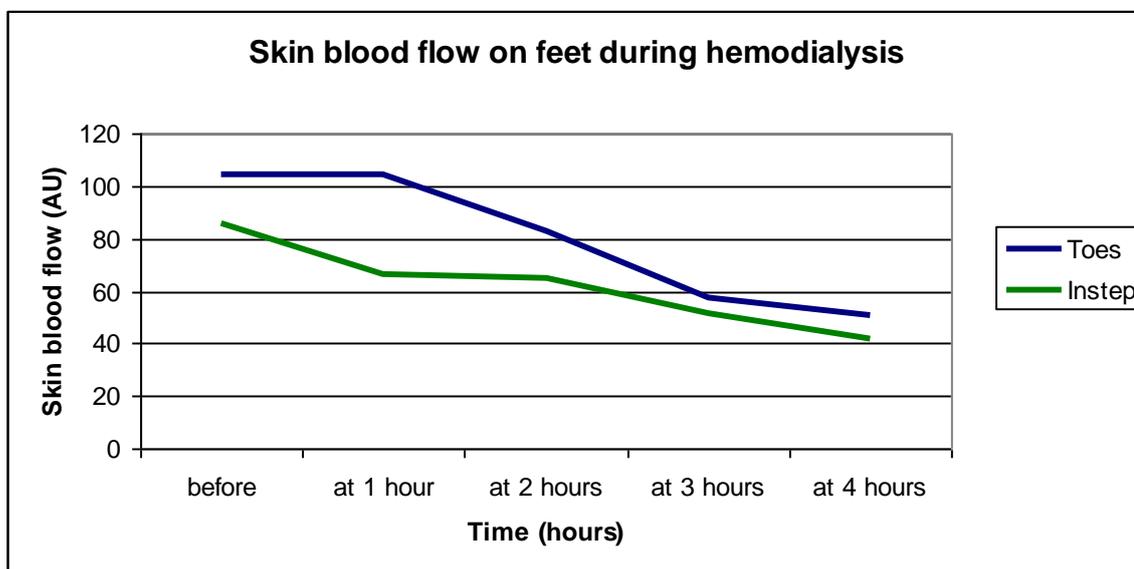
Věk (let)	63 (36-83)
Mužů/žen	21/14
Délka RRT (měsíců)	26 (5-179)
BMI (kg/m ²)	28.3 ± 4.6
ATS	19 (54%)
CAD (%)	17 (49%)
PAOD (%)	3 (9%)
Stroke (%)	10 (29%)
DM (%)	17 (49%)
Arteriální hypertenze (%)	35 (100%)
Dyslipidémie (%)	20 (57%)
Aktuální kuřáci (%)	7 (20%)
Ex-kuřáci (%)	7 (20%)
Průtok krve AV fistulí	752 (559; 927)
Ultrafiltrační rychlost (ml/h)	650 (440-980)
Pre-HD Nt-proBNP (pmol/L)	1284 (479; 3685)

Během HD, při kterých probíhala měření, jsme nezaznamenali žádné klinické a technické komplikace. Žádný z pacientů neměl intradialyzační hypotenzi.

Tabulka 22 Vybrané parametry během HD procedury

N=35	Před	1h	2h	3h	4h
Čas (min)		66 ± 7	121 ± 7	180 ± 5	242 ± 22
T _p (C°)	35.9 ± 0.3	36.0 ± 0.1	35.9 ± 0.3	35.9 ± 0.3	35.8 ± 0.4
sBP (mmHg)	140 ± 20	140 ± 20	140 ± 20	135 ± 20	140 ± 20
dBp (mmHg)	80 ± 10	80 ± 10	80 ± 10	75 ± 10	75 ± 15
Puls/min	74 ± 8	66 ± 12	66 ± 12	66 ± 11	69 ± 14
UF (L)		0.8 (0.5;1.0)	1.4 (0.9; 2.0)	2.0 (1.3; 2.9)	2.6 (1.6; 4.1)
dBV (%)		-4.5 -1 – -7.4	-6.3 -2.3 – -9.4	-8.5 -3.7 - -12.4	-10.1 -4.9 – -14.9
ΔE (kJ)		-33 (-51;-19)	-93 (-145; -43)	-186 (-234;-121)	-280 (-370;-167)

Graf 10 Změny prokrvení kůže nohou během HD procedur



Prokrvení kůže prstů nohou je před i během celé procedury větší, nežli na nártu. Během HD v obou měřených lokalitách významně klesá ($p < 0,001$, RM-ANOVA on ranks) (Graf 10).

Korelační koeficienty mezi prokrvením kůže vyjádřeným v absolutních hodnotách na rukách a nohou po 4. h HD, ultrafiltrací, relativními změnami objemu krve, systolickým

krevním tlakem a koncentrací NT-pro-BNP znázorňuje Tabulka 23. Ukazuje pozitivní korelace mezi prokrvením kůže a krevním tlakem. Korelace s rychlostí ultrafiltrace je pozitivní pouze na hřbetu rukou. Korelace s Nt-proBNP byly nevýznamné ve většině měřených lokalit a jen hraničně významné na nártu nohou.

Tabulka 23 Korelační koeficienty mezi prokrvením kůže a vybranými parametry

	Ruce		Nohy	
	Prsty	Hřbet ruky	Prsty	Nárt
sBP (mmHg)	r = 0,39 p = 0,02	0,52 <0,01	0,45 0,01	0,49 <0,01
UF (ml)	ns	-0,47 <0.01	ns	ns
dBV (%)	0,37 0,03	0,63 <0,01	ns	0,52 <0,01
Nt-proBNP (pmol/l)	ns	ns	ns	0,37 0,05

Jaké faktory predikují absolutní hodnoty prokrvení kůže na konci HD ve všech čtyřech měřených lokalizacích ukazuje následující Tabulka 24.

Tabulka 24 Faktory ovlivňující prokrvení kůže na konci HD

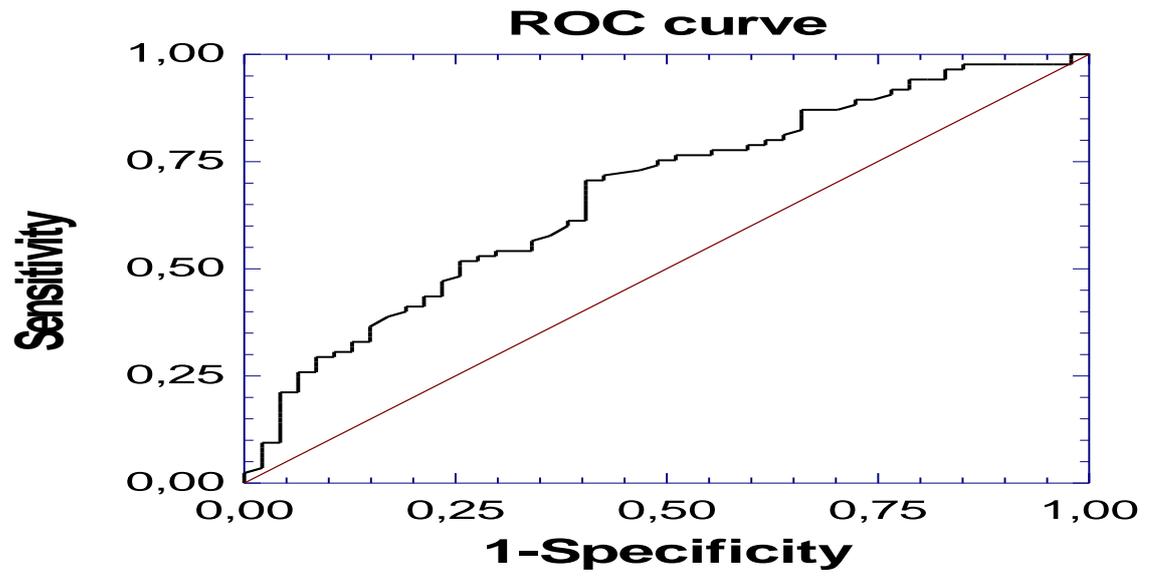
	Nezávislá proměnná	Regresní koeficient	Standardní chyba	Standardizovaný koeficient	hodnota p
Prsty rukou	dBV	6,1	1,3	0,64	<0,001
	ΔE	0,31	0,066	0,63	<0,001
multiple r=0,76; multiple r ² =0,58; adj r ² =0,55; F=18; p<0,001; power=0,9996					
Hřbet rukou	dBV	5,2	0,62	0,95	<0,001
	ΔE	0,2	0,04	0,59	<0,001
multiple r=0,88; multiple r ² =0,77; adj r ² =0,75; F=36; p<0,001; power=1,0					
Prsty nohou	sBP	1,02	0,0047	0,7	<0,001
multiple r=0,7; multiple r ² =0,49; adj r ² =0,48; F=24,5; p<0,001; power=0,998					
Nárt	dBV	1,2	0,45	0,42	0,012
	sBP	0,4	0,15	0,42	0,012
multiple r=0,71; multiple r ² =0,50; adj r ² =0,47; F=13; p<0,001; power=0,99					

dBV- relativní změna krevního objemu, ΔE- energie odstraněná během HD, sBP- systolický krevní tlak

V multivariátní regresní analýze je relativní změna objemu krve (dBV) hlavním prediktorem prokrvení kůže po HD – počítáno pro absolutní hodnoty prokrvení na ruce i nohou. Dalším faktorem je interindividuální variabilita v krevním tlaku. Energie odstraněná z organismu je jedním z faktorů ovlivňujících prokrvení na ruce.

Pouze u 41 % pacientů nedošlo k tzv. kritickému snížení kožní perfuze v žádné měřené lokalizaci. U 59 % pacientů došlo k tomuto snížení ve 24 % lokalizací. Ze všech měřených veličin byla nejlepším prediktorem kožní perfuze po HD relativní změna objemu krve (dBV) (OR=0,74; CI 95% 0,56, 0,; p=0,03). (Graf 11)

Graf 11 Receiver operating characteristic curve relativní změny objemu krve při HD a kritické perfuze kůže



V dalším experimentu jsme pátrali po možném vztahu změn periferního prokrvení (prsty rukou, dorzum rukou) výše popsanou metodou LDLS s vybranými patobiochemickými ukazateli (RAGE, fetuin A, PAPPa, fosfokalciovým součinem, koncentrací hemoglobinu a parametry hemodialyzační procedury (ultrafiltrační rychlost, relativní změna intravaskulárního objemu, energetická bilance HD). Statistickou významnost korelací mezi prokrvením a vybranými parametry ukazuje tabulka (Tabulka 25).

Tabulka 25 Statistická významnost korelací mezi prokrvením a vybranými parametry

		Lokalita měření prokrvení během hemodialyzační procedury							
		prsty	dorzum	prsty	dorzum	prsty	dorzum	prsty	dorzum
		Po 1 hodině HD		Po 2 hodinách HD		Po 3 hodinách HD		Po 4 hodinové HD	
RAGE	vstupní	ns	0,004	ns	0,01	ns	ns	ns	ns
	po HD	ns	0,01	ns	0,03	ns	ns	ns	ns
Fetuin A	vstupní	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	po HD	ns	0,03	ns	0,02	0,01	0,003	0,009	ns
PAPP-A	vstupní	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	po HD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,08
CaxP(3měs)	vstupní	ns	ns	ns	0,04	ns	0,03	ns	ns
	po HD	ns	ns	ns	0,06	ns	0,04	ns	0,04
CaxP(6měs)	vstupní	ns	ns	ns	0,04	ns	0,03	ns	0,01
	po HD	ns	ns	ns	0,01	ns	0,02	ns	0,02
ADMA	vstupní	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	po HD	ns	0,07	ns	0,01	ns	0,08	ns	0,06
TIBC	vstupní	ns	0,08	ns	0,04		ns	ns	ns
Albumin	před HD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
UF celková		ns	ns	ns	0,08	ns	0,04	ns	0,02
UF rychlost		ns	ns	ns	0,09	ns	0,04	ns	0,01
dBV		ns	ns	ns	0,01	0,01	0,005	0,003	0,01
dE		0,06	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Hb	po HD	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	vstupní	ns	ns	ns	0,06	0,03	0,03	0,04	ns

Změny prokrvení nastaly především v oblastech hřbetu rukou, nikoliv na prstech. Významným faktorem byla ultrafiltrace, a to nejen její celková velikost, ale i ultrafiltrační rychlost. Změna prokrvení je podmíněna i některými patobiochemickými ukazateli. K významným patří fosfokalciový součin (a to i v longitudinálním průběhu); dále i postdialyzační koncentrace ADMA a fetuinu A.

Vliv ADMA na změny prokrvení při hemodialyzační proceduře byl dále podrobněji rozpracován a je obsahem přílohy č. 11, zde data neuváděna.

U pacientů s měřením změn kožního prokrvení byla zároveň hodnocena přítomnost kalcifikací. Ty byly hodnoceny na RTG rukou zjednodušenou pětibodovou škálou dle Adragao (2009). 65 % pacientů mělo zřejmé kalcifikace. Jejich přítomnost neovlivňovala velikost poklesu prokrvení při hemodialyzační proceduře.

3.12 Ukazatele kostního obratu a další látky u různých typů hemodialyzačních procedur

Do popisovaného experimentu bylo zahrnuto 96 klinicky stabilních dlouhodobě hemodialyzovaných pacientů, kteří měli neměnný dialyzační režim po minimálně 3 měsíce. 54 pacientů bylo dialyzováno metodou vysokoobjemové hemodiafiltrace, 42 pacientů konvenční hemodialýzou s low-flux dialyzátorem. Koncentrace vápníku byla u všech pacientů 1,5 mmol/l. Sérové hladiny Ca, P, B-ALP, 25-hydroxyvitaminu D, 1-84 PTH, CTx and P1NP byly měřeny před a po jedné HD či HDF proceduře.

Cílem tohoto experimentu bylo srovnání chování tradičních laboratorních ukazatelů CKD-MBD u dialyzovaných pacientů s méně používanými ukazateli kostního obratu. Dále srovnat, zda změny těchto ukazatelů (CTx a P1NP) při HD a HDF jsou stejné.

Predialyzační koncentrace ukazuje Tabulka 26. Pouze 12 pacientů mělo hladiny kostního izoenzymu alkalické fosfatázy zvýšené nad normu pro daný věk a pohlaví. Oproti tomu, koncentrace P1NP byly zvýšeny u 92 pacientů a CTx u 94 pacientů, což naznačuje možnost retence těchto látek při selhání ledvin. Obě tyto látky vykazovaly pozitivní korelace s koncentracemi kostního izoenzymu alkalické fosfatázy ($r = 0,49$; $p < 0,001$ pro P1NP; $r = 0,47$; $p < 0,001$ pro CTx) i 1-84 PTH ($r = 0,42$; $p < 0,001$ pro P1NP; $r = 0,42$; $p < 0,001$ pro CTx). Všechny tyto korelace naznačují, že jak P1NP i CTx jsou ukazateli kostního obratu u dialyzovaných pacientů.

Tabulka 26 Predialyzační koncentrace měřených látek

Látka	Predialyzační koncentrace
B-ALP	15,6 (10,9; 23,1)
P1NP	323 (189-441)
CTx	2,05 (1,6; 2,47)
1-84 PTH	18 (11,2; 26,7)

Predialyzační koncentrace P1NP i CTx byly srovnatelné. Při srovnání změn během HD a HDF se ukázalo, že dochází v závislosti na proceduře k odlišným změnám v koncentracích P1NP i CTx. Při konvenční HD nedocházelo ke změnám ani jedné z těchto látek. Na druhou stranu, při HDF klesly koncentrace CTx o 80 % z 2,26 (1,99; 2,85) na 0,53 (0,33; 0,70),

$p < 0.001$. V případě P1NP došlo k poklesu o 32 % z 395 (255; 509) na 288 (168; 396), $p < 0.001$. Sérové koncentrace vápníku, fosforu se mezi HD a HDF procedurami nelišily. Sérové koncentrace vitamínu 25-D nevykazovaly korelace s žádným z měřených ukazatelů kostního obratu.

Hodnoty CTx a P1NP jsou u hemodialyzovaných pacientů výrazně zvýšené v důsledku chybějící renální eliminace i vysokého kostního obratu. Ve srovnání s HD dochází při HDF k výraznému přechodnému poklesu CTx i P1NP.

Vliv hemodialyzačních procedur na sérové koncentrace fetuinu-A

Fetuin-A je kalcifikační inhibitor, negativní reaktant akutní fáze a prediktor kardiovaskulární mortality u hemodialyzovaných pacientů. Nízké hladiny fetuinu-A jsou spojeny s malnutricí, zánětem, sníženou denzitou kostní hmoty, nízkým kostním obratem a používáním vysoké koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku. Bylo ukázáno, že HD procedura snižuje jeho koncentrace o cca 20 %, pravděpodobně pro HD indukovaný zánět nebo pro akutní změny dané změnou metabolismu vápníku při proceduře. Cílem následujícího experimentu bylo posoudit vliv hemodialyzačních procedur na sérové koncentrace fetuinu-A.

Měření byla provedena u 40 klinicky a hemodynamicky stabilních chronicky dialyzovaných pacientů (21 žen, 68 (38 – 85) let). Všichni podstoupili rutinní bikabonátovou HD či HDF s polysulfonovým dialyzátorem. Při další proceduře byl použit dialyzační roztok s odlišnou koncentrací vápníku s/bez přidaného citrátu. Ostatní parametry procedur byly ponechány stejné. Sérové koncentrace fetuinu-A, vápníku, fosforu, iPTH, CRP a dalších biochemických parametrů byly měřeny před a po každé proceduře.

Naše data ukazují pozitivní korelaci predialyzačních sérových koncentrací fetuinu-A s iPTH ($p < 0,05$) a tendenci k nižším koncentracím se stoupajícím CRP. Nezjistili jsme změnu koncentrací fetuinu-A během hemodialyzačních procedur. Koncentrace před procedurou byly 206 (167,1; 231,9) $\mu\text{g/ml}$; po proceduře 208,9 (170,3; 246,3) $\mu\text{g/ml}$. Po korekci na hemokoncentraci během procedury byl pokles fetuinu-A pouze 2,8 % ($p < 0,05$). Nezjistili jsme rozdíl mezi HD a HDF procedurami. Změna koncentrace vápníku v dialyzačním

roztoku měla předpokládaný vliv na koncentrace iPTH, nezjistili jsme ale žádné korespondující změny v koncentraci fetuinu-A. Použití koncentrátů s přidaným citrátem také nemělo vliv na hladiny fetuinu-A.

4. Interpretace vybraných získaných výsledků

4.1 Vliv použití dialyzačního roztoku s obsahem kyseliny citrónové na koncentrace hořčíku

Naše nálezy upozorňují na dosud opomíjenou skutečnost, že stejné iontové složení dialyzačního roztoku (v daném případě stejný obsah magnezia) může znamenat zcela rozdílnou odezvu v sérové koncentraci po hemodialyzační proceduře.

Zjistili jsme pokles sérových koncentrací celkového hořčíku při použití roztoků s i bez kyseliny citrónové. Vstupní koncentrace hořčíku byla u pacientů dialyzovaných dlouhodobě s roztokem BIC významně nižší a nejvýznamněji se lišily postdialyzační hodnoty. Hlavním zjištěním byla zcela rozdílná koncentrace magnezia po proceduře, současně však pacienti léčení dlouhodobě roztoky BIC měli statisticky významně nižší koncentraci magnezia v séru již před hemodialyzační procedurou.

Dialyzační roztok s obsahem citrátu může vést k vytváření rozpustných komplexů citrát-kalcium, tento komplex pak difunduje po koncentračním spádu z krve do dialyzačního roztoku. Považujeme za pravděpodobné, že analogický mechanismus se může uplatňovat i pro hořčík.

Klinický význam akutních intradialyzačních změn hořčíku lze těžko hodnotit, neboť během dialýzy se mění souběžně i další ionty, stav hydratace a acidobazická rovnováha. Dlouhodobé důsledky negativní magneziové bilance během hemodialýzy jsou v současné době nejasné. Magnezium má důležitý inhibiční potenciál ve vztahu k progresi cévních kalcifikací. Pokles sérové koncentrace je stimulačním prvkem pro sekreci PTH.

4.2 Suplementace cholekalciferolem a duální terapie vitaminy D

Sérové koncentrace vitamínu D byly vstupně nízké (pod 25 nmol/l) u 82 % našich hemodialyzovaných pacientů. Tato velmi vysoká prevalence deficitu vitamínu D je ve shodě s publikovanými údaji (Pilz et al. 2011, Tokmak et al. 2008, Jones et al 2010, Ravani et al. 2008, Wolf et al. 2007). Nízké sérové hladiny vitamínu D jsou přitom u pacientů s chronickým onemocněním ledvin asociovány s horší prognózou. U dialyzovaných s hladinou 25-D pod 25 nmol/l byla mortalita 3x vyšší ve srovnání s dialyzovanými pacienty s hladinou nad 75 nmol/l (Pilz et al. 2011, Wolf et al. 2007). I toto nás vedlo

k zahájení suplementace cholekalciferolem. Prokázali jsme, že i nízké dávky (max. 5000 IU týdně) účinně a bezpečně léčí nedostatek vitamínu D u dialyzovaných pacientů.

Klinicky významná je otázka, zda suplementace vitamínem D zvyšuje vstřebávání vápníku ze zažívacího traktu. V nedávno provedeném experimentu bylo u dialyzovaných pacientů naměřeno vstřebávání 12 % vápníku. Toto se nezměnilo po vzestupu sérových hladin vitamínu D na 125 nmol/l (Armas et al. 2013). To je v souladu s výsledky naší studie, ve které se během podávání vitamínu D neměnily sérové hladiny vápníku.

Vzestup sérové koncentrace 25-D byl v naší studii stejný jak při monoterapii cholekalciferolem, tak při duální terapii s parikalcitolem. To naznačuje, že současně podávaný VDR aktivátor neovlivňuje účinek suplementace cholekalciferolu.

Většina pacientů užívala během studie sevelamer karbonát, nekalciový vazač fosfátů v gastrointestinálním traktu. Uvádí se, že v důsledku sekvestrace žlučových kyselin při užívání sevelameru je sníženo vstřebávání vitamínu D (Braunlin et al. 2002). Výrazný vzestup sérových hladin 25-D i při velmi malých dávkách v naší studii ukazuje na velmi malou klinickou relevanci této interakce.

Diabetici měli nižší vstupní koncentrace 25-D ve srovnání s nediabetiky. Tento rozdíl vymizel během suplementace. Armas et al. (2012) také pozoroval obdobný vzestup hladin 25-D u diabetiků i nediabetiků. Z toho vyvozujeme, že přístup k léčbě může být stejný v obou skupinách.

Další související problematika – velikost dávek cholekalciferolu, změny PTH, hyperkalcémie a další je podrobněji diskutována v příloze č. 4.

Dávka 5000 IU cholekalciferolu týdně je účinná a bezpečná u hemodialyzovaných pacientů. U hemodialyzovaných pacientů se sekundární hyperparathyreózou může být suplementace cholekalciferolem bezpečně kombinována s podáváním aktivátorů receptoru pro vitamín D.

4.3 Použití denosumabu u hemodialyzovaných pacientů

Dosud publikované studie s léčbou denosumabem u dialyzovaných pacientů obvykle ukončily léčbu podáním jedné dávky z důvodu hypokalcémie. Maximum poklesu vápníku bylo velmi různé (od 11 dnů po 6 měsíců), (Tabulka 27). Ve většině případů byla hypokalcémie klinicky významná. Současnou léčbu cinakalcetem tedy rozhodně nelze doporučit pro další zvýšení rizika hypokalcémie.

Navzdory většině publikovaných případů, naše zkušenosti s léčbou pacienta se selháním ledvin denosumabem jsou pozitivní. Ačkoli jsme také pozorovali pokles sérové hladiny vápníku po zahájení léčby spojený se vzestupem koncentrací parathormonu, dosažené koncentrace nebyly kontraindikací k přerušení terapie, ale úpravě doprovodné léčby. Byla normalizována sérová hladina vitamínu D a vápník byl perorálně substituován. Domníváme se, že při komplexní terapii není hypokalcémie natolik závažná, aby byla kontraindikací k léčbě a že příznivé účinky denosumabu převažují.

Tabulka 27 Publikované případy léčby denosumabem u pokročilého chronického onemocnění ledvin

Autor	N	CKD stádu m; RRT	Ca	Symptomy	Čas	PTH před podáním	PTH po podání
McCormick (2012)	1 (3)	HD	1,34 mmol/l	únava	1 m	186 pg/ml	1044 pg/ml
Torregrosa (2013)	1	CKD 3-4T	1,91 mmol/l	neuvedeno	6 m	442 pg/ml	1745 pg/ml
Ivanov (2013)	2	CKD 4-5T; HD	1,96; 1,97 mmol/l	neuvedeno		>190 pmol/l; 54,8 pmol/l	>100 pmol/l; 108 pmol/l
Ungprasert (2013)	1	CKD3	ionizované 2,3 mg/dl	carpopedální spasmy; QTc 520 ms		520 pg/ml	778 pg/ml
Talreja (2012)	1	CKD	6,7 mg/dl	generalizované bolesti	11 d	not done	409 pg/ml
Agarwal (2013)	1	PD	6,3 mg/dl	křeče	7 t	315 pg/ml	647 pg/ml

Ve všech případech byla podána pouze jedna dávka denosumabu.

N – počet pacientů, CKD – chronické onemocnění ledvin, RRT – renal replacement therapy, HD – hemodialýza, PD – peritoneální dialýza, Ca – hladina sérového vápníku, Čas – čas od zahájení léčby do hypokalcémie, d – dnů, t – týdnů, m – měsíců.

4.4 Vliv modifikací hemodialyzační procedury na koncentrace thyroidálních hormonů

Hladiny TSH a thyroidálních hormonů před dialyzační procedurou ukazují na vysokou prevalenci abnormalit těchto hormonů u hemodialyzovaných pacientů. Toto je v souladu s většinou publikovaných údajů. Cílem naší studie bylo srovnat vliv dvou módů hemodialyzační procedury na sérové hladiny TSH a hormonů štítné žlázy. Dosud nebyl publikován vliv on-line HDF na sledované parametry. Novým zjištěním našeho experimentu je pokles TSH v průběhu HDF. Molekulová hmotnost TSH je 28 kDa. Vysoký ultrafiltrační koeficient použitého dialyzátoru (99 ml/mmHg/h) a zejména vysoký prosévací koeficient pro beta-2-mikroglobulin (Mr 11,9 kDa) naznačují možnost transferu TSH přes membránu. Sekrece TSH je ale fyziologicky pulzatilní a poločas krátký a naše data nevysvětlují mechanismus poklesu při HDF. Pouze ukazují rozdílné změny koncentrací TSH při HD a HDF procedurách.

Sérové koncentrace volných hormonů štítné žlázy stouply v průběhu HD a HDF obdobně. To naznačuje, že tyto změny nejsou v přímé souvislosti se sérovými změnami TSH. Také nejsou dány přímo vlastní eliminační strategií. Jejich molekulová hmotnost (T4 – 777 Da a T3 – 651 Da) umožňuje přestup jak přes low-flux tak i high-flux membránu. Jestliže jsme přesto pozorovali vzestup koncentrací FT3 i FT4 během procedur, naznačuje to rychlou disociaci obou hormonů z vazby na bílkoviny. Tato disociace musí být rychlejší nežli odstraňování hormonů přes membránu. Vzestup FT3 může být částečně teoreticky způsoben i zvýšenou konverzí z T4. Toto by bylo v souladu s poklesem celkového T4 během HDF. Distribuční objem T4 je 4x menší nežli T3. To znamená, že mnohem menší část T3 je k dispozici pro eliminaci. To je v souladu s poklesem T4, ale nikoli T3 během HDF. Tato vysvětlení jsou ale pouze teoretická a náš experiment nebyl cílen na určení mechanismu změn.

Ukázali jsme, že dnešní moderní mimotělní eliminační metody náhrady funkce ledvin s použitím ultračisté vody a polysulfonových dialyzátorů o velkém povrchu významným způsobem mění koncentrace TSH a thyroidálních hormonů. Tento účinek je rozdílný pro různé typy procedury. TSH stoupá v průběhu low-flux hemodialýzy, ale klesá během high-flux on-line hemodiafiltrace v postdilučním módu. Heparin není hlavní faktor zodpovědný za vzestup volných frakcí thyroidálních hormonů během procedury.

5. Souhrn – hlavní závěry a doporučení

Závěry stran složení dialyzačního roztoku

- Při použití standardních dialyzačních roztoků s koncentrací vápníku 1,5 mmol/l bez přidaného citrátu stoupá sérová koncentrace vápníku při HD při predialyzační hladině sérového vápníku menší než 2,33 mmol/l pro celkový vápník a 1,33 mmol/l pro vápník ionizovaný. Při použití dialyzačního roztoku s přidaným citrátem (0,8 mmol/l) jsou tyto koncentrace významně nižší – 2,19 mmol/l pro celkový a 1,23 mmol/l pro ionizovaný vápník. To znamená, že stejná koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku (1,5 mmol/l) je spojena s rozdílnou bilancí vápníku, a to v závislosti na přítomnosti citrátu.
- Při použití dialyzačních roztoků s 0,5 mmol/l difuzibilního hořčíku dochází k poklesu jeho sérové koncentrace u většiny pacientů. Při dlouhodobém používání dialyzačních koncentrátů s přidaným citrátem sodným mají pacienti nižší predialyzační a zejména podialyzační sérové koncentrace hořčíku. Při použití roztoků bez citrátu (tj. s obsahem acetátu, 3 mmol/l) dochází během HD k poklesu sérových koncentrací hořčíku, pokud je predialyzační sérová koncentrace celkového hořčíku nad 0,76 mmol/l. V případě dialyzačních roztoků s přídavkem citrátu je predialyzační koncentrace hořčíku, při které nedochází ke změně sérové koncentrace nižší - 0,68 mmol/l. Dřívější praxe, která doporučovala koncentraci 0,5 mmol/l vzhledem k předpokládané hypermagnezémii při selhání ledvin, musí být přehodnocena.
- Rozdílné změny sérových koncentrací vápníku a hořčíku při použití dialyzačních roztoků s přidaným citrátem jsou pravděpodobně zodpovědné za velmi rozdílné změny sérových koncentrací parathormonu při hemodialyzačních procedurách s a bez přidaného citrátu. Při užití koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1,5 mmol/l dochází při standardních dialyzačních roztocích bez citrátu k poklesu parathormonu o 60 %. Při užití roztoku s přidaným citrátem dochází k vzestupu o 4 %.

Doporučení stran složení dialyzačního roztoku

Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Jak vyplývá ze složitosti metabolismu vápníku a jeho bilance, není možné doporučit jednu koncentraci kalcia v dialyzačním roztoku pro všechny pacienty. Jednotlivá doporučení se shodují v potřebě individualizace koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku dle potřeb konkrétního pacienta. Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku je jedna ze složek, které

vytváří celkovou bilanci vápníku v organismu. Při její volbě je tedy třeba přihlížet na stav organismu z pohledu potřeb vápníku, stravovací návyky, současnou léčbu kalcimimetiky, vazači fosfátu, jejich typu a dávce, podávání vitamínu D či jeho analog, stavu kostní remodelace a funkci příštítných tělísek, hemodynamické toleranci dialyzační procedury a dalším faktorům. Základní pro a proti při volbě koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku shrnuje následující tabulka (Tabulka 28).

Tabulka 28 Shrnutí základních doporučení stran volby koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku			
1 mmol/l	1,25 mmol/l	1,5 mmol/l	1,75 mmol/l
	Vyrovnaná bilance vápníku při dialýze		
Negativní bilance vápníku při dialýze		Pozitivní bilance vápníku při dialýze	
Riziko hypokalcémie		Riziko hyperkalcémie	
Možná léčba vitamínem D a Ca obsahujícími vazači fosfátu		Léčba vitamínem D a Ca obsahujícími vazači fosfátu by měla být omezená	
Stimuluje kostní obrát u adynamické kostní choroby		Příznivý pro zachování kostní hmoty	
Riziko hyperparathyreózy		Potlačení aktivity příštítných tělísek	
Snížené riziko mimokostních kalcifikací		Zlepšení hemodynamické tolerance dialýzy	
Riziko výrazně negativní bilance Ca při HD u pacientů s vysokým PTH			

Koncentrace hořčíku v dialyzačním roztoku

Pro hořčík platí obdobné zásady jako pro vápník. Hořčík v dialyzačním roztoku je opět jen jednou součástí, která se podílí na celkové bilanci tohoto iontu v organismu a jeho koncentraci v dialyzačním roztoku je nutno volit s ohledem na stav pacienta a další složky, které se podílí na bilanci hořčíku. Některé potenciální výhody a nevýhody, které bychom měli zvažovat, jsou shrnuty v následující tabulce (Tabulka 29).

Tabulka 29 Shrnutí základních doporučení stran volby koncentrace hořčíku v dialyzačním roztoku

Koncentrace hořčíku v dialyzačním roztoku		
0,25 mmol/l	0,5 mmol/l	0,75 mmol/l
	Vyrovnaná bilance Mg při dialýze	
Negativní bilance hořčíku při dialýze		Pozitivní bilance hořčíku při dialýze
Riziko hypomagnezémie		Riziko hypermagnezémie
Možná léčba Mg obsahujícími vazači fosfátu		Léčba Mg obsahujícími vazači fosfátu by měla být omezená
Riziko hyperparathyreózy		Potlačení aktivity příštítných tělísek
Snížení kontraktility myokardu a zvýšení výskytu intradialyzačních hypotenzí		Zlepšení hemodynamické tolerance dialýzy (zejména při použití roztoků s nízkou koncentrací vápníku)
Vyšší výskyt s HD asociovaných bolestí hlavy		Snížené riziko mimokostních kalcifikací
Vyšší četnost křečí při HD		Prodloužení PR, ST, QRS

Použití dialyzačních roztoků s přidaným citrátem

Při použití těchto dialyzačních roztoků dochází (ve srovnání s roztoky bez citrátu se stejnou koncentrací vápníku a hořčíku) k většímu poklesu sérových koncentrací vápníku a hořčíku a pravděpodobně k jejich většímu odstranění z organismu. Zároveň dochází k výrazně větší stimulaci aktivity příštítných tělísek. Při volbě konkrétního roztoku je nutno s těmito účinky počítat a volit je pro pacienty s adynamickou kostní chorobou nebo volit roztoky s vyššími koncentracemi vápníku, eventuálně i hořčíku.

Ostatní závěry a doporučení

- Predialyzační sérové koncentrace fosforu vykazují u dialyzovaných pacientů velkou variabilitu. Během účinnějších HDF procedur (hodnoceno Kt/Vurea) dochází k výraznějšímu poklesu fosfatémie. Jsou-li ostatní parametry procedury srovnatelné (zejména délka procedury), lze při těchto procedurách předpokládat větší množství odstraněného fosforu (eliminace nejen difusí, ale i aditivní konvektivní transport). To se však neprojevuje v predialyzačních koncentracích. Ty jsou dány řadou dalších, velmi dobře známých faktorů, zejména příjmem fosforu potravou a užíváním vazačů fosfátů.

Hemodialyzační procedura je ale jedním z faktorů, který se podílí na fosfátové bilanci pacientů a vyšší účinnost procedury může napomoci ve zvýšení eliminace fosfátů z organismu, hlavním problémem eliminace fosforu vzhledem ke kompartmentové distribuci je délka procedury.

- Dávka 5000 IU cholekalciferolu týdně je účinná a bezpečná u hemodialyzovaných pacientů. U hemodialyzovaných pacientů se sekundární hyperparathyreózou může být suplementace cholekalciferolem bezpečně kombinována s podáváním aktivátorů receptoru pro vitamin D.
- Koncentrace sklerostinu v séru u pacientů se selháním ledvin jsou zvýšeny oproti kontrolám, avšak mezi jednotlivými pacienty jsou vysoce variabilní; jsou však v čase stabilní a nejsou ovlivněny několikaměsíční léčbou aktivátory receptoru pro vitamin D.
- Třetí generace metod pro stanovení parathormonu poskytuje o 27 % (DiaSorin) eventuálně 34 % (Roche) nižší hodnoty ve srovnání s druhou generací metod daných firem.
- Opakované dávky denosumabu mohou být s dobrým klinickým účinkem podávány hemodialyzovaným pacientům v pečlivě zvolené indikaci. Při komplexní terapii není hypokalcémie natolik závažná, aby byla kontraindikací k léčbě a příznivé účinky denosumabu převažují, avšak jde o jednotlivé případy.
- Dnešní moderní mimotělní eliminační metody náhrady funkce ledvin s použitím ultračisté vody a polysulfonových dialyzátorů o velkém povrchu významným způsobem mění koncentrace TSH a thyroidálních hormonů. Tento účinek je rozdílný pro různé typy procedury. TSH stoupá v průběhu low-flux hemodialýzy, ale klesá během high-flux on-line hemodiafiltrace v postdilučním módu. Sérové koncentrace volných hormonů štítné žlázy stoupají v průběhu HD a HDF obdobně. Heparin není hlavní faktor zodpovědný za vzestup volných frakcí thyroidálních hormonů během procedury.
- Hodnoty CTx a P1NP jsou u hemodialyzovaných pacientů výrazně zvýšené v důsledku chybějící renální eliminace i vysokého kostního obratu. Ve srovnání s HD dochází při HDF k výraznému přechodnému poklesu CTx i P1NP.
- Při hemodialyzačních procedurách dochází k významnému poklesu kožního prokrvení. K závažnému poklesu prokrvení dochází i u pacientů, kteří mají během procedury

stabilní rutinně používané klinické ukazatele hemodynamické stability – krevní tlak a puls. Dobrým prediktorem prokrvení kůže po HD je relativní změna objemu krve během procedury. K menšímu poklesu prokrvení dochází u pacientů, kteří vykazují po HD vyšší hydrataci. K výraznějšímu poklesu prokrvení dochází u pacientů s vyššími koncentracemi asymetrického dimethylargininu, určitou roli mají i vyšší koncentrace fosforu, resp. fosfokalciového součinu.

6. Literatura

Adragao T et al. A plain X-ray vascular calcification score is associated with arterial stiffness and mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 997-1002.

Agarwal M, Csongradi E, Koch AC. Severe symptomatic hypocalcemia after denosumab administration in an end-stage renal disease patient on peritoneal dialysis with controlled secondary hyperparathyroidism. *British J Med Medical Research* 2013; 3: 1398-1406.

Ahmad S et al. Dialysate made from dry chemicals using citric acid increases dialysis dose. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 493-499.

Alem AM et al. Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2000; 58(1): 396-399.

Alsaran K et al. Free thyroxine, free triiodothyronine and thyroid-stimulating hormone before and after hemodialysis in Saudi patients with end-stage renal disease: Is there any difference? *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2011;22:917-21.

Anand S et al. Vitamin D deficiency and mortality in patients receiving dialysis: the Comprehensive Dialysis Study. *J Ren Nutr* 2013; 23: 422-427.

Antlanger M et al. Blood volume-monitored regulation of ultrafiltration to decrease the dry weight in fluid-overloaded hemodialysis patients: a randomized controlled trial. *BMC Nephrol* 2017; 18: 238.

Ardawi MS et al. Decreased serum sclerostin levels in patients with primary hyperparathyroidism: a cross-sectional and a longitudinal study. *Osteoporos Int* 2012; 23(6):1789-97.

Argiles A et al. Precise quantification of dialysis using continuous sampling of spent dialysate and total dialysate volume measurement. *Kidney Int.* 1997; 52: 530-537.

Argilés A, Mion CM and Thomas M. Calcium balance and intact parathormone variations during haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2083-2089.

Armas LAG et al. 25-Hydroxyvitamin D response to cholecalciferol supplementation in hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 1428-1434

Armas LAG et al. Calcium absorption response to cholecalciferol supplementation in hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 1003-1008

Assimon MM and Flythe JE. Rapid ultrafiltration rates and outcomes among hemodialysis patients: re-examining the evidence base. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2015; 24 (6): 525-530.

Bellazzi R et al. Acute effects of repetitive hemodialysis on circulating immunoreactive parathyroid hormone levels in uremic patients undergoing vitamin D (Calcitriol) therapy. *Nephron* 1991; 57: 273-282.

Block GA et al. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2208-2218.

Block GA et al: A single-dose study of denosumab in patients with various degrees of renal impairment. *J Bone Miner Res* 2012; 27: 1471-1479.

Blumberg A et al. Plasma potassium in patients with terminal renal failure during and after hemodialysis; relationship with dialytic potassium removal and total body potassium. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:1629-1634.

Bouillon R, Verberckmoes R and Moor PD. Influence of dialysate calcium concentration and vitamin D on serum parathyroid hormone during repetitive dialysis *Kidney Int*. 1975; 7: 422-432.

Brandenburg VM et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrol* 2013; 14: 219. doi: 10.1186/1471-2369-14-219.

Braunlin W et al. Bile acid binding to sevelamer HCl. *Kidney Int* 2002; 62: 611-619.

Bussiere FI et al. Protective effect of calcium deficiency on the inflammatory response in magnesium-deficient rats. *Eur J Nutri*. 2002; 41: 197-202.

Cejka D et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(1):226-30.

Clinical practice guidelines and clinical practice recommendations 2006 updates: hemodialysis adequacy and peritoneal dialysis adequacy vascular access. *Am J Kidney Dis* 2006;48(Suppl.1):S53.

Covic A et al. Systematic review of the evidence underlying the association between mineral metabolism disturbances and risk of all-cause mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular events in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1506-1523.

Cozzolino M et al. Pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 429-436.

Cummings SR et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Eng J Med* 2009; 361: 33-41

Cunningham J, Locatelli F and Rodriquez M. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 913-921.

Cunningham J and Zehnder D. New vitamin D analogs and changing therapeutic paradigms. *Kidney Int* 2011; 79: 702-707.

Cunningham J. Supplemental vitamin D: will do no harm and might do good. *Nat Nephrol Rev* 2009; doi:10.1038/nmeph.2009.143.

Czyzewski L et al. Comparison of 3 times a week 4- and 5-hour in-center hemodialysis sessions with use of continuous non-invasive hemodynamic monitoring. *Ann Transplant* 2017; 22: 346-353.

Dasselaar JJ et al. Haemodialysis is associated with a pronounced fall in myocardial perfusion. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 604-610.

Dolley-Hitze T, Oger E, Hamel D et al. Is anticoagulation discontinuation achievable with citrate dialysate during HDF sessions? *Int J Neph* 2016, 8p, ID 9185413.

Drechsler C et al. for the NECOSAD Study Group. Vitamin D status and clinical outcomes in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 1024-1032.

Drueke T. Beta-2-microglobulin. *Semin Dial* 2009; 22:378-80.

Dusilová Sulková S a Lopot F. On-line hemodiafiltrace – definice, účinnost a bezpečnost: základní dokument evropské iniciativy EUDIAL a komentované výsledky kontrolovaných prospektivních studií. *Aktuality v nefrologii* 2014; 20 (1): 43-49.

Feliciani A et al. New strategies in haemodiafiltration (HDF): prospective comparative analysis between on-line mixed HDF and mid-dilution HDF. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1672-1679.

Fernandez E et al. Low-calcium dialysate stimulates parathormone and its long-term use worsens secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol*. 1995; 6: 132-135.

Flythe JE, Assimon MM and Overman RA. Target weight achievement and ultrafiltration rate thresholds: potential patient implications. *BMC Nephrol* 2017; 18: 185.

Flythe JE et al. Associations of posthemodialysis weights above and below target weight with all-cause and cardiovascular mortality. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10 (5): 808-816.

Gabutti L et al. Citrate- vs. acetate-based dialysate in bicarbonate haemodialysis: consequences on haemodynamics, coagulation, acid-base status, and electrolytes. *BMC Nephrol*. 2009; 10(7).

Goffin E, Oliveira DBG, Raggatt P, Evans DB. Assessment of the thyroid function of patients undergoing regular haemodialysis. *Nephron* 1993;65:568-72.

González EA et al. Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease. A single center observational study. *Am J Nephrol* 2004; 24: 503-510.

Goodman WG et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage disease who are undergoing dialysis. *N Eng J Med* 2000; 342: 1478-1483.

Goodman WG et al. Vascular calcification in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 572-579.

Gotch FA et al. The KDIGO guideline for dialysate calcium will result in an increased incidence of calcium accumulation in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2010; 78: 343-350.

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.

Horacek J, Dusilova Sulkova S, Kubisova M et al. Thyroid hormone abnormalities in hemodialyzed patients: low triiodothyronine as well as high reverse triiodothyronine are associated with increased mortality. *Physiol Res* 2012; 61:495-501.

Hou SH et al. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. *Am J Kidney Dis* 1991; 28(2): 217-224.

Hsu CW et al. High-calcium dialysate: A factor associated with inflammation, malnutrition and mortality in non-diabetic maintenance haemodialysis patients. *Nephrology* 2010; 15: 313-320.

Chazot C et al. Importance of normohydration for the long-term survival of haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27: 2404-2410.

Choi C-Y et al. Intra-dialytic hypertension is associated with high mortality in hemodialysis patients. *PLoS ONE* 2017; 12 (7): e0181060.

Icardi A et al. Renal anemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: a potential role of inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 28: 1672-1679.

Ivanov P and Khedr M. Prolonged hypocalcemia following a single dose of 60 µg denosumab in two patients with CKD4/5 on cinacalcet treatment for tertiary hyperparathyroidism. *Clin Kidney J* 2013; doi:10.1093/ckj/sft014.

Ing ST, Rahman AM and Kjellstrand MC: Dialysis History, development and promise. *World Scientific Publishing* 2012.

Jean et al. Prevention of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients: the key role of native vitamin D supplementation. *Hemodialysis Int* 2010; 14: 486-491.

Jones G. Why dialysis patients need combination therapy with both cholecalciferol and a calcitriol analog? *Semin Dial* 2010; 23: 239–243.

Kandula P et al. Vitamin D supplementation in chronic kidney disease: A systematic review and meta-analysis of observational studies and randomized controlled trials. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 50-62.

Karohl C et al. Effects of bone remodeling on calcium mass transfer during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1244-1251.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease—Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2017;7:1–59.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney International* 2009; 76 (Suppl 113): S1-S130.

Kossmann RJ et al. Increased efficiency of hemodialysis with citrate dialysate: A prospective controlled study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1459-1464.

Kurz P et al. Evidence for abnormal calcium homeostasis in patients with adynamic bone disease. *Kidney Int* 1994; 46(3): 855-861.

Kyriazis J et al. Dialysate calcium profiling during hemodialysis: Use and clinical implications. *Kidney Int.* 2002; 61: 276-287.

Kyriazis J et al. Dialysate magnesium level and blood pressure. *Kidney Int.* 2004; 66: 1221-1231.

Leung KCW et al. Citrate vs. acetate dialysate on intradialytic heparin dose: A double blind randomized crossover study. *Hemodial Int.* 2016; 20: 537-547.

Lim V. Thyroid function in patients with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 2001;38 (Suppl.1):S80-84.

Lin YP et al. Plasma Protein Characteristics of Long-Term Hemodialysis Survivors. *PLoS One* 2012;7(7):e40232. doi: 10.1371/journal.pone.0040232. Epub 2012 Jul 6.

Locatelli F et al. Optimal composition of the dialysate, with emphasis on its influence on blood pressure. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 785-796.

London GM et al. Mineral metabolism and arterial functions in end-stage renal disease: potential role of 25-hydroxyvitamin D deficiency. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 613-620.

Lopot F, Švára F a Polakovič V. Bicarbonátová hemodialýza s A-konzentrátem s kyselinou citrónovou (Citrasate). *Aktuality v nefrologii*. 2009; 15 (3): 105-110.

Maduell F et al. High-efficiency postdilution online hemodiafiltration reduces all-cause mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24:487-97.

Malá A et al. Metody k posouzení hydratace hemodialyzovaného pacienta. *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (2): 57-62.

Malberti F et al. Calcium balance and serum ionized calcium fluctuations in on-line haemofiltration in relation to ultrafiltration rate and dialysate calcium concentration. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1759-1764.

Malberti F and Ravani P. The choice of the dialysate calcium concentration in the management of patients on haemodialysis and haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: suppl 7 vii37-40; discussion vii57.

McCormick BB, Davis J and Burns KD. Severe hypocalcemia following denosumab injection in a hemodialysis patient. *Am J Kidney Dis* 2012; 60: 626-628.

Meijers B et al. A noninferiority trial comparing a heparin-grafted membrane plus citrate-containing dialysate versus regional citrate anticoagulation: results of the CiTED study. *Nephrol Dial Transplant* 2017; 32: 707-714.

Melamed ML and Thadhani RI. Vitamin D therapy in chronic kidney disease and end stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 358-365.

Melan A et al. Assessment of acute parathyroid responsiveness to high calcium dialysate in uremic patients. *Int J Artif Organs* 1993; 16: 711-715.

Meuwese CL et al. Baseline levels and trimestral variation of triiodothyronine and thyroxine and their association with mortality in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 131-38.

Michaud J et al. Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 1488–1497.

Miller JE et al. Association of cumulatively low or high serum calcium levels with mortality in long-term hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2010; 32: 403-413.

Moe SM. Vascular calcification: the three-hit model. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1162-1164.

Moorthi RN, Kandula P and Moe SM. Optimal vitamin D, calcitriol and vitamin D analog replacement in chronic kidney disease: to D or not to D: that is the question. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 354-359.

National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(Suppl 3): S1-S202.

Nicolas TL et al. Chronic kidney disease and bone fracture: a growing concern. *Kidney Int* 2008; 74(6): 721-731.

Nigwekar SU, Bhan I and Thadhani R. Ergocalciferol and cholecalciferol in CKD. *Am J Kidney Dis* 2012; 60: 139-156.

Nistor I, Palmer SC and Craig JC. Convective versus diffusive dialysis therapies for chronic kidney failure: an updated systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis* 2014; doi: 10.1053/j.ajkd.2013.12.004.

Ohtake T et al. Cardiovascular protective effects of on-line hemodiafiltration: comparison with conventional hemodialysis. *Ther Apher Dial* 2012; 16: 181-88.

Ok E et al. Reduction of dialysate calcium level reduces progression of coronary artery calcification and improves low bone turnover in patients on hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 2475-2486.

Ozkahya M et al. Long-term survival rates in haemodialysis patients treated with strict volume control. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3506-3513.

Panichi V et al. Acute suppression of parathyroid activity during hemofiltration. *Blood Purif* 1996; 14: 15-19.

Patel T, Singh AK. Role of vitamin D in chronic kidney disease. *Semin Nephrol* 2009; 29: 113-121.

Pedrini LA and Cristofaro V. On-line mixed hemodiafiltration with a feedback for ultrafiltration control: effect on middle molecule removal. *Kidney Int* 2003; 64(4): 1505-1513.

Peris AR et al. Kinetics of calcium, phosphate, and magnesium and PTH variations during hemodiafiltration. *Nefrologia* 2007; 27 (5): 593-598.

Pilz S et al. Vitamin D status and mortality in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 3603-3609.

Pirkle JL et al. Effects of weight-based ultrafiltration rate limits on intradialytic hypotension in hemodialysis. *Hemodialysis International* 2017; doi: 10.1111/hdi.12578.

Ravani P et al. Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008; 75: 88-95

Reddan DN et al. Intradialytic blood volume monitoring in ambulatory hemodialysis patients: a randomized trial. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (7): 2162-9.

Rhee CM. Hypothyroidism and mortality among dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013; 8: 593-601.

Richtrova P et al. Citrate-buffered dialysis solution (Citrasate) allows avoidance of anticoagulation during intermittent hemodiafiltration – at the cost of decreased performance and systemic biocompatibility. *Artif Organs* 2017; 41(8): 759-766.

Ronco C et al. Impact of biofeedback-induced cardiovascular stability on hemodialysis tolerance and efficiency. *Kidney Int.* 2000; 58(2): 800-808.

Rudnicki M et al. Actual ionized calcium (at actual pH) and adjusted ionized calcium (at pH 7.4) in hemodialyzed patients. *Clin Chem* 1992; 38: 1384-1388.

Rudnicki M et al. Serum ionized calcium, parathyroid hormone and phosphate in uremic patients during and between hemodialysis. *Clin Nephrology* 1993; 40 (4): 225-229.

Saha H et al. Acute effect of dialysate calcium concentration and intravenous vitamin D3 on the secretion of parathyroid hormone in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1992; 38 (3): 145-148.

Sakurai S et al. Thyroid functions before and after maintenance hemodialysis in patients with chronic renal failure. *Endocrinol Japon* 1988;35:865-76.

Seyffart G, Schultz T and Stiller S. Use of two calcium concentrations in hemodialysis. *Clin Nephrol* 2009; 71(3): 296-305.

Shamsadini S et al. Creatinine, blood urea nitrogen and thyroid hormone levels before and after haemodialysis. *East Mediterr Health J* 2006; 12: 231-35.

Schmitz M et al. Effects of citrate dialysate in chronic dialysis: a multicentre randomized crossover study. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 1327-1334.

Sigrist M and McIntyre CW. Calcium exposure and removal in chronic hemodialysis patients. *J Renal Nutr* 2006; 16 (1): 41-46.

Slatopolsky E et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *N Engl J Med* 1986; 315: 157.

Slatopolsky E et al. Long term effects of calcium carbonate and 2.5 mEq/L calcium dialysate on mineral metabolism. *Kidney Int* 1989; 36: 897.

Slatopolsky E, Brown A and Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 1999; 56: S14-S19.

Slowinski T et al. Safety and efficacy of regional citrate anticoagulation in continuous venovenous hemodialysis in the presence of liver failure: the Live Citrate Anticoagulation

Threshold (L-CAT) observational study. *Crit Care* 2015; 19: 349. DOI: 10.1186/s13054-015-1066-7.

Spasovski G et al. Improvement of bone and mineral parameters related to adynamic bone disease by diminishing dialysate calcium. *Bone* 2007; 41:698-703.

Stefansson BV et al. Intradialytic hypotension and risk of cardiovascular disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9: 2124-2132.

Stubbs JR et al. Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 353–361.

Szeto CC and Kam-Tao Li P. The use of vitamin D analogues in chronic kidney diseases: possible mechanisms beyond bone and mineral metabolism. *NDT Plus* 2009; doi: 10.1093/ndtplus/sfp034.

Šafránek R et al. Volba koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku – literární přehled a kazuistická sdělení, *Aktuality v nefrologii* 2011; 17 (3): 113-123.

Talreja DB. Severe hypocalcemia following a single injection of denosumab in a patient with renal impairment. *J Drug Assessment* 2012; 1: 33-36.

Taskapan H, Wei M and Oreopoulos DG. 25(OH) Vitamin D3 in patients with chronic kidney disease and those on dialysis: rediscovering its importance. *Int Urol Nephrol* 2006; 38: 323-329.

Tattersall JE, Ward RA on behalf of the EUDIAL group. Online haemodiafiltration: definition, dose quantification and safety revisited. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 22: 542-50.

Tokmak F et al. High-dose cholecalciferol to correct vitamin D deficiency in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 4016-4020.

Torregrosa JV. Dramatic increase in parathyroid hormone and hypocalcemia after denosumab in a kidney transplanted patient. *Clin Kidney J* 2013; 6: 122; doi 10:1093/ckj/sfs158.

Uhlig K et al. KDOQI US commentary on the 2009 KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, and treatment of CKD-Mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Am J Kidney Dis* 2010; 55: 773-799.

Ungprasert O et al. Life-threatening hypocalcemia associated with denosumab in a patient with moderate renal insufficiency. *Am J Emergency Med* 2013; 31: 756e1-756e2.

Van der Sande F et al. Effect of dialysate calcium concentrations on intra-dialytic blood pressure course in cardiac-compromised patients. *Am J Kidney Dis*. 1998; 32: 125-131.

Van Kuijk W et al. Influence of changes in ionized calcium on cardiovascular reactivity during hemodialysis. *Clin Nephrol*. 1997; 47: 190-196.

Vondracek SF and Hoody DW. Combination vitamin D therapy in stage 5 chronic kidney disease. *Ann Pharmacother* 2011; 45: 1011-1015.

Vykoukalová E et al. Sclerostin in chronic kidney disease and kidney failure: A review of the current literature [Sklerostin Při Chronickém Onemocnění A Selhání Ledvin: Literární Přehled Současných Poznatků] *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (4), 138-146.

Wagner M et al. Predicting mortality in incident dialysis patients: an analysis of the United Kingdom Renal Registry. *Am J Kidney Dis* 2011; 57(6): 894-902.

Weiner D and Watnick S. The ESRD quality incentive program – can we bridge the chasm? *J Am Soc Nephrol* 2017; 28 (6): 1697-1706.

Weissel M et al. Center-specific variations of thyroid hormone serum levels in hemodialysis patients. *Nephron* 1986;44:212-16.

Wolf M et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007; 72: 1004-1013.

Yokoyama K et al. The negative Ca²⁺ balance is involved in the stimulation of PTH secretion. *Nephron* 2002; 92: 86-90.

Yokoyama K et al. Vitamin D receptor gene polymorphism detected by digestion with Apal influences the parathyroid response to extracellular calcium in Japanese chronic dialysis patients. *Nephron* 2001; 89: 315-320.

Young EW et al. Predictors and consequences of altered mineral metabolism: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2005; 67: 1179-1187.

Yu S et al. Parathyroid hormone increases activating transcription factor 4 expression and activity in osteoblasts: requirements for Osteocalcin gene expression. *Endocrinology* 2008; 149: 1960-1968.

7. Přílohy – publikace autora související s tématem práce

Příloha č. 1: Šafránek R, Kubišová M, Moučka P, Dusilová Sulková S. Volba koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku – literární přehled a kazuistická sdělení, *Aktuality v nefrologii* 2011; 17 (3): 113-123. Str. přílohy č. 104-115.

Příloha č. 2: Safránek R, Moučka P, Vavrova J, Palicka V, Pavlikova L, Sulkova SD. Changes of serum calcium, magnesium and parathyroid hormone induced by hemodialysis with citrate-enriched dialysis solution. *Kidney Blood Press Res* 2015; 40(1): 13-21. (IF 2,908) Str. přílohy č. 116-125.

Příloha č. 3: Víšek J, Kubišová M, Lášticová M, Hegerová P, Šafránek R, Sobotka L, Bláha V. Komplexní účinky vitamínu D v lidském organismu *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 2012; 15 (4): 258-263. Str. přílohy č. 126-132.

Příloha č. 4: Dusilova-Sulkova S, Safránek R, Vavrova J, Horacek J, Pavlikova L, Palicka V. Low-dose cholecalciferol supplementation and dual vitamin D therapy in haemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2015; 47(1):169-176. (IF 1,292) Str. přílohy č. 133-142.

Příloha č. 5: Dusilova Sulkova S, Horacek J, Safránek R, Gorun P, Viklicky O, Palicka V. Denosumab associated with bone density increase and clinical improvement in a long-term hemodialysis patient. Case report and review of the literature. *Acta medica (Hradec Králové) / Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Králové* 2014; 57 (1): 30-33. Str. přílohy č. 143-147.

Příloha č. 6: Horáček J, Dusilová Sulková S, Kubišová M, Safránek R, Malířová E, Kalousová M, Sviliš I, Malý J, Sobotka L, Zák P. Thyroid hormone abnormalities in hemodialyzed patients: low triiodothyronine as well as high reverse triiodothyronine are associated with increased mortality. *Physiol Res.* 2012 Dec 14;61(5):495-501. (IF 1,531) Str. přílohy č. 148-155.

Příloha č. 7: Kalousová M, Dusilova-Sulkova S, Zakiyanov O, Kostirova M, Safránek R, Tesar V, Zima T. Vitamin D binding protein is not involved in vitamin D deficiency in patients with chronic kidney disease. *Biomed Res Int.* 2015; 492365. (IF 2,134) Str. přílohy č. 156-164.

Příloha č. 8: Šafránek R, Mistrík E, Kalousová M, Sobotka L, Moučka P, Dusilová Sulková S. Asymetrický dimethylarginin negativně ovlivňuje prokrvení kůže v průběhu hemodialýzy *Aktuality v nefrologii* 2014; 20 (4): 148-153. Str. přílohy č. 165-171.

Příloha č. 9: Kubišová M, Šafránek R, Ságová M, Horáček J, Podhola M, Dusilová Sulková, S. Pokročilá sekundární hyperparathyreóza při selhání ledvin - Chirurgická či farmakologická léčba? - Popis dvou případů *Osteologicky Bulletin* 2011; 16 (1): 11-15.
..... Str. přílohy č. 172-177.

Příloha č. 10: Vykoukalová E, Dusilová Sulková S, Šafránek R, Vávrová J, Kalousová M, Kohoutová J, Malá A, Ryba M, Pavlíková L, Palička V. Sklerostin při chronickém onemocnění a selhání ledvin: Literární přehled současných poznatků *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (4): 138-146. Str. přílohy č. 178-187.

Příloha č. 11: Malá, A., Šafránek, R., Sedlák, V., Kudela, O., Moučka, P., Dusilová Sulková, S. Methods of assessment of volume status in hemodialysis patients [Metody k posouzení hydratace hemodialyzovaného pacienta] *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (2): 57-62.
..... Str. přílohy č. 188-194.

Přílohy

Příloha č. 1

Šafránek R, Kubišová M, Moučka P, Dusilová Sulková S. Volba koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku – literární přehled a kazuistická sdělení, *Aktuality v nefrologii* 2011; 17 (3): 113-123.

VOLBA KONCENTRACE VÁPNIKU V DIALYZAČNÍM ROZTOKU – LITERÁRNÍ PŘEHLED A KAZUISTICKÁ SDĚLENÍ

CALCIUM CONCENTRATION IN DIALYSIS SOLUTION – REVIEW OF THE LITERATURE AND CASE REPORTS

ROMAN ŠAFRÁNEK, MICHAELA KUBIŠOVÁ,
PETR MOUČKA, SYLVIE DUSILOVÁ SULKOVÁ¹

*Nefrologické oddělení, Klinika gerontologická a metabolická, Fakultní nemocnice Hradec Králové
¹Klinika nefrologie, IKEM, Praha*

ABSTRAKT

Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku je jedna ze složek, které vytváří celkovou bilanci vápníku v organismu. Nesprávná bilance vápníku může být spoluzodpovědná za zvýšenou morbiditu a mortalitu dialyzovaných pacientů. Volba správné koncentrace vápníku pro dialyzační roztok přitom není jednoduchá – je potřeba ji individualizovat dle stavu a potřeb jednotlivých pacientů se zohledněním užívané terapie a dalších faktorů.

Klíčová slova: vápník, dialyzační roztok, hemodialýza, CKD-MBD, kalcifikace, bilance vápníku

ABSTRACT

Hemodialysis is an important component of whole-body calcium balance. Inappropriate selection of calcium concentration for dialysis solution may be responsible for increased morbidity and mortality of hemodialysis patients. Choice of adequate calcium concentration is complicated, have to be individualized, and must take into account number of factors including clinical status of the patient and concomitant medication.

Key words: calcium, dialysis solution, hemodialysis, CKD-MBD, calcifications, calcium balance

VÁPNIK V DIALYZAČNÍM ROZTOKU

Dlouhodobě dialyzovaní pacienti jsou postiženi výraznou tvorbou arteriálních kalcifikací i vyšším rizikem zloomenin. Jedním z mnoha faktorů zvyšujících výskyt těchto komplikací je přebytek nebo nedostatek vápníku v organismu. Volba koncentrace vápníku v roztoku pro dialyzační proceduru je přitom důležitý faktor podléjící se na vytváření vápníkové bilance našich pacientů (Covic, 2009; Goodman, 2000 a 2004; Cozzolino, 2005; Moe, 2009; Adragao, 2009; Alem, 2000; Nickolas, 2008).

Historický vývoj

Při zavádění dialyzační terapie do širší klinické praxe v 60. letech 20. století byla původně používána koncentrace ionizovaného kalcia v dialyzačním roztoku 1,25 mmol/l. Byla vybrána jako koncentrace, která nejvíce odpovídá plazmatické hladině ionizované kalcia. Při jejím používání ale docházelo často k poklesům plazmatické

koncentrace kalcia, časté byly nekorigovatelné hyperparatyreózy. Proto se brzy přešlo na používání vyšších koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku (1,75 mmol/l) s cílem prevence hypokalcémie, dodávání kalcia při dialýze a prevence renální osteodystrofie.

V 70. letech se stala běžnou substituce aktivního vitamínu D, koncem 80. let se rozšířilo používání vápník obsahujících kalciových vazačů. Touto změnou terapie se zvýšil výrazně perorální příjem vápníku. V případě vysokých dávek vazačů i několikanásobně. Kombinací s aktivním vitamínem D se navíc výrazně zvýšil i absorbovaný podíl. To vedlo v kombinaci s nadále používanou vysokou koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku k velkému zatížení pacientů vápníkem s častou hyperkalcémií (Slatopolsky, 1986). Jedním z možných řešení tohoto problému byl návrat k nižším koncentracím vápníku v dialyzačním roztoku (Slatopolsky, 1989).

V dnešní době je terapie našich pacientů dále obohacena o používání vazačů fosfátů, které neobsahují

Kazuistika a přehledné sdělení

ani aluminium ani kalcium, o analoga vitamínu D a kalcimimetika. Pestřejší terapeutické možnosti významně ovlivňují bilanci vápníku, a to s velkými interindividuálními rozdíly v závislosti na typu a dávkách zvolených léků. Jako důsledek jsou dnes používány koncentrace v širším rozpětí od 1 mmol/l (Gotch, 2010) až po 1,75 mmol/l (Seyffart, 2009). V Japonsku, Austrálii a Evropě převažuje používání koncentrací 1,5 mmol/l, v Americe jsou v průměru používány koncentrace nižší.

Měření bilance vápníku při hemodialyzační proceduře

Sběr veškerého dialyzačního roztoku

Tato metoda je považována za „zlatý standard“ při hodnocení bilance látek při dialyzační proceduře a přes řadu nevýhod je používána do současné doby. Základní nevýhodou je nutnost sběru velkého objemu roztoku (přes 100 l během jedné procedury), potřeba přesné kvantifikace objemu a jeho důkladného míchání před odběrem vzorků.

Hou (1991) popisuje sběr dialyzačního roztoku do kalibrovaných patnáctilitrových nádob. Během procedury celkem 9 sběrů. Koncentrace všech bilancovaných látek jsou měřeny ve všech jednotlivých sběrech. Je tedy možné spočítat přesnou bilanci látek během celé procedury i její vývoj v cca 30minutových intervalech.

Sběr veškerého dialyzačního roztoku za celou proceduru do jedné 200l nádoby používal Argilés (1995 a 1997). Vzorky pro analýzy byly odebírány po důkladném promíchání kalibrovanou pumpou. Obdobně sběr prováděli i jiní autoři (např. Malberti, 1994).

Částečný sběr dialyzačního roztoku

Argilés (1995 a 1997) popisuje částečný sběr dialyzačního roztoku pumpou zapojenou na hadici s použitým dialyzačním roztokem. Sbírána byla v pravidelných intervalech konstantní objem dialyzačního roztoku, který byl následně zachytáván do sběrné nádoby. Tento systém byl pracovištěm úspěšně používán několik let s postupným vylepšováním (např. změna místa odběru dialyzačního roztoku a vyústění do sběrné nádoby z důvodu bakteriální kontaminace). Nevýhodou tohoto systému je ve srovnání s kontinuálním proporčním sběrem jeho menší přesnost (Argilés, 1997). Dalšími nevýhodami uváděnými autory byly možnost bakteriální kontaminace retrogradně při dlouhodobém používání systému, cena jeho používání a nutnost míchání větších objemů pro dosažení přesnosti při odběru vzorků.

Kontinuální proporční sběr dialyzátu

– Za použití peristaltické pumpy, funkčně spojené s dialyzačním přístrojem (Ronco, 2000). Použito speciálního zařízení (QuantiscanTM, Hospal, Girandola, Italy). Při tomto způsobu není nutno sbírat velký objem dialyzátu (sbírána 1/1000), lze snadno spočítat celkovou bilanci látek při proceduře. Vzorkovací pumpa je funkčně svázána s dialyzačním přístrojem a reaguje na jeho aktuální činnost – rychlost toku dialyzačního

roztoku, alarmy, testování systému. Rychlost průtoku dialyzátu a vzorkovací pumpy uváděné výrobcem s variabilitou do 1%. Validováno srovnáním se sběrem veškerého dialyzátu. Používáno v řadě prací různých autorů, např. i při výpočtu bilance kalcia při HD (Sigrist, 2006).

– Pomocí kalibrovaných licích trysek. Použito pro dialyzační přístroje firmy Fresenius. Proporčnost objemu sbíraného dialyzátu k průtoku dialyzačního roztoku dialyzátorem je zajištěna tím, že je sbírán dialyzační roztok z jedné z 25 kalibrovaných licích trysek, kterými protéká použitý dialyzační roztok. Pro dodržení přesnosti je nutná kalibrace před každým měřením (Blumberg, 1997).

– S využitím reverzně zapojené infuzní pumpy (Argiles, 1997). Infuzní pumpa nasává použitý dialyzační roztok krátce za dialyzátorem. Nasává konstantní rychlostí během celé hemodialyzační procedury (autoři používaly rychlosti 4 nebo 10 ml/h). Celkový objem dialyzačního roztoku použitého pro proceduru byl počítán pomocí dvou elektronických počítadel a znalosti objemu bilanční komory. Použito pro dialyzační přístroje firmy Fresenius, ale jak autoři uvádí, díky nezávislosti nasávací pumpy lze použít pro jakékoli dialyzační přístroje. Výhodou je vysoká přesnost srovnatelná s metodou sběru veškerého použitého dialyzačního roztoku. Výraznou nevýhodou tohoto systému je jeho použití na starších přístrojích firmy Fresenius, kde bylo možné jednoduchým způsobem získat informace z výše zmíněných pulzových počítadel a pomocí získaných informací zpřesnit následné výpočty. Z pohledu bilancí objemů tekutin může být problematický i odběr dialyzačního roztoku krátce za dialyzátorem. Naopak výhodou tohoto umístění odběrového místa je neoděbírání dialyzačního roztoku, který obchází dialyzátor při testování systému.

Výpočet z opakovaných měření koncentrací

Příkladem může být opakované měření koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku před a za dialyzátorem se znalostí průtoku dialyzačního roztoku. Výpočet celkové bilance vápníku se provede dle jednoduchého vzorce:

$$\text{Celková bilance vápníku} = D_i - D_o$$

D – celkové množství vápníku, které během procedury vtéká do dialyzátoru (D_i) nebo vytéká z dialyzátoru (D_o) za celou proceduru (mmol/l)

$$D_i = DCa \times QD, D_o = DCa \times (QD + QUF)$$

DCa – koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku (mmol/l)

QD – průtok dialyzačního roztoku (l/h), QUF – ultrafiltrační rychlost (l/h)

Koncentrace vápníku může být měřena v různých intervalech a do vzorce následně dosazena průměrná hodnota. Např. Fernandez (1995) prováděla měření pouze na počátku a na konci dialyzační procedury.

Hlavní výhodou této metody je její jednoduchost. Není nutno sbírat použitý dialyzační roztok. Hlavní nevýhodou je velká nepřesnost metody a nutnost znalosti průtoku dialyzačního roztoku dialyzátorem. Ta je přesně řízena jen u některých dialyzačních přístrojů.

Vliv koncentrace kalcia v dialyzačním roztoku na jeho bilanci při dialyzační proceduře

Zásadním faktorem kalciové bilanci při HD je rozdíl koncentrací ionizovaného kalcia v dialyzačním roztoku a plazmě. Při zahájení dialyzační procedury je faktorem jednoznačně nejdůležitějším. Během dialýzy je velikost bilance ovlivňována i dalšími, níže popsanými faktory. Důležité je, že množství kalcia odstraněného při HD není závislé na celkovém příjmu kalcia v mezidialyzačním období (Sigrisť 2006). Hemodialýza tedy nemůže sloužit jako jakýsi automaticky fungující faktor ve vyrovnání kalciové bilance.

Vliv různých koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku na bilanci vápníku při 4h HD proceduře metodou sběru veškerého dialyzátu studovala např. Hou (1991). Při koncentraci Ca 1,75 mmol/l byla pozitivita bilance při proceduře průměrně 879 mg vápníku, při Ca 1,25 mmol/l 216 mg Ca a negativní bilance (231 mg) byla při koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku 0,75 mmol/l. Na základě výpočtu bilancí vápníku při 4h HD Yokoyama (2002) odhadl vyrovnanou bilanci vápníku při užití dialyzačního roztoku s koncentrací Ca 1,395 mmol/l. Toto následně potvrdil pomocí výpočtu celkové bilance vápníku u 11 náhodně vybraných pacientů.

Dle jiných autorů je negativita bilance dosaženo již při použití dialyzačního roztoku o koncentraci Ca 1,25 mmol/l. Při 4h trvajícím HD byla bilance vápníku negativní u 83 % pacientů, a to -187 ± 232 mg Ca (Sigrisť 2006), Yokoyama uvádí $-94,5$ mg (výpočet z měření na jiných koncentracích) (Yokoyama, 2002). Při použití koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1 mmol/l je bilance vápníku negativní o -645 mg Ca, při koncentraci 1,5 mmol/l je bilance při 4h HD pozitivní o $+456$ mg Ca (Yokoyama, 2002).

Obdobné výsledky ukazuje i recentní práce Karohl (2010) a spolupracovníků. Autoři měřili pomocí sběru veškerého použitého dialyzačního roztoku bilance kalcia při hemodialyzační proceduře u 4 koncentrací kalcia. Přibližně vyrovnané vápníkové bilance bylo dosaženo při koncentraci Ca 1,5 mmol/l dialyzačního roztoku. Negativní při užití koncentrací Ca 1 a 1,25 mmol/l a pozitivní při koncentraci Ca 1,75 mmol/l.

Výrazně negativní bilance vápníku při HDF naměřil metodou sběru veškerého dialyzačního roztoku Malberti (1994). Mírné negativity bylo dosaženo při užití koncentrace Ca 1,75 mmol/l, výrazně negativní při koncentracích nižších. Příčinou těchto výsledků může být velký rozdíl mezi koncentrací vápníku udávanou výrobcem a koncentrací ionizovaného kalcia naměřenou, která byla např. pro roztok 1,75Ca 1,37 mmol/l! Dalším zjištěním je vztah mezi účinností on-line HDF danou rychlostí ultrafiltrace/substituce a bilance vápníku. Při srovnatelných koncentracích ionizovaného vápníku na straně krevní a v dialyzačním roztoku se bilance se změnou účinnosti nemění (tedy zůstává vyrovnaná). Při snížení koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku pod koncentraci ionizovaného vápníku v krvi je bilance vápníku negativní a se zvýšením účinnosti tato negativita dále stoupá.

Tab. 1: Orientační bilance vápníku při dialýze v závislosti na použité koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku

Ca v roztoku (mmol/l)		Bilance vápníku při hemodialýze	
↕	1	Negativní	-600 mg
	1,25		-200 mg
	1,4	Vyrovnaná	0
	1,5	Pozitivní	+ 200 mg
	1,75		+ 800 mg

Velikost ultrafiltrace neovlivňuje zásadním způsobem bilanci kalcia při HD (Sigrisť 2006). Významným faktorem je konvektivní transport při hemodiafiltraci (Malberti, 2003). Vlastní rychlost substituce ale neovlivňuje výrazně bilanci vápníku při on-line HDF (Malberti, 1994). Karohl a spol. (2010) nezjistila vliv užívání vitamínu D, jeho analog ani různých typů vazačů fosfátu na bilanci kalcia při HD. Orientační bilanci vápníku při dialyzační proceduře v závislosti na použité koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku ukazuje tabulka 1.

Co se týká celkové bilance vápníku, Sigrisť (2006) vypočítal pozitivní bilanci kalcia u pacientů dialyzovaných s fixní koncentrací kalcia 1,25 mmol/l, a to i u pacientů bez léčby kalciovými vazači fosfátů. Pozitivita bilance kalcia stoupala s rostoucím příjmem, daným zejména kalciovými vazači fosfátů. Na druhou stranu, velikost ztrát kalcia s vyšší příjmu vápníku nesouvisela.

Vliv jiných faktorů na bilanci kalcia při hemodialýze Vliv stavu kostní remodelace

Stav kostní tkáně zásadním způsobem ovlivňuje celkovou bilanci kalcia při hemodialýze. Karohl a spol. (2010) měřili kromě celkové bilance kalcia několik markerů kostní remodelace: iPTH, osteokalcin, kostní isoformu alkalické fosfatázy, osteoprotegerin a deoxyypyridinolin. Kostní biopsie prováděna nebyla. Pokud rozdělili pacienty do dvou skupin dle iPTH (pod a nad 300 pg/ml), tak skupina s vyšším iPTH měla při stejné predialyzační sérové koncentraci kalcia signifikantně negativnější kalciovou bilanci při dialýze s dialyzačním roztokem o koncentraci Ca 1 mmol/l (-420 ± 219 vs. -783 ± 472 mg/HD proceduru). Možné vysvětlením tohoto jevu je následující: Pool plazmatického vápníku je malý a během HD procedury dochází k nevelkým změnám v koncentraci plazmatického vápníku. Vápníkové ionty jsou tedy ihned deponovány do nebo uvolňovány z poolu mnohem většího. Jeho existenci a kapacitu na matematických modelech dokládá Gotch a spolupracovníci (2010). Jde o pool rychle mobilizovatelného kalcia, který se nachází v kostní tkáni, především jde o vápník navázaný na nekolagenní proteiny kosti. Množství vápníku, které se z kosti může uvolnit nebo které se může do kostní tkáně navázat, je, jak ukázal Kurz a spol. (1994), významně ovlivněno stavem kostní remodelace – je významně snížené u adynamické kostní choroby. V případě hyperparatyreózy je snazší rychlá mobilizace kalcia daná větším poelem Ca vázaného na nekolagenní proteiny, např. osteokalcin, který byl v popisované studii výrazně vyšší ve

Kazuistika a přehledné sdělení

skupině s vyšším iPTH. Osteokalcin, nekolagenní bílkovina s největším zastoupením v kostní tkáni, je syntetizován osteoblasty právě v důsledku stimulace parathormonem (Yu, 2008).

Stav kostní remodelace tím, že ovlivňuje bilanci kalcia při HD, může být jedním z klíčových faktorů velkého interindividuálního rozptylu celkové bilance kalcia při užití určité koncentrace Ca v dialyzačním roztoku. Navíc jde o parametr, který je alespoň orientačně hodnotitelný měřením PTH. Jeho koncentrace je rutinně stanovována v pravidelných intervalech u všech dialyzovaných pacientů a inkorporace tohoto parametru do úvah o volbě koncentrace Ca v dialyzačním roztoku nevyžaduje tedy žádná další vyšetření. Ve skupině pacientů s vysokými hladinami iPTH by tedy jen ve zdůvodněných případech měly být voleny roztoky s nízkými koncentracemi Ca v dialyzačním roztoku (1 a 1,25 mmol/l) (Karoň, 2010).

Dalším z možných faktorů, které mohou při dané koncentraci vápníku v dialyzačním roztoku ovlivňovat jeho bilanci při proceduře, je např. polymorfismus genu pro receptor vitamínu D (Yokoyama, 2002). Při HD s 1,25 mmol/l vápníku byla dle genomu odlišná celková bilance vápníku i odpověď příštítných tělísek co do sekrece PTH při proceduře.

Současná doporučení pro klinickou praxi

Platná současná doporučení nejsou ani jednotná, ani jednoznačná. National Kidney Foundation (New York, United States) ve svých doporučeních (Kidney Disease Outcome Quality Initiative – K/DOQI) z roku 2003 preferuje používání nižších koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku. Upřednostňuje koncentraci 1,25 mmol/l před 1,5 mmol/l. Důvodem je snaha vyhnout se velké náloži vápníku do organismu a předcházet kalcifikacím cév.

KDIGO ve svých doporučeních z roku 2009 navrhuje používání koncentrací kalcia v rozmezí 1,25–1,5 mmol/l. Tyto koncentrace by u většiny pacientů měly zajistit přibližně neutrální bilanci kalcia při hemodialyzační proceduře. V případě pacientů s adynamickou kostní nemocí by neměla být při užívání výše uvedených koncentrací příliš velká pozitivita kalciové bilance, která by byla škodlivá. U pacientů s hypokalcémií lze předpokládat mírně pozitivní bilanci, která je v tomto případě žádoucí. Tato doporučení vychází z malého počtu studií na nemnoha pacientech a nebyla prospektivně testována. Síla doporučení 2D. Úroveň doporučení 2 znamená „navrhujeme, různé možnosti mohou být odpovídající pro různé pacienty“, D znamená „velmi nízká kvalita důkazů, hodnocení účinku je velmi nejisté a může být daleko od pravdy“. Nedostatek dat a nejistota doporučení ukazuje i nutnost hlasování expertní skupiny v tomto bodě. Nové poznatky ani jasnější doporučení nepřináší komentář KDOQI (Uhlig, 2010). Dle některých expertů je vhodné ke snížení positivity kalciové bilance používat koncentrace nižší, a to 1 mmol/l dialyzačního roztoku (Gotch, 2010).

Klinické zkušenosti s používáním různých koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku

Vliv na hemodynamickou stabilitu při dialyzační proceduře

Vápník je prvkem, který má zásadní úlohu v kontraktilitě, a to jak cévní stěny, tak srdeční svaloviny. Výrazné výkyvy jeho koncentrace při dialyzační proceduře mohou tyto procesy klinicky významným způsobem ovlivňovat. Při dialýze s nižší koncentrací vápníku dochází k většímu poklesu krevního tlaku i u osob s normální srdeční funkcí (van Kuijk, 1997). Jev je vysvětlován poklesem kontraktility levokomorové svaloviny. U kardiálně kompromitovaných pacientů používání koncentrace vápníku 1,75 mmol/l vede k lepší hemodynamické toleranci procedury (van der Sande, 1998; Locatelli, 2004).

Lze spekulovat o tom, jestli u pacientů se závažným kardiálním postižením, špatnou hemodynamickou tolerancí procedury a omezeným přežitím, je koncentrace 1,75 mmol/l ta správná volba. Pro tuto skupinu pacientů může být zvýšení kardiální stability při dialýze výrazným přínosem zvyšujícím krátkodobé přežití. Riziko pozitivní vápníkové bilance s následným rozvojem kalcifikací v časově delším horizontu se stává problémem druhořadým.

Intradialyzační hypotenze vzniká obvykle z kombinace řady příčin a nejčastěji k ní dochází v druhé polovině procedury. Snížit výskyt hypotenzí bez navýšení vápníkové nálože si kladlo za cíl profilování vápníku během dialýzy. Dialýza první dvě hodiny probíhala oproti koncentraci vápníku 1,25 mmol/l, další dvě hodiny 1,75 mmol/l. Při takto vedené dialýze pozorovali autoři snížený výskyt intradialyzačních hypotenzí bez zbytečně vysoké nálože vápníku (Kyriazis, 2002).

Jinou, experimentálně ověřenou možností ke zvýšení hemodynamické tolerance dialýzy, a to bez zvýšení positivity vápníkové bilance, je zvýšení koncentrace hořčičku v dialyzačním roztoku na 0,75 mmol/l (Kyriazis, 2004).

Vliv na management sekundární hyperparatyreózy

Dvacetileté klinické zkušenosti s používáním koncentrací 1,5 a 1,75 mmol/l vápníku v dialyzačním roztoku publikoval Seyffart a spol. (2009). Mezi výhody jimi používaných vyšších koncentrací vápníku uvádí velmi nízký výskyt sekundární hyperparatyreózy s extrémně nízkou nutností paratyreoidektomie (1 operace na téměř 400 dialyzovaných pacientů). Autoři přitom nezaznamenali vysoký výskyt hyperkalcémií, četnost měkkotkáňových kalcifikací považovali za nízkou (ale nebylo po nich cíleně pátráno!).

Gotch a spol. (2010) při dlouhodobém používání dialyzačního roztoku o koncentraci 1 mmol/l nepozorovali vzestup hladin iPTH. Naproti tomu Yokoyama (2002) zjistil po převedení pacientů z dialyzačního roztoku o koncentraci vápníku 1,5 na 1,25 mmol/l a jeho měsíčním používání signifikantní vzestup iPTH o 14 %. Nutno poznamenat, že pacienti byli léčeni Ca-obstahujícími vazáči fosfátů, ale nedostávali žádný aktivní vitamin D. Obdobně uspořádaný experiment provedla Fernandez a spol. (1995). Třicet pět pacientů bylo převedeno z dialyzačního roztoku o koncentraci vápníku 1,75 na 1,25 mmol/l

a sledování 1 rok. Zároveň se změnou dialyzačního roztoku byl změněn typ používaného vazáče fosfátu z aluminiového na kalciový. Aktivní vitamin D byl podáván pacientům s iPTH nad 15 pmol/l. Během sledovaného období došlo k výraznému vzestupu parathormonu (z $18,6 \pm 5$ na $33,2 \pm 7$ pmol/l, $p < 0,001$) i alkalické fosfatázy.

Vliv mimotělních eliminačních metod na hladiny parathormonu

Za akutní změny PTH při hemodialyzách odpovídá akutní změna koncentrace ionizovaného kalcia. A to ať již je vyjádřena jako aktuální či korigovaná na pH. Koncentrace iPTH stoupá při poklesu ionizovaného kalcia a naopak (Rudnický, 1993; Panichi, 1996; Peris, 2007; Bellazzi, 1991). Pokud nejsou signifikantní změny koncentrace ionizovaného kalcia, nedochází ani ke změnám PTH (Bellazzi, 1991). Míra poklesu koncentrace PTH při HD je proporcionální s velikostí změny koncentrace ionizovaného kalcia (Saha, 1992).

Vliv aktuální kalcémie je pro změnu PTH při proceduře zásadní a není výrazně ovlivněn volbou metody – platí pro hemodialýzu, hemodiafiltraci i hemofiltraci (Bellazzi, 1991; Panichi, 1996; Bouillon, 1975; Peris, 2007). Zásadním způsobem neovlivňuje změny PTH při dialýze ani vzestup pH či pokles fosfatémie během procedury (Rudnický, 1993).

Změna koncentrace PTH při dialýze odpovídá vápníkové bilanci za danou proceduru. Tak např. Yokoyama (2002), při užití roztoku s $1,395$ mmol/l Ca naměřil vyrovnanou bilanci vápníku. Hodnoty iPTH se při takto vedené dialýze neměnily (181 vs 184 pg/ml). Při koncentraci 1 mmol/l naměřil negativní vápníkovou bilanci a v souladu s tím i vzestup hladiny iPTH během HD. Při hemodialýze tedy dochází k akutnímu poklesu PTH při používání kalcia v dialyzačním roztoku o koncentraci $1,5$ mmol/l (Saha, 1992), $1,75$ mmol/l a vyšší (Bouillon, 1975; Bellazzi, 1991; Melan, 1993). Při použití koncentrace kalcia $1,25$ mmol/l dle některých autorů k signifikantní změně PTH při HD proceduře nedochází (Bellazzi, 1991).

Vliv funkce příštítných tělísek na změny iPTH při proceduře

U pacientů s nedostatečně korigovanou hyperparatyreózou je fyziologická reakce příštítných tělísek na změnu kalcémie potlačena. Panichi (1996) naměřil výrazně větší pokles iPTH při vzestupu kalcémie při hemodiafiltraci ve skupině s iPTH průměrně 124 ± 111 pg/ml ve srovnání se skupinou s iPTH 1015 ± 382 pg/ml. Melan (1993) rozdělil pacienty do 4 skupin dle predialyzační hodnoty PTH a sledoval supresibilitu sekrece PTH při HD s dialyzačním roztokem o koncentraci kalcia $1,75$ mmol/l. K výraznému poklesu iPTH došlo ve skupinách s průměrnou predialyzační koncentrací iPTH 36 , 157 i 452 pg/ml. Nejmenší pokles byl zaznamenán ve skupině s nejvyšší průměrnou koncentrací iPTH – 906 pg/ml. Při vysokých koncentracích kalcia v dialyzačním roztoku ($1,75$ – 2 mmol/l) dochází k signifikantnímu poklesu PTH hladin u pacientů s i bez výrazné hyperparatyreózy (Bellazzi, 1991). Terapie kalcitriolem ani alfakalcidolem nemění míru poklesu PTH danou změnou koncentrací ionizovaného kalcia při HD (Saha, 1992).

Vliv dialyzačních roztoků s vyšší koncentrací vápníku na známky zánětu a celkovou mortalitu

Výsledky observačních studií (Young, 2005; Hsu, 2010) i experimentálních modelů (Bussiere, 2002) naznačují neblahý vliv zvýšených koncentrací vápníku na zvýšení známek zánětu a v případě dialyzovaných pacientů i zvyšování mortality. Příčinná souvislost ale prokázána nebyla. V případě cílené prospektivní studie, která si kladla za cíl odpovědět na otázku vlivu používání různých koncentrací kalcia na mortalitu, byla dvouletá mortalita nejvyšší ve skupině s nejvyšší koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku ($1,75$ mmol/l). Bohužel nešlo o studii randomizovanou, ale do skupiny s dialyzačním roztokem o koncentraci $1,75$ mmol/l byli cíleně zařazeni pacienti, kteří byli během dialýz hemodynamicky nestabilní a tato nestabilita nebyla ovlivnitelná jinou terapií (Hsu, 2010).

Bikarbonátová dialýza s koncentráty roztoků s kyselinou citrónovou

Složení dialyzačních roztoků

Tzv. A-koncentrát pro přípravu dialyzačního roztoku je z důvodu minimalizace srážecí reakce mezi bikarbonátem a chloridem vápenatým okyselován nízkou koncentrací kyseliny. Od 80. let do současnosti je standardně používána kyselina octová (cca 3 – 5 mmol/l). Pro omezení srážení reakce je zapotřebí snížit pH výsledného roztoku pod $7,3$. Za tímto účelem lze teoreticky použít kterékoli druhy kyselin, které nebudou jiným způsobem reagovat se složkami dialyzačního roztoku a nebudou mít nežádoucí vliv na metabolismus dialyzovaných pacientů. Při vývoji suché směsi pro přípravu dialyzačního roztoku byla jako kyselá složka navržena kyselina citrónová (Ahmad, 2000). A-koncentrát s touto kyselinou byl pod obchodním názvem Citrasate k dispozici pro klinické použití nejdříve ve Spojených státech amerických (Advanced Renal Technologies, Kirkland, USA) a od roku 2009 po získání CE certifikátu je možné jeho používání i v České republice (Medites s. r. o., Rožnov pod Radhoštěm). Roztok obsahuje $0,3$ mmol/l acetátu a $0,8$ mmol/l citrátu. To znamená, že celková vazebná kapacita kyselých složek byla zachována, ale větší část kyseliny octové byla nahrazena kyselinou citrónovou. Změna acidifikující složky může mít významný vliv na děje ovlivňující pH, metabolismus vápníku a může mít i některé specifické účinky.

Výsledky klinického použití

Technicky bezproblémové použití Citrasate na různých hemodialyzačních přístrojích používaných v České republice (přístroje firem Fresenius, Gambro, B. Braun a Nikkiso) a jeho základní bezpečnost byla ukázána v práci Lopota (2009). Funkční je regulace koncentrace Na^+ a HCO_3^- v celém rozsahu. Při míchání dialyzačního roztoku bez jakýchkoli alarmů vodivosti. Při stejném nastavení byla při použití Citrasate naměřena tendence k vyšším koncentracím bikarbonátového aniontu a výrazně nižší koncentrace ionizovaného vápníku (o $0,35$ – $0,55$ mmol/l).

Citrasate a kalcium

Při změně z acetátu na kyselinu citrónovou o stejné koncentraci kalcia dochází k poklesu poddialyzační koncentrace ionizovaného kalcia, a to pro koncentrace Ca v dialyzačním roztoku 1,25 i 1,5 mmol/l (Gabutti, 2009). Během 4h trvajících HD je rozdíl v poklesu ionizovaného kalcia 0,08 mmol/l (-7 %). Autoři také srovnávali vliv typu acidifikace roztoku na poddialyzační kalcémii. Podobných změn kalcémie při HD bylo dosaženo, pokud byla koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku Citrasate o 0,25 mmol/l vyšší, nežli v tradičním dialyzačním roztoku s acetátem (Gabutti, 2009).

Při použití dialyzačních roztoků s koncentrací kalcia 1,75 mmol/l naměřil Lopot (2009) o 40 % menší vzestup celkové koncentrace kalcia během HD procedury v případě Citrasatu. Při používání nižších koncentrací vápníku – Citrasate s koncentrací kalcia 1,25 mmol/l byly laboratorně zjišťovány asymptomatické hypokalcémie (Gabutti, 2009).

Používání Citrasate neovlivňuje predialyzační hodnoty ionizovaného kalcia. A to jak při krátkodobém (Gabutti, 2009; Lopot, 2009), tak 6měsíčním používání (Kossmann, 2009).

Vliv použití roztoků s kyselinou citrónovou na acidobazickou rovnováhu

V souladu s tendencí k vyšším koncentracím bikarbonátu při míchání roztoku Citrasate (Lopot, 2009) je naměřen signifikantně vyšších predialyzačních koncentrací bikarbonátu. Ty byly naměřeny i při velmi krátkodobém používání (3 dialýzy) (Gabutti, 2009).

Opačný výsledek – pokles predialyzační koncentrace bikarbonátu byl zjištěn při dlouhodobém používání Citrasate – pokles z $24,0 \pm 3,4$ na $22,5 \pm 3,2$ mmol/l ($p < 0,001$) (Kossmann, 2009). Studium acidobazické rovnováhy nebylo cílem této studie a autoři se k signifikantní změně bikarbonátu ve své práci nevyjadřují. Práce ale na velkém souboru ukazuje, že ani dlouhodobé používání Citrasate nevede k alkalóze.

Vliv použití roztoků s kyselinou citrónovou na hemodynamické parametry

Gabutti (2009) v cross-over studii hodnotí vliv Citrasate na krevní tlak, symptomatickou hypotenzi a neinvazivně měřené další hemodynamické parametry s využitím monitoru Finometer (prstový monitor využívající analýzy pulzové křivky). Při použití Citrasate dochází k poklesu systolického i diastolického krevního tlaku. Pravděpodobnou příčinou je pokles systémové cévní rezistence. Ten je nezávislý na koncentraci použitého kalcia. Autoři použili koncentraci kalcia stejnou, jako u HD bez Citrasate a zvýšenou o 0,25 mmol/l. U pacientů s intradialyzační hypertenzí byl pokles krevního tlaku při použití Citrasate výraznější.

Gabutti zároveň v jednoduše zaslepené studii popisuje trend k lepší subjektivně vnímané toleranci hemodialyzační procedury s Citrasate (16 % pacientů uvádí zlepšení tolerance, 80 % beze změny, 4 % zhoršení). Nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky či příhody.

Vliv použití roztoků s kyselinou citrónovou na účinnost hemodialyzační procedury

Autoři se shodují na tom, že převod na Citrasate zvyšuje účinnost hemodialyzační procedury. Lopot naměřil zvýšení Kt/V o 7 % (2009). Při měřeních na menším počtu pacientů (25) a pouze jednorázovém používání dialyzátorů Gabutti pozoroval při použití Citrasate pouze statisticky nevýznamný trend ke zvýšení Kt/V a významně vyšší odstraněné množství fosforu (Gabutti, 2009). Největší studií s cílem hodnocení změn Kt/V při užívání Citrasate provedl Kossmann a spol. (2009). 142 pacientů bylo převedeno na Citrasate na dobu 6 měsíců. Došlo k vzestupu eKt/V z $1,51 \pm 0,01$ na $1,57 \pm 0,01$ ($p < 0,0001$). V souladu s tím byl naměřen signifikantní pokles predialyzačních hodnot urey, kreatininu, fosfátu a beta2-mikroglobulinu. Zvýšení eKt/V při používání Citrasate bylo trvalé (1 rok). Zato u skupiny, která po 6měsíčním používání Citrasate byla převedena zpět na původní dialyzační roztoky, došlo po převodu k poklesu účinnosti dialýzy. Pravděpodobnou příčinou vzestupu účinnosti HD je vliv citrátu na srážení na membráně dialyzátoru. Větší zvýšení Kt/V lze předpokládat u pacientů s nedostatečnou antikoagulací.

Vliv použití roztoků s kyselinou citrónovou na systémovou koagulaci

Jednou z možností hodnocení aktivace systémové koagulace je měření koncentrací komplexů trombin-antitrombin a protrombinových fragmentů 1+2. Při srovnání jejich koncentrací při používání Citrasate a acetátem acidifikovaného dialyzačního roztoku nebyly zjištěny při HD proceduře signifikantní rozdíly (Gabutti, 2009).

Naproti tomu Lopot (2009) ukázal vliv Citrasate na systémovou koagulaci pomalejším poklesem aktivovaného srážecího času k normálním hodnotám po podání heparinu (kvantifikováno výpočtem eliminační konstanty Ke).

PŘÍKLADY Z KLINICKÉ PRAXE – KAZUISTIKY

Kazuistika – terciární hyperparatyreóza

Žena, 32 let. Do pravidelného dialyzačního programu zařazena před 5 lety po medikamentózní nefrektomii pro nezvládnutelný nefrotický syndrom při fokálně segmentární glomeruloskleróze. Její rekurence po transplantaci ledviny byla příčinou selhání štěpu po 10 měsících od trasplantace s návratem pacientky do dialyzační léčby, během které opakovaně nutnost hospitalizace pro psychózu. Na RTG rukou bez zjevných arteriálních kalcifikací. Léková compliance sporná.

Během dialyzační terapie se rozvinula závažná hyperparatyreóza. Současně přítomná hyperfosfatémie byla obtížně korigovatelná obvyklým přístupem s podáváním sevelameru. Při léčbě hyperparatyreózy kombinací parikalciolu a cinacalcetu zůstávaly hodnoty iPTH v rozmezí 800–1300 pg/ml. Vzhledem k nedostatečnému efektu medikamentózní terapie a UZ nálezu zvětšených přštítných tělísek byla indikována paratyroidektomie. Před



Graf 1: Koncentrace vápníku a fosforu rok před a rok po provedené parathyreoidektomii

rokem byla bez komplikací odstraněna 4 příštítná tělíska. Jedno tělísko implantováno do infrahyoidních svalů, jedno uloženo do tkáňové banky.

Rozvaha stran používané koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Léčba v počátcích dialyzační terapie není známa zcela přesně pro dialýzy probíhající v několika dialyzačních střediscích. Dle dostupných informací byla pravděpodobně dlouhodobě dialyzována s roztokem o koncentraci vápníku 1,25 mmol/l. Konkomitantní terapie zahrnovala kalcium obsahující fosfátové vazáče a kalcitriol v proměnlivých dávkách v perorální i intravenózní formě. Tato kombinace by mohla zajišťovat pozitivní vápníkovou bilanci u pacienta s ještě mírně přibývajícím kostní hmotou. Lze samozřejmě pouze spekulovat o tom, zda nízká compliance s léky (kalcium obsahující fosfátové vazáče a kalcitriol) v kombinaci s nižší koncentrací vápníku v roztoku se nemohla podílet na nedostatečné VDR stimulaci a rozvoji nekontrolované hyperparatyreózy.

Graf 1 zobrazuje koncentrace vápníku a fosforu za poslední dva roky, tedy rok před a rok po provedené parathyreoidektomii. Průměrné hodnoty iPTH v roce před parathyreoidektomií byly 960 pg/ml, v roce po operaci 60 pg/ml. V roce před operací byla koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku ponechána na 1,25 mmol/l. A to z důvodu vyšší kalcémie, kombinace vápník obsahujících kalciových vazáčů se sevelamerem a parikalcitolem. V období operace byla ukončena léčba parikalcitolem, cinacalcetem a následně i vazači fosfátu (pro normofosfatémií po snížení kostní resorpce). Po operaci, kdy lze předpokládat pozitivní vápníkovou bilanci v kostní tkáni, došlo k obvyklému poklesu kalcémie. Vápník byl substituován zpočátku intravenózně, poté perorálně a zároveň byla navýšena koncentrace Ca v dialyzačním roztoku na 1,75 mmol/l jako součást dodávání vápníku do organismu. Po ukončení substituce byla koncentrace Ca v roztoku snížena na 1,5 mmol/l. Protože po iniciálním pooperačním poklesu iPTH na 12 pg/ml nedošlo ke vzestupu nad 60 pg/ml byla koncentrace Ca v dialyzačním roztoku snížena na 1,25 mmol/l jako součást léčby, která by měla vést ke stimulaci implantované tkáně příštítných tělísek. Protože ani po období



Obr. 1: RTG bérce, který ukazuje měkkotkáňové kalcifikace, četné defekty měkkých tkání a výrazné cévní arteriální kalcifikace

osmi měsíců od operace nedošlo ke zvýšení produkce parathormonu, byla pro trvalý hypokalcémie tato léčba upravena a koncentrace Ca v dialyzačním roztoku navýšena na 1,5 mmol/l s následným mírným vzestupem hladiny sérového vápníku.

Kazuistika – kalcifylaxe

Žena, 75 let. V pravidelném dialyzačním programu je zařazena od roku 2001 pro selhání ledvin při polycystóze. Prodělala infarkt myokardu. V anamnéze má i segmentární plicní embolizaci, hypotyreózu, osteoporózu a depresivní syndrom. Farmakologická léčba pacientky je komplikována alergií na řadu léků včetně Renagelu. RTG bérce ukázal výrazné měkkotkáňové kalcifikace v dolní polovině bérce, četné defekty měkkých tkání, výrazné cévní arteriální kalcifikace. Skelet intaktní, bez známek osteomyelitidy (obr. 1). Pacientka si při obvyklé hemodialýze stěžuje na bolesti v pravém bérce, které trvají 4 dny, před dvěma dny se začal vyvíjet kožní defekt. Stanovena předběžná diagnóza kalcifylaxe a ihned učiněna standardní terapeutická opatření. Popisovaný defekt na bérce dosáhl maxima 3 cm v průměru a k jeho zhojení došlo po dvou měsících intenzivní terapie.

Rozvaha stran používané koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Součástí léčby kalcifylaxe je omezení přísunu vápníku do organismu. Kromě úpravy perorální medikace je tedy součástí léčby i snížení koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku. V našem případě jsme zvolili snížení z 1,5 na 1,25 mmol/l. Při neuzívání vápník obsahujících léků a současném prodloužení a zvýšení frekvence HD lze předpokládat negativní bilanci vápníku. Jak ukazuje graf 2, v kombinaci s léčbou cinacalcetem nasazeným při stanovení diagnózy kalcifylaxe došlo k poklesu vápníku

Kazuistika a přehledné sdělení



Graf 2: Vývoj sérových koncentrací vápníku a fosforu

pod 2 mmol/l. Hypokalcémie přetrvávala i po vysazení cinacalcetu (pro intoleranci) a podílela se na výrazném vzestupu hladiny iPTH. Proto současně s malou dávkou parikalciolu byla navýšena koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku na 1,5 mmol/l s následným vzestupem kalcémie do normálních hodnot.

Kazuistika – sekundární hyperparatyreóza

Žena, 76 let. Pacientka po levostranné nefrektomii pro tuberkulózu v roce 1990. Pro diabetickou nefropatii pravostranné ledviny v roce 2003 zahájen pravidelný dialyzační režim. Dále se pacientka léčí s arteriální hypertenzí, hypotyreózou, hypercholesterolemií. Má hypertrofii levé komory, méně významné chlopní vady a při HD zachyceny paroxysmy fibrilace síní, 1× s rychlou odpovědí komor s klinickou symptomatologií. RTG rukou ukazuje mediokalcinózu tepen obou zápěstí. Dle analýzy předepisovaných léků množství užívaných tablet zdaleka nedosahuje doporučeného dávkování.

Během dialyzační terapie se u pacientky vyvinula hyperparatyreóza. Základní data jsou shrnuta v tabulce 2.

Rozvaha stran používané koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Od počátku dialyzačního léčení používána koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1,75 mmol/l za současné substituce vitamínu D alfakalcidolem, bez nutnosti podávání vazačů fosfátu a substituce vápníkem. Můžeme spekulovat, že tato kombinace dohromady s předpokládaným nižším perorálním příjmem vápníku může dávat vyrovnanou či spíše pozitivní bilanci, která může být riziková pro rozvoj cévních kalcifikací. Výhodou této léčby by mohla být lepší kardiální tolerance dialýzy.

V březnu 2007 při výrazném vzestupu hladiny fosfátu byl správně do medikace přidán sevelamer a vysazen alfakalcidol. Po vysazení alfakalcidolu i přes vyšší hladinu sérového kalcia lze souhlasit s ponecháním koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku na 1,75 mmol/l. Aktivní vitamin D měl být ale do medikace vrácen ihned po korekci fosfatémie, nejpozději při již mírném vzestupu iPTH. Nedostatek VDR aktivace se v tomto případě podílel na rozvoji hyperparatyreózy. Kalcitriol (spolu s cinacalcetem) byl do medikace přidán při hodnotě iPTH 559 pg/ml. Současně s tím byla snížena koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku. Tato změna léčby je při dostatečné hladině sérového kalcia jistě vhodná a může zajišťovat optimální, přibližně vyrovnanou bilanci vápníku. K poslední, a to pouze přechodné změně koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku bylo přistoupeno při vzestupu sérové hladiny kalcia na 2,79 mmol/l.

SHRNUTÍ

Cílová bilance vápníku

Pro klinickou praxi je zcela zásadní otázka cílové bilance vápníku, způsoby jejího určení u konkrétního pacienta a možnosti jejího dosažení. Přesné určení bilance vápníku u konkrétního dialyzovaného pacienta je

Tab. 2: Časový vývoj základních laboratorních parametrů a léčby hyperparatyreózy

Datum	iPTH	Sérové Ca	Sérové P	Léčba
06/2003	171	2,35	1,67	Ca v dial. roztoku dlouhodobě 1,75 mmol/l.
12/2003	217	2,43	1,30	Dlouhodobě alfakalcidol.
03/2004	116	2,29	1,5	
03/2005	268	2,38	1,33	
04/2006	153	2,45	1,18	
03/2007		2,52	2,52	Sevelamer nově do medikace, alfakalcidol vysazen.
04/2007	332	2,40	1,77	
04/2008	559	2,43	1,82	Do medikace nově cinacalcet a kalcitriol.
04/2009	502	2,47	1,54	Ca v dial. roztoku sníženo z 1,75 na 1,5 mmol/l, do medikace nově parikalciol, kalcitriol vysazen.
04/2010	475	2,54	2,20	
09/2010	839	2,55	2,17	
10/2010	284	2,41	2,04	
01/2011	325	2,79	1,48	Vysazen parikalciol a sevelamer, cinacalcet ponechán, Ca v dial. roztoku na 1,25 mmol/l.
02/2011		2,75	1,43	
04/2011	333	2,41	1,03	
05/2011		2,20	1,70	Ca v dialyzačním roztoku zpět na 1,5 mmol/l.
06/2011	381	2,36	1,12	

Tab. 3: Shrnutí základních doporučení stran volby koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku			
1 mmol/l	1,25 mmol/l	1,5 mmol/l	1,75 mmol/l
Vyrovnaná bilance vápníku při dialýze			
Negativní bilance vápníku při dialýze		Pozitivní bilance vápníku při dialýze	
Riziko hypokalcémie		Riziko hyperkalcémie	
Možná léčba vitamínem D a Ca obsahujícími vazači fosfátu		Léčba vitamínem D a Ca obsahujícími vazači fosfátu by měla být omezená	
Stimuluje kostní obrát u adynamické kostní choroby		Příznivý pro zachování kostní hmoty	
Riziko hyperparatyreózy		Potlačení aktivity příštítných tělísek	
Snížené riziko mimokostních kalcifikací		Zlepšení hemodynamické tolerance dialýzy	
Riziko výrazné negativní bilance Ca při HD u pacientů s vysokým PTH			

krajně obtížné i za experimentálních podmínek a zcela nemožné u křesla pacienta na dialyzačním středisku. V běžném provozu není přesně kvantifikovatelný perorální příjem vápníku, vstřebaný podíl ani přesuny kalcia v jednotlivých kompartmentech. Běžně používané laboratorní parametry – sérové Ca, P, PTH, ALP nevypovídají dostatečně o stavu kosti ani potřebě či přebytku vápníku v organismu.

Celková bilance vápníku je u anurických dialyzovaných pacientů zjednodušeně vyjádřitelná rovnicí: *celková bilance vápníku = absorpce vápníku ze střeva – odstranění vápníku při dialýze*. Pokud chceme u stabilních pacientů zachovat vyrovnanou vápníkovou bilanci, tak z předchozí rovnice vyplývá: *absorpce vápníku ze střeva = odstranění vápníku při dialýze*. Vyjdeme-li z předpokladu, že u naprosté většiny dialyzovaných pacientů je v mezidialyzačním období pozitivní bilance vápníku, bilance vápníku při HD by měla být negativní (Gotch, 2010).

Vyrovnané bilance vápníku je možné dosáhnout výraznou pozitivitou v mezidialyzačním období a následnou dialýzou s velmi nízkou koncentrací vápníku v dialyzačním roztoku (např. léčba Ca obsahujícími vazači fosfátu, kalcitriolem a dialýza s Ca 1 mmol/l) nebo udržováním nižšího příjmu v mezidialyzačním období s přibližně vyrovnanou bilancí vápníku při dialýze (např. léčba sevelamerem, parikalciolem, dialýza s Ca 1,25 či 1,5 mmol/l). Proti prvnímu způsobu vedení léčby s výraznými výkyvy v příjmu a výdeji vápníku hovoří pravděpodobnost neschopnosti rychlé mobilizace vápníku z cévní stěny při HD s nízkou koncentrací vápníku v roztoku – vápník je pravděpodobně mobilizován z kostní tkáně. A při výrazně pozitivní bilanci v mezidialyzačním období se vytváří podmínky pro ukládání vápníku do kosti. Tyto úvahy jsou zatím podpořeny pouze experimentálními daty, údaji z prospektivních klinických studií zatím chybí.

V případě stavu organismu, u kterého by měla být vápníkové bilance nenulová (např. růst kostní hmoty, léčba osteoporózy), by tento stav měl být respektován stejně jako v normální populaci.

Cílové sérové hladiny vápníku

Z velkých studií je snaha odvodit sérové koncentrace kalcia, které dávají pacientům nejlepší perspektivu z pohledu morbidit a mortality. Pro kalcium nejsou výsledky stejně přesvědčivé jako např. pro fosfor. Je ale shoda v tom, že příliš vysoké sérové koncentrace jsou

jednoznačně rizikovým faktorem. Koncentrace, od které toto riziko stoupá, je však předmětem diskusí a ve studiích se lze setkat s hodnotami od 2,38 mmol/l (Block, 2004), přes 2,6 mmol/l (Wagner, 2011), po 2,85 mmol/l (Young, 2005). Co se týká nízkých sérových koncentrací kalcia, jejich souvislost s mortalitou je ještě méně objasněna a publikované výsledky nekonzistentní. Dle některých prací (Block, 2004) je závislost kalcémie a mortality téměř lineární a s jejím poklesem riziko úmrtí klesá. V jiné velké studii bylo naopak pozorováno stoupající riziko úmrtí již při poklesu kalcémie pod 2,25 mmol/l (Miller, 2010). Příčinou různorodosti výsledků je pravděpodobně snaha interpretovat izolovaně pouze kalcémii vytrženou z komplexnosti onemocnění CKD-MBD. Tak např. nízká kalcémie v kombinaci s nízkou fosfatémií není nepříznivým faktorem, ale současná přítomnost nízké kalcémie s hyperfosfatémií riziko úmrtí zvyšuje. Obdobná závislost byla popsána i pro vztah kalémie a sérového iPTH (Miller, 2010).

Zatím nejsou dostatečné údaje, které by pomáhaly určit cílové koncentrace kalcia u specifických skupin pacientů, např. užívajících kalcimimetika. Skupina expertů vytvářejících KDIGO 2009 doporučení uzavírá analýzu studií doporučením udržovat sérové hladiny kalcia u pacientů CKD 5D v normálním rozmezí.

Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku

Jak vyplývá ze složitosti metabolismu kalcia a jeho bilance, není možné doporučit jednu koncentraci kalcia v dialyzačním roztoku pro všechny pacienty. Jednotlivá doporučení se shodují v potřebě individualizace koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku dle potřeb konkrétního pacienta. Koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku je jedna ze složek, které vytváří celkovou bilanci vápníku v organismu. Při její volbě je tedy třeba přihlížet ke stavu organismu z pohledu potřeb vápníku, stravovacím návykům, současné léčbě kalcimimetiky, vazači fosfátu, jejich typu a dávce, podávání vitamínu D či jeho analog, stavu kostní remodelace a funkci příštítných tělísek, hemodynamické toleranci dialyzační procedury a dalším faktorům. Základní pro a proti při volbě koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku shrnuje tabulka 3.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR NT 11355 a výzkumného záměru MSM 0021620819.

LITERATURA

1. Adragao T et al. A plain X-ray vascular calcification score is associated with arterial stiffness and mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 997-1002.
2. Ahmad, et al. Dialysate made from dry chemicals using citric acid increases dialysis dose. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 493-499.
3. Alem AM et al. Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2000; 58(1): 396-399.
4. Argiles A et al. Precise quantification of dialysis using continuous sampling of spent dialysate and total dialysate volume measurement. *Kidney Int.* 1997; 52: 530-537.
5. Argilés A, Mion CM, Thomas M. Calcium balance and intact parathormone variations during haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 2083-2089.
6. Bellazzi R et al. Acute effects of repetitive hemodialysis on circulating immunoreactive parathyroid hormone levels in uremic patients undergoing vitamin D (Calcitriol) therapy. *Nephron* 1991; 57: 273-282.
7. Block GA et al. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2208-2218.
8. Blumberg A et al. Plasma potassium in patients with terminal renal failure during and after hemodialysis; relationship with dialytic potassium removal and total body potassium. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:1629-1634.
9. Bouillon R, Verberckmoes R, Moor PD. Influence of dialysate calcium concentration and vitamin D on serum parathyroid hormone during repetitive dialysis *Kidney Int.* 1975; 7: 422-432.
10. Bussiere FI et al. Protective effect of calcium deficiency on the inflammatory response in magnesium-deficient rats. *Eur J Nutri.* 2002; 41: 197-202.
11. Covic A et al. Systematic review of the evidence underlying the association between mineral metabolism disturbances and risk of all-cause mortality, cardiovascular mortality and cardiovascular events in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1506-1523.
12. Cozzolino M et al. Pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 68: 429-436.
13. Fernandez E et al. Low-calcium dialysate stimulates parathormone and its long-term use worsens secondary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 6: 132-135.
14. Gabutti L et al. Citrate- vs. Acetate-based dialysate in bicarbonate haemodialysis: consequences on haemodynamics, coagulation, acid-base status, and electrolytes. *BMC Nephrol.* 2009; 10(7).
15. Goodman WG et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage disease who are undergoing dialysis. *N Eng. J Med* 2000; 342: 1478-1483.
16. Goodman WG et al. Vascular calcification in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 572-579.
17. Gotch FA et al. The KDIGO guideline for dialysate calcium will result in an increased incidence of calcium accumulation in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2010; 78: 343-350.
18. Hou SH et al. Calcium and phosphorus fluxes during hemodialysis with low calcium dialysate. *Am J Kidney Dis* 1991; 28(2): 217-224.
19. Hsu CW et al. High-calcium dialysate: A factor associated with inflammation, malnutrition and mortality in non-diabetic maintenance haemodialysis patients. *Nephrology* 2010; 15: 313-320.
20. Karohl C et al. Effects of bone remodelling on calcium mass transfer during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25: 1244-1251.
21. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney International* 2009; 76 (Suppl 113): S1-S130.
22. Kossmann RJ et al. Increased efficiency of hemodialysis with citrate dialysate: A prospective controlled study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1459-1464.
23. Kurz P et al. Evidence for abnormal calcium homeostasis in patients with adynamic bone disease. *Kidney Int* 1994; 46(3): 855-861.
24. Kyriazis J et al. Dialysate calcium profiling during hemodialysis: Use and clinical implications. *Kidney Int.* 2002; 61: 276-287.
25. Kyriazis J et al. Dialysate magnesium level and blood pressure. *Kidney Int.* 2004; 66: 1221-1231.
26. Locatelli F et al. Optimal composition of the dialysate, with emphasis on its influence on blood pressure. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 785-796.
27. Lopot F, Švára F, Polakovič V. Bicarbonátová hemodialýza s A-konztrátem s kyselinou citrónovou (Citrasate). Aktualita v nefrologii. 2009; 15 (3): 105-110.
28. Malberti F et al. Calcium balance and serum ionized calcium fluctuations in on-line haemofiltration in relation to ultrafiltration rate and dialysate calcium concentration. *Nephrol Dial Transplant* 1994; 9: 1759-1764.
29. Malberti F, Ravani P. The choice of the dialysate calcium concentration in the management of patients on haemodialysis and haemodiafiltration. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: suppl 7 vii37-40; discussion vii57.
30. Melan A et al. Assessment of acute parathyroid responsiveness to high calcium dialysate in uremic patients. *Int J Artif Organs* 1993; 16: 711-715.
31. Moe SM. Vascular calcification: the three-hit model. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1162-1164.
32. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(Suppl 3): S1-S202.
33. Nicolas TL et al. Chronic kidney disease and bone fracture: a growing concern. *Kidney Int* 2008; 74(6): 721-731.
34. Panichi V et al. Acute suppression of parathyroid activity during hemofiltration. *Blood Purif* 1996; 14: 15-19.
35. Peris AR et al. Kinetics of calcium, phosphate, and magnesium and PTH variations during hemodiafiltration. *Nefrologia* 2007; 27 (5): 593-598.
36. Ronco C et al. Impact of biofeedback-induced cardiovascular stability on hemodialysis tolerance and efficiency. *Kidney Int.* 2000; 58(2): 800-808.
37. Rudnicki M et al. Actual ionized calcium (at actual pH) and adjusted ionized calcium (at pH 7.4) in hemodialyzed patients. *Clin Chem* 1992; 38: 1384-1388.
38. Rudnicki M et al. Serum ionized calcium, parathyroid hormone and phosphate in uremic patients during and between hemodialysis. *Clin Nephrology* 1993; 40 (4): 225-229.
39. Saha H et al. Acute effect of dialysate calcium concentration and intravenous vitamin D3 on the secretion of parathyroid hormone in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 1992; 38 (3): 145-148.
40. Seyffart G, Schultz T, Stiller S. Use of two calcium concentrations in hemodialysis. *Clin Nephrol* 2009; 71(3). 296-305.
41. Sigmund M, McIntyre CW. Calcium exposure and removal in chronic hemodialysis patients. *J Renal Nutr* 2006; 16 (1): 41-46.
42. Slatopolsky E et al. Calcium carbonate as a phosphate binder in patients with chronic renal failure undergoing dialysis. *N Engl J Med* 1986; 315: 157.
43. Slatopolsky E et al. Long term effects of calcium carbonate and 2.5 mEq/L calcium dialysate on mineral metabolism. *Kidney Int* 1989; 36: 897.

43. Uhlig K et al. KDOQI US commentary on the 2009 KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, and treatment of CKD-Mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Am J Kidney Dis* 2010; 55: 773-799.
44. Van der Sande F et al. Effect of dialysate calcium concentrations on intra-dialytic blood pressure course in cardiac-compromised patients. *Am J Kidney Dis*. 1998; 32: 125-131.
45. Van Kuijk W et al. Influence of changes in ionized calcium on cardiovascular reactivity during hemodialysis. *Clin Nephrol*. 1997; 47: 190-196.
46. Yokoyama K et al. The negative Ca²⁺ balance is involved in the stimulation of PTH secretion. *Nephron* 2002; 92: 86-90.
47. Yokoyama K et al. Vitamin D receptor gene polymorphism detected by digestion with Apal influences the parathyroid response to extracellular calcium in Japanese chronic dialysis patients. *Nephron* 2001; 89: 315-320.
48. Young EW et al. Predictors and consequences of altered mineral metabolism: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2005; 67: 1179-1187.
49. Yu S et al. Parathyroid hormone increases activating transcription factor 4 expression and activity in osteoblasts: requirements for Osteocalcin gene expression. *Endocrinology* 2008; 149: 1960-1968.
50. Miller JE, Kovesdy CP, Norris K et al. Association of cumulatively low or high serum calcium levels with mortality in long-term hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2010; 32: 403-413.
51. Wagner M, Ansell D, Kent DM et al. Predicting mortality in incident dialysis patients: an analysis of the United Kingdom Renal Registry. *Am J Kidney Dis* 2011; 57(6): 894-902.

*MUDr. Roman Šafránek, Ph.D.
Nefrologické oddělení
Klinika gerontologická a metabolická
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
E-mail: safrarom@fnhk.cz*

Příloha č. 2

Safranek R, Moucka P, Vavrova J, Palicka V, Pavlikova L, Sulkova SD. Changes of serum calcium, magnesium and parathyroid hormone induced by hemodialysis with citrate-enriched dialysis solution. *Kidney Blood Press Res* 2015; 40(1): 13-21. (IF 2,908)

Original Paper

Changes of Serum Calcium, Magnesium and Parathyroid Hormone Induced by Hemodialysis with Citrate-Enriched Dialysis Solution

Roman Šafránek^{a,b} Petr Moučka^a Jaroslava Vávrová^c Vladimír Palička^c
Ladislava Pavlíková^c Sylvie Dusilová Sulková^{a,d}

^aHemodialysis Center, University Hospital; ^bDepartment of Internal Medicine III; ^cInstitute of Clinical Biochemistry and Diagnostics; ^dDepartment of Internal Medicine II, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Kralove, Czech Republic

Key Words

Citrate • Dialysis solution • Hemodialysis • Calcium • Magnesium • Parathyroid hormone • Hemodiafiltration • Acetate

Abstract

Background/Aims: In recent years, one of technical attempts to improve biocompatibility and tolerability of the hemodialysis procedure is the substitution of acetate in dialysis solution with citrate. The aim of our study was to compare two dialysis solutions: traditional bicarbonate dialysis solution containing acetate (3 mmol/L) (solution A); and (solution C) commercially produced citrate-enriched bicarbonate dialysis solution (0.8 mmol/L citrate). **Methods:** Patients from a single hemodialysis center (N=126) were included in the study. Both conventional low-flux hemodialysis and on-line hemodiafiltration procedures were studied. Both dialysis solutions contained identical calcium (1.5 mmol/L) and magnesium (0.5 mmol/L) concentrations. **Results:** Parathyroid hormone (iPTH) concentration decreased during procedures with solution A by 64%. On the contrary, when solution C was used, iPTH concentration increased insignificantly by 4%. For solution A, serum calcium and magnesium increased during procedures in patients with predialysis concentrations lower than 2.33 and 0.76 mmol/L, respectively. In procedures with dialysis solution C these concentrations were significantly lower: 2.19 mmol/L for Ca and 0.68 mmol/L for Mg. **Conclusion:** Our study clearly shows that the substitution of part of acetate with citrate in dialysis solution significantly influences changes of serum calcium, magnesium and parathyroid hormone concentrations during hemodialysis and hemodiafiltration procedures.

Copyright © 2015 S. Karger AG, Basel

Roman Safránek, MD, Ph.D.

Hemodialysis Center, University Hospital Hradec Kralove, Sokolska 581,
500 05 Hradec Kralove (Czech Republic)
Tel. +420 495832219, Fax +420 495832031, E-Mail roman.safranek@fnhk.cz

KARGER 125
YEARS

Introduction

Hemodialysis procedure (HD) has become much safer and better tolerated by patients over the last decades. One of the great technical advances was the replacement of acetate in dialysis solution by bicarbonate as the main buffer in dialysis fluid. Acetate based dialysate was in widespread use in 1980's. Dialysate acetate concentrations were as high as 30-40 mmol/L, aiming to compensate metabolic acidosis associated with kidney failure. From that time untoward effects of high serum acetate concentrations such as vasodilatation, depressed ventricular function, and hypoxemia are well known [1]. Currently, bicarbonate dialysis solutions with only a low content of acetate (2 - 8 mmol/L) in acid concentrate are routinely used. However, significant amounts of acetate may still be delivered into the body in several circumstances, such as in high-volume on-line hemodiafiltration (HDF) with large amounts of substitution fluid prepared on-line from dialysis concentrates. In these cases, acetate load may be associated with potential negative effects [2-3]. In recent years, one of the technical attempts to improve biocompatibility and tolerability of HD procedure was the substitution of acetate in dialysis solution with citrate.

Citric acid is a weak tricarboxylic acid physiologically metabolized to three molecules of bicarbonate by the liver and other organs regardless of the presence of renal failure. It was first used by Ahmad and colleagues to make dialysis solution from dry chemicals [4]. Following its first use, good overall safety has been shown with no changes in predialysis calcium levels [5-6].

Citrate has several advantages over acetate, including local anticoagulant properties that allow a decrease or even removal of anticoagulation for HD, lower peripheral resistance and better blood pressure control during the procedure [6-10]. Another advantage is an increased HD efficiency when citrate dialysate is used [5].

Besides the novel application of citrate in dialysis solution for intermittent hemodialysis, citrate has been traditionally used for regional citrate anticoagulation. During regional anticoagulation citrate infused into the arterial blood line forms stable complexes with ionized calcium (Ca^{2+}). Markedly decreased Ca^{2+} prevents activation of coagulation cascade in the dialyzer. As high doses of citrate are infused into the blood, close monitoring is necessary during the procedure and losses of calcium bound in Ca-citrate are substituted by infusion of calcium into the venous blood line. Compared to heparin, regional citrate anticoagulation abolishes degranulation of polymorphonuclear cells and platelets and reduces oxidative stress during HD [11-12].

Contrary to regional citrate anticoagulation, citrate is not applied into circulation directly, but citrate-enriched dialysis solution is used with only low concentration of citrate. Therefore, neither calcium monitoring nor calcium supplementation is needed. However, despite general acceptance of safety, a higher incidence of intradialytic muscle cramps and postdialysis ionized serum calcium decrease was observed by some authors [6, 10, 13].

The aim of our study was to compare two dialysis solutions: (a) traditional bicarbonate dialysis solution containing acetate (3 mmol/L); and (b) a commercially produced citrate-enriched bicarbonate dialysis solution (0.8 mmol/L citrate) with respect to acute changes of several laboratory parameters induced by procedure. Both dialysis solutions had fixed concentrations of calcium (1.5 mmol/L) and magnesium (0.5 mmol/L). Serum total and ionized calcium, magnesium, acid-base status and parathyroid hormone changes induced by single hemodialysis (HD) and on-line hemodiafiltration (HDF) procedures in maintenance hemodialysis patients were studied.

Materials and Methods

Patients

Study cohort involves 126 clinically stable maintenance hemodialysis patients from a single hemodialysis center (median age 67 (56; 75), 81 men, 45 women). All patients were on maintenance dialysis

for at least three months, median HD treatment was 33 (18; 66) months. Eighty patients were treated with HD, 46 with HDF. Fifty-six patients (45 %) had diabetes mellitus. The study was a part of a research project approved by a local ethical committee, No. NT/11355-4/2010, 941/09. All procedures were performed in accordance with the Declaration of Helsinki. Informed consent was obtained from each study subject.

Dialysis solution

Two commercially available dialysis solutions were compared: (a) with acetic acid in concentration of 3 mmol/L and bicarbonate concentration 32 mmol/L (solution A); and (b) with acetic acid 0.3 mmol/L, citrate 0.8 mmol/L, and bicarbonate concentration 32.6 mmol/L (solution C). Both dialysis solutions contained identical sodium (138 mmol/L), diffusible calcium (1.5 mmol/L), diffusible magnesium (0.5 mmol/L) and glucose (1.0 g/L) concentrations. Potassium concentration was individually adjusted to potassium serum concentrations and varied between 2 - 4 mmol/L.

Dialysis procedure

Both conventional low-flux hemodialysis and on-line post-dilution hemodiafiltration procedures were studied. Polysulphone dialyzers with identical surface area 1.8 m² were used for both types of procedures. The ultrafiltration coefficient of low-flux dialyzer for HD was 14 mL/mmHg/h, of high-flux dialyzer for HDF was 99 mL/mmHg/h (sieving coefficient for beta-2-microglobulin greater than 0.8; for albumin lower than 0.001). We used a constant ultrafiltration rate and neither ultrafiltration nor sodium profiling in all procedures. Dialysate temperature was set to 36.0 °C. In HDF, automatic mode of substitution was applied, allowing an achieved high convective volume. Other parameters of HD and HDF than dialysis solutions were kept constant during the study.

Design of the study

Prior to the study's initiation, patients were dialyzed using either dialysis solution A or C as decided by a physician at the beginning of maintenance dialysis treatment. Allocation to HD or HDF was done by a physician according to center rules. During the study period, the mode of extracorporeal treatment was kept constant. To allow a comparison between A and C solutions in cross-over design, patients were switched to the other dialysis solution for a single dialysis treatment. All other technical parameters were kept identical.

Data was collected prospectively once monthly during six months period, always in the first week in given month. Interdialytic intervals in individual patients were constant. Totally, 540 dialysis procedures were studied (334 HD, 206 HDF). Dialysis adequacy using second generation Daugirdas equation was calculated in all of these procedures [14]. Most parameters were evaluated in all procedures. Serum magnesium concentrations and blood pH were measured in 133 HD and 67 HDF.

Biochemical analysis

Serum total calcium (Ca, laboratory reference range 2.15 - 2.55 mmol/L), ionized calcium (Ca²⁺, 0.9 - 1.3 mmol/L), magnesium (Mg, 0.69 - 1.05 mmol/L), ionized magnesium (Mg²⁺, 0.45 - 0.6 mmol/L), phosphate (P, mmol/L), urea, and blood pH were measured before and after HD procedure using routine automatic laboratory methods. Second generation method was used for serum parathyroid hormone concentration measurement (PTH, pmol/L; Immulite Intact PTH, Diagnostic Products Corporation, USA).

Blood was drawn from inserted fistula needle immediately before HD prior to heparin administration and using standardized "slow-flow" method after the end of HD in accordance with KDOQI guidelines [15]. All samples were immediately processed in accordance to institutional standards.

Statistical evaluation

Results are expressed as median and interquartile range. Wilcoxon matched pairs test was used for paired data and Mann-Whitney U-test for the comparison of independent groups, as appropriate. Data for HD and HDF procedures were analyzed separately. Spearman R was calculated for nonparametric correlations. For calcium and magnesium we used linear regression analysis to calculate "cut-off" concentrations - predialysis serum concentration that led to no change of its concentration during HD/HDF treatment. All tests were two-sided and p-value lower than 0.05 was considered to be statistically significant. Statistica 12 (Stat Soft, USA) was used for calculations.

Table 1. Serum calcium concentrations before and after HD and HDF procedures, comparison of two dialysis solutions: A – Dialysis solution with acetate, C – dialysis solution with citrate. All calcium concentrations expressed in mmol/L. Ca – total calcium, Ca²⁺ – ionized calcium concentration. Data are given as median (interquartile range)

Serum calcium concentrations	Dialysis solution		Difference between groups
	A	C	
Ca before procedure	2.19 (2.11; 2.27)	2.15 (2.04; 2.22)	p < 0.001
Ca after procedure	2.43 (2.35; 2.5)	2.23 (2.14; 2.31)	p < 0.00001
Ca change	0.24 (0.15; 0.32)	0.09 (0.01; 0.18)	p < 0.00001
Ca ²⁺ before procedure	1.20 (1.14; 1.25)	1.19 (1.14; 1.25)	p = 0.57
Ca ²⁺ after procedure	1.40 (1.35; 1.45)	1.23 (1.2; 1.27)	p < 0.00001
Ca ²⁺ change	0.20 (0.15; 0.26)	0.05 (0.00; 0.09)	p < 0.00001

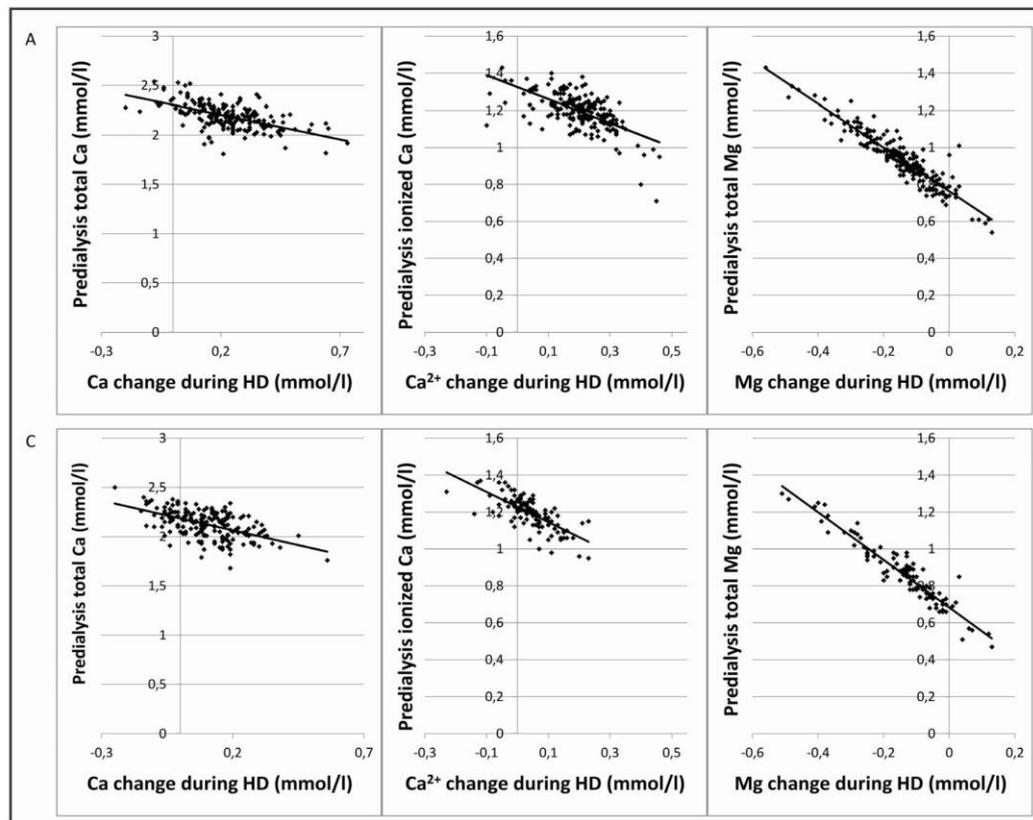


Fig. 1. Changes of serum calcium and magnesium during HD with dialysis solution with acetate (A) and citrate (C).

Results

Serum calcium changes

Both total Ca and Ca²⁺ serum concentrations increased in 97 % of procedures with dialysis solutions A and in 76 % of procedures with solution C. The magnitude of this increase was significantly higher when solution A was used (Table 1). For solution A, serum calcium increased in patients with predialysis concentrations lower than 2.33 mmol/L for Ca and 1.33 mmol/L for Ca²⁺, respectively (Figure 1). In procedures with dialysis solution C these

Table 2. Serum magnesium concentrations before and after HD and HDF procedures, comparison of two dialysis solutions: A – Dialysis solution with acetate, C – dialysis solution with citrate. All magnesium concentrations expressed in mmol/L. Mg – total magnesium, Mg²⁺ – ionized magnesium concentration. Data are given as median (interquartile range)

Serum magnesium concentrations	Dialysis solution		Difference between groups
	A	C	
Mg before procedure	0.93 (0.85; 1.02)	0.85 (0.76; 0.96)	p < 0.001
Mg after procedure	0.78 (0.76; 0.82)	0.72 (0.68; 0.77)	p < 0.000001
Mg change	-0.14 (-0.22; -0.08)	-0.12 (-0.21; -0.07)	p < 0.42
Mg ²⁺ before procedure	0.52 (0.44; 0.58)	0.45 (0.43; 0.49)	p = 0.26
Mg ²⁺ after procedure	0.45 (0.44; 0.48)	0.38 (0.36; 0.40)	p < 0.0003
Mg ²⁺ change	-0.03 (-0.11; 0.00)	-0.07 (-0.10; -0.03)	p < 0.24

“cut-off” concentrations were significantly lower – 2.19 mmol/L for Ca and 1.23 mmol/L for Ca²⁺ (Figure 1). Calculated ratio Ca/Ca²⁺ decreased in procedures with A dialysate (p < 0.00001), but did not change if solution C was used (p = 0.48).

When we analyzed differences between HD and HDF procedures, a slightly higher increase of Ca in HDF was observed with solution C, but not with solution A. Median Ca increase was 0.16 (0.04; 0.25) in HDF and 0.08 (0.00; 0.16) mmol/L in HD procedures with solution C (p = 0.01).

Serum magnesium changes

Analyzing predialysis values we found mild hypomagnesemia in 6 % and mild hypermagnesemia in 17 % patients. Extracorporeal elimination led to the increase of serum Mg (both total Mg as well as ionized fraction) only in 6 % procedures with dialysis solution A and in 7% of procedures with solution C. When solution C was used, postdialysis Mg and Mg²⁺ concentrations were significantly lower compared to dialysis solution A (Table 2). There was no difference between HD and HDF procedures.

For solution A, an increase was observed in patients with predialysis serum concentrations lower than 0.76 mmol/L for Mg and lower than 0.47 mmol/L for Mg²⁺ (Figure 1). These “cut-off” concentrations were significantly lower with dialysis solution C, being 0.68 mmol/L for Mg and 0.38 mmol/L for Mg²⁺ (Figure 1). There was no association between calcium and magnesium changes during procedures.

Serum iPTH changes

Predialysis serum iPTH concentrations were variable among patients. To see whether there was a different iPTH change during HD due to different dialysis solutions we analyzed data in cross-over design. PTH concentration decreased during procedures with solution A by 64 %; from 22.2 (15.3; 36.3) to 8.0 (5.9; 12.5) pmol/L (p<0.0001). On the contrary, when solution C was used, iPTH concentration increased insignificantly by 4 % from 27.0 (20.6; 36.9) to 28.0 (21.5; 41.2) pmol/L (p=0.06). However, an increase by more than 25 % was observed in 28 % procedures when dialysis solution C was used. Maximal increase was 13 and 87 % when dialysis solution A and C was used, respectively. Changes of PTH during procedure negatively correlated significantly with serum Ca²⁺ changes (R = - 0.26 and -0.24 for solution A and C, respectively) and also with Mg²⁺ changes (R = - 0.21 and -0.37 for solution A and C, respectively). There was no difference between HD and HDF procedures.

Dialysis adequacy, serum phosphate and pH changes

Serum phosphate changes and Kt/V values for procedures using A and C dialysis solutions are shown in Table 3. Data suggest higher Kt/V and P removal during HD with added citrate.

Table 3. Serum phosphate concentrations before and after HD, comparison of two dialysis solutions: A – Dialysis solution with acetate, C – dialysis solution with citrate. P - phosphate concentrations expressed in mmol/L

Parameter	Dialysis solution		Difference between groups
	A	C	
preHD P	1.70 (1.40; 2.00)	1.79 (1.41; 2.10)	p = 0.12
postHD P	0.72 (0.59; 0.84)	0.72 (0.59; 0.84)	p = 0.74
P change	-0.97 (-1.24; -0.72)	-1.08 (-1.28; -0.81)	p = 0.06
Kt/V	1.52 (1.34; 1.70)	1.62 (1.21; 1.65)	p = 0.05

During HD with solution A, blood pH increased from 7.37 (7.35; 7.38) to 7.46 (7.44; 7.49). The increase was significantly higher when solution C was used; pH 7.36 (7.34; 7.37) before and 7.47 (7.45; 7.49) after HD, p = 0.002.

Discussion

Our study clearly shows that substitution of part of acetate by citrate in dialysis solution significantly influences changes of serum calcium, magnesium and parathyroid hormone concentrations during HD and HDF procedures. Substantial differences between A and C solutions were observed despite the identical concentrations of Ca (1.5 mmol/L) and Mg (0.5 mmol/L) in both dialysis solutions.

Probable mechanism of described changes is the binding of calcium and magnesium to the citrate. Formed complexes are partially removed from blood through the membrane during dialysis. As only a small amount of citrate gets to the body, it is quickly metabolized. A higher increase in total calcium in HDF procedures with solution C might be due to an increase in concentration of Ca-citrate complexes in blood. As we have not measured citratemia, we cannot prove this in our present study. However, a higher increase in citratemia during HDF compared HD procedures with citrate dialysate was shown by Panichi et al. [2].

There is still no consensus regarding the optimal dialysate calcium concentration. KDIGO in its guidelines from 2009 suggests using a dialysate calcium concentration between 1.25 and 1.50 mmol/L [16]. Although individualization has been advocated, most centers use established dialysate calcium concentrations within the recommended range. In bicarbonate hemodialysis, calcium mass balance studies showed net positive transfer of Ca from dialysate to blood with 1.5 mmol/L and approximately neutral or slightly negative Ca flux with 1.25 mmol/L dialysate Ca in most patients [17]. However, the main driving force responsible for calcium mass balance is diffusion gradient between ionized Ca in the blood and dialysate and ultrafiltration. Thus, Ca mass balance may differ widely depending on patients' factors. As a result, dialysate composition should be individualized, whenever possible, to meet specific patient's requirements. Our data suggest that citrate solution with low Ca concentration should not be used in patients with secondary hyperparathyroidism. Although, it might be used in adynamic bone disease to stimulate parathyroid activity.

Another important issue is the safety of the hemodialysis procedure. Lower dialysate calcium is associated with blood pressure decrease during HD [18] and sudden cardiac arrest [19]. Recent study shows that increases in the serum-to-dialysate calcium gradient proportionally increases the risk of peridialytic sudden cardiac arrest [20]. This issue was not addressed in our study, but we showed that a switch to dialysis solution with citrate increases serum-to-dialysate calcium gradient and may potentially increase the risk of adverse events in cardiac-compromised patients. Therefore, the use of higher calcium concentration in dialysate should be considered in high-risk patients.

Higher HD efficiency and lower predialysis phosphate levels when citrate dialysate is used have been shown in larger studies [5]. Our study was not primarily designed to assess the effect of added citrate on phosphate removal and dialysis efficiency. Predialysis P levels were not fully comparable and higher P concentration may be responsible for higher phosphate decrease during the procedure. Pharmacological treatment that influences predialysis phosphate levels might be changed during study. However, our results are in concordance with other studies showing better phosphate removal and higher dialysis efficiency [5-6].

Magnesium is a crucial intracellular ion with high levels reported in chronic hemodialysis patients. Eg., in a group of hemodialysis patients with Mg 0.75 mmol/L in a dialysis solution mild hypermagnesemia (serum Mg \geq 1.15 mmol/L) was found in 81 % and significant hypermagnesemia (serum Mg \geq 1.5 mmol/L) in 17 % [21]. Hypermagnesemia was also found in 73 % of patients dialyzed with 0.5 mmol/L Mg [22]. In our study we found mild hypermagnesemia in only 17 % and mild hypomagnesemia in 6 % patients. Key determinants of serum magnesium levels are magnesium intake [21] and removal during HD [23]. We may only assume low intake in our patients with only 7 % patients being on Mg containing medication.

Concentration of magnesium in dialysis solution affects the occurrence of muscle cramps during HD [23], intradialytic change of blood pressure [24], PTH concentrations and vascular calcifications [25]. Despite low serum magnesium concentrations found in our patients, its levels significantly decreased during HD. Moreover, postdialysis Mg concentrations were significantly lower when dialysis solution C was used. Therefore, higher magnesium concentration in solution C might be more appropriate for our patients. A decrease in magnesium concentration during HD, together with only a small increase of Ca during HD with solution C, may explain increased frequency of muscle cramps observed in recent study by Rocha and colleagues [10]. We observed a clinically small, albeit statistically significant, higher increase in pH when solution C was used. The real difference in serum pH between solutions was 0.02 and can only clinically insignificantly influence concentrations of free fraction of Mg [26].

A decrease of serum PTH hormone during conventional bicarbonate hemodialysis and hemodiafiltration with solution A containing 1.5 mmol/L calcium is not surprising. Serum calcium increase is physiologically associated with immediate PTH decrease. We have confirmed that this association is preserved in our group of hemodialysis patients, i.e. that parathyroid tissue is sensitive to immediate calcium load. This may have an important implication for long-term therapy of secondary hyperparathyroidism: serum calcium changes are mediated through calcium sensing receptor (CaR) on parathyroid glands, and our data indirectly confirms well preserved function of these receptors.

Serum magnesium is also involved in immediate PTH regulation: it influences CaR in similar manner, but with less affinity. However, as we observed a decrease and not an increase of serum magnesium during procedures, serum magnesium changes did not participate on the PTH decrease. It is possible, that dialysis solution with higher magnesium concentration, which would enable serum magnesium increase, would further decrease serum PTH. In our study, dialysis solution A is associated with temporary serum PTH decrease despite concomitant decrease in serum magnesium concentration.

Conversely, the same dialysate calcium concentration (1.5 mmol/L) in solution C was not able to decrease serum PTH during procedures (neither HD, nor HDF). All dialysate calcium is diffusible. This indicates that the balance using 1.5 mmol/l of calcium in dialysate should always be positive. Using C solution led to much less of a positive balance and was associated with much a lower increase of postdialysis serum calcium concentration. This means that part of the calcium did not reach systemic circulation. It is reasonable to assume that the citrate-calcium complexes were formed and then partially lost into dialysate. An important implication for clinical practice is that 1.5 mmol/L Ca in dialysis solution C does not suppress PTH and these patients should likely be treated with additional means aiming to influence CaR.

We also analyzed whether type of procedure (HD versus HDF) has different effect on iPTH change during dialysis. Either with solution A or C, we found no significant difference. This is in concordance with recent finding of Grundstrom et al. and indicates that hemodialysis and hemodiafiltration per se have similar effect on serum parathyroid hormone concentration [13].

Conclusion

Our study is the first one that clearly shows the different effect between A and C solution on concomitant immediate changes in serum calcium, magnesium and PTH. It has an important clinical implication: composition of dialysis solution should be an integral part of strategy in how to prevent and treat secondary hyperparathyroidism. This is true not only for dialysate calcium and magnesium, but also for additive components – such as citrate versus acetate.

Dialysis solution with citrate has been shown to have different specific effects. Its use leads to decreased peripheral resistance, blood pressure, coagulation in extracorporeal circuit, decrease in calcium, magnesium and increase in PTH concentrations. Availability of this type of dialysis solution may help physicians to provide appropriated dialysis to patients with specific requirements. Our study shows that acute effects on calcium, magnesium and PTH concentrations are significant and must be taken into account. Concentrations of calcium and magnesium in dialysis solution should be adjusted accordingly. However, beneficial effects of citrate solution must be proven in long term studies.

Disclosure Statement

None.

Acknowledgements

Study was supported by Research Project NT/11355-4/2010 Ministry of Health of the Czech Republic.

References

- 1 Mansell MA, Wing AJ: Acetate or bicarbonate for haemodialysis? *Br Med J* 1983;287:308-309.
- 2 Panichi V, Fiaccadori E, Rosati A, Fanelli R, Bernabini G, Scatena A, Pizzarelli F: Post-dilution on line haemodiafiltration with citrate dialysate: first clinical experience in chronic dialysis patients. *Scientific World Journal* 2013;2013:703612.
- 3 Pizzarelli F, Cerrai T, Dattolo P, Ferro G: On-line haemodiafiltration with and without acetate. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1648-1651.
- 4 Ahmad S, Callan R, Cole JJ, Blagg CR: Dialysate made from dry chemicals using citric acid increases dialysis dose. *Am J Kidney Dis* 2000;35:493-499.
- 5 Kossmann RJ, Gonzales A, Callan R, Ahmad S: Increased efficiency of hemodialysis with citrate dialysate: a prospective controlled study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1459-1464.
- 6 Gabutti L, Lucchini B, Marone C, Alberio L, Burnier M: Citrate- vs. acetate-based dialysate in bicarbonate haemodialysis: consequencec on haemodynamics, coagulation, acid-base status, and electrolytes. *BMC Nephrol* 2009;10:7.
- 7 Aniot J, Petitclerc T, Creput C: Safe use of citric acid-based dialysate and heparin removal in postdilution online hemodiafiltration. *Blood Purif* 2012;34:336-343.

- 8 Sands JJ, Kotanko P, Segal JH, Ho ChH, Usvat L, Young A, Carter M, Sergeeva O, Korth L, Maunsell E, Zhu Y, Krishnan M, Diaz-Buxo JA: Effects of citrate acid concentrate (Citrasate) on Heparin N requirements and hemodialysis adequacy: a multicenter, prospective noninferiority trial. *Blood Purif* 2012;33:199-204.
- 9 Stegmayr BG, Jonsson P, Mahmood D: A significant proportion of patients treated with citrate containing dialysate need additional anticoagulation. *Int J Artif Organs* 2013;36:1-6.
- 10 Rocha AD, Padua VC, Oliveira E, Guimaraes MM, Lugon JR, Strogoff de Matos JP: Effects of citrate-enriched bicarbonate based dialysate on anticoagulation and dialyzer reuse in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2014;18:467-472.
- 11 Gritters M, Grooteman MP, Schoorl M, Schoorl M, Bartels PCM, Scheffer PG, Teerlink T, Schalkwijk CG, Spreeuwenberg M, Nube MJ: Citrate anticoagulation abolishes degranulation of polymorphonuclear cells and platelets and reduces oxidative stress during haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:153-159.
- 12 Bohler J, Schollmeyer P, Dressel B, Dobos G, Horl WH: Reduction of granulocyte activation during hemodialysis with regional citrate anticoagulation: dissociation of complement activation and neutropenia from neutrophil degranulation. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:234-241.
- 13 Grundstrom G, Christensson A, Alquist M, Nilsson LG, Segelmark M: Replacement of acetate with citrate in dialysis fluid: a randomized clinical trial of short term safety and fluid biocompatibility. *BMC Nephrol* 2013;14:216.
- 14 Daugirdas JT: Second generation logarithmic estimates of single-pool variable volume Kt/V: An analysis of error. *J Am Soc Nephrol* 1993;4:1205-1213.
- 15 Clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy, update 2006. *Am J Kidney Dis* 2006;48:S2-90.
- 16 Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group: KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009;76:S1-S130.
- 17 Bosticardo G, Malberti F, Basile C, Leardini L, Libutti P, Filiberti O, Schillaci E, Ravani P: Optimizing the dialysate calcium concentration in bicarbonate haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:2489-2496.
- 18 van der Sande FM, Cheriex EC, Willibrord HM, van Kuijk WHM, Leunissen KML: Effect of dialysate calcium concentrations on intradialytic blood pressure course in cardiac-compromised patients. *Am J Kidney Dis* 1998;32:125-131.
- 19 Pun P, Lehigh RW, Honeycutt EF, Herzog CA, Middleton JP: Modifiable risk factors associated with sudden cardiac arrest within hemodialysis clinics. *Kidney Int* 2011;79:218-227.
- 20 Pun PH, Horton JR, Middleton JP: Dialysate calcium concentration and the risk of sudden cardiac arrest in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:797-803.
- 21 Wyskida K, Witkowitz J, Chudek J, Wiecek A: Daily magnesium intake and hypermagnesemia in hemodialysis patients with chronic kidney disease. *J Ren Nutr* 2012;22:19-26.
- 22 Navarro JF, Mora C, Jimenez A, Torres A, Macia M, Garcia J: Relationship between serum magnesium and parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999;34:43-48.
- 23 Kelber J, Slatopolsky E, Delmez JA: Acute effects of different concentrations of dialysate magnesium during high-efficiency dialysis. *Am J Kidney Dis* 1994;24:453-460.
- 24 Kyriazis J, Kalogeropoulou K, Bilirakis L, Smirnioudis N, Pikounis V, Stamatiadis D, Liolia E: Dialysate magnesium level and blood pressure. *Kidney Int* 2004;66:1221-1231.
- 25 Floege J: Magnesium in CKD: more than a calcification inhibitor? *J Nephrol* DOI 10.1007/s40620-014-0140-6.
- 26 Thode J, Nistrup Holmegsard S, Transbel I, Fogh-Andersen N, Siggasard-Andersen O: Adjusted ionized calcium (at pH 7.4) and actual ionized calcium (at actual pH) in capillary blood compared for clinical evaluation of patients with disorders of calcium metabolism. *Clin Chem* 1990;36:541-544.

Příloha č. 3

Víšek J, Kubišová M, Lášticová M, Hegerová P, Šafránek R, Sobotka L, Bláha V Komplexní účinky vitamínu D v lidském organizmu *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Výživa* 2012; 15 (4): 258-263.

KOMPLEXNÍ ÚČINKY VITAMÍNU D V LIDSKÉM ORGANIZMU

COMPLEX EFFECTS OF VITAMIN D IN HUMAN ORGANISM

JAKUB VÍŠEK, MICHAELA KUBIŠOVÁ, MARTINA LÁŠTICOVÁ, PETRA HEGEROVÁ,
ROMAN ŠAFRÁNEK, LUBOŠ SOBOTKA, VLADIMÍR BLÁHA

III. interní gerontometabolická klinika, FN a Lékařská fakulta v Hradci Králové, Univerzita Karlova v Praze

SOUHRN

Vitamín D byl dlouhou dobu zmiňován především ve vztahu ke kalciovému metabolismu. Až v posledních letech se stále častěji objevují zmínky o jeho působnosti v celé řadě dalších mechanismů. Objevuje se velké množství informací o asociaci hodnot vitamínu D a rizika vzniku některých onemocnění. Avšak výsledků, které by jednoznačně prokazovaly kauzalitu a přínosnost suplementace vitamínem D, je zatím málo. Tato práce se snaží shrnout aktuální literární poznatky na toto téma.

Klíčová slova: vitamín D, kardiovaskulární onemocnění, diabetes mellitus

SUMMARY

Vitamin D was for a long time mentioned mainly in relation to calcium metabolism. Recently, its role in a number of other mechanisms has been mentioned more frequently. A lot of information has surfaced as regards the association of vitamin D values with the risk of developing a range of diseases. However, the results that would clearly demonstrate the causality and the merits of vitamin D supplementation are still scarce. This paper aims to provide a literature review on this subject.

Key words: vitamin D, cardiovascular disease, diabetes mellitus

Úvod

Vitamín D je znám především díky svým účinkům na kalciový metabolismus. V současnosti je vitamín D často skloňované téma v odborné literatuře, neboť se ukazuje, že jeho pole působnosti v lidském organizmu je daleko širší a uplatňuje se v celé řadě dalších pochodů, než bylo dosud známo. Nyní je např. zmiňován v souvislosti s rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění, diabetu mellitu, dále s imunitními pochody, procesem stárnutí, ovlivněním svalového metabolismu atd. Je tak nepochybné, že i do budoucna bude budít pozornost odborné veřejnosti.

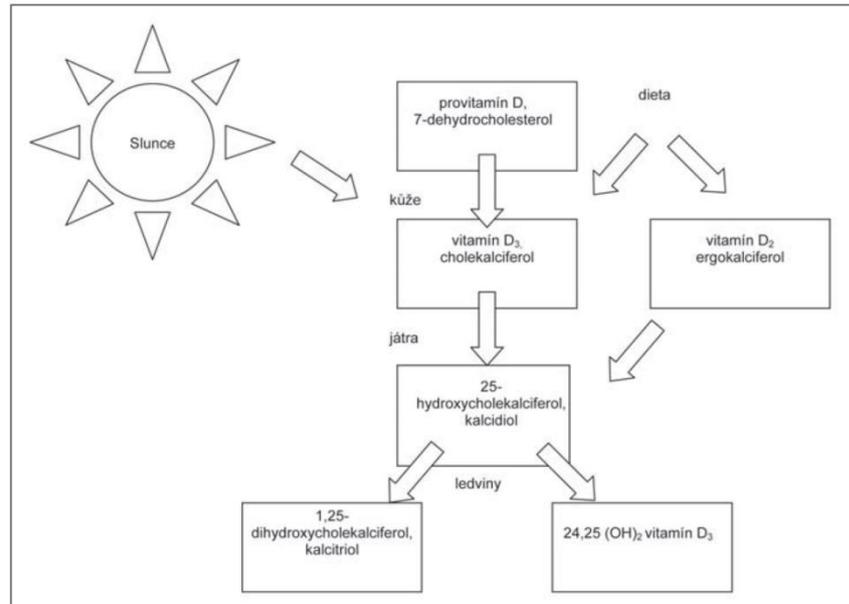
FYZIOLOGIE

Vitamín D₂ (ergokalciferol) nebo D₃ (cholecalciferol), který získáváme z potravy nebo konverzí 7-dehydrocholesterolu v kůži působením UV záření, je v játrech hydroxylován působením vitamín D-25-hydroxylázy na 25(OH) vitamín D₃ (kalcidiol) – označovaný také jako 25(OH)D nebo 25-hydroxyvitamín D (25-hydroxycholecalciferol). Tato sloučenina má poločas přibližně tři týdny a využívá se také pro stanovení stavu zásob vitamínu D v organizmu. Tato sloučenina je však neaktivní a je dále v ledvinách přeměněna na biologicky aktivní formu 1,25 hydroxyvitamín D

(1,25-dihydroxycholecalciferol, kalcitriol), a to působením enzymu 25-hydroxyvitamín D-1-hydroxylázy (viz obr. 1). V jisté míře však tento proces probíhá i v jiných tkáních (např. v prostatě, mléčné žláze, střevu, kůži, imunitních buňkách a v příštítných tělískách). Vitamín D tak zřejmě sehrává i regulační roli v celé řadě dalších pochodů, o čemž svědčí i to, že receptor pro vitamín D je exprimován téměř ve všech tkáních lidského těla. V krvi je vitamín D transportován nosičem (vitamín D binding protein – DBP). Tato bílkovina zajišťuje transport nejen vitamínu D, ale i jeho metabolitů. V současné době je deficit vitamínu D definován jako koncentrace 25(OH)D₃ pod 20 ng/ml (50 nmol/l) a snížení zásob v organizmu jako koncentrace 21–29 ng/ml (52,5–72,5 nmol/l) (Holick, 2011). Doporučené denní dávky ve zdravé populaci se liší podle věku. U dospělých jedinců ve věku 19–50 let je to 600 IU/den (15 µg), ve věku nad 50 let 600–800 IU/den (15–20 µg) vitamínu D s cílovou hodnotou v krvi nad 30 ng/ml (Food and Nutrition Board, 2003).

RECEPTOR PRO VITAMÍN D

Jak již bylo zmíněno, je receptor pro vitamín D přítomen v převážné většině buněk lidského organizmu a zprostředkovává vlastní účinek vitamínu D (Holick, 2007). Afinita 1,25-dihydroxycholecalciferolu k receptoru pro vitamín D je



Obr. 1: Syntéza vitamínu D v lidském organismu

asi 1000× větší než u 25-hydroxycholecalciferolu, což také vysvětluje jeho relativní vyšší biologický potenciál. Před vazbou vitamínu D na receptor dochází k jeho uvolnění z DBP a vstupu vitamínu D do buňky. Podle typu buňky dochází k vytvoření homo nebo heterodimerů s jedním z nukleárních retinoidních receptorů. Podobně jako receptory pro steroidní hormony mají i receptory pro vitamín D doménu pro vazbu na DNA. Aktivní forma vitamínu D po navázání na intracelulární receptor působí jako transkripční faktor a moderuje genovou expresi. Ve většině případů má vazba vitamínu D na receptor aktivační účinek, ale může působit i supresivně (Landry, 2011). Receptor pro vitamín D může být také přítomen v buněčných membránách, kde působí i dalšími „negenomickými“ mechanismy.

VITAMÍN D A LEDVINY

V současné době existuje mnoho studií prokazujících spojitost mezi hypovitaminózou D, morbiditou a mortalitou u pacientů s CKD (chronické onemocnění ledvin) (Dusilová Sulková, 2011). Nicméně neexistují žádné randomizované kontrolované studie prokazující, že léčba těchto pacientů některým z dostupných preparátů vitamínu D vedla ke zlepšení jiných parametrů než minerálního metabolismu. Pacienti s chronickým onemocněním ledvin často trpí nedostatkem 25(OH) vitamínu D (Blahos, 2012). Hypovitaminóza D u CKD má však komplexní etiologii: menší expozice slunečnímu záření, zvýšený katabolismus vitamínu D, malnutrice, snížená syntéza v játrech, zvýšené ztráty vazebného proteinu 25(OH) vitamínu D močí, a snížení hydroxylace 25(OH) vitamínu D v ledvinách při hyperfosfatémii a zvýšené koncentraci fibroblastového růstového faktoru 23 (FGF23). Většina pacientů s CKD má sníženou koncentraci calcitriolu v séru. Zatímco v obecné populaci lze zaznamenat pouze malou korelaci mezi koncentracemi 25(OH) vitamínu D a 1,25(OH) vitamínu D, u pacientů s CKD obvykle existuje přímý vztah.

S poklesem clearance kreatininu dochází k postupnému zvyšování sérové a tkáňové koncentrace fosforu a snížení koncentrace vápníku a zároveň dochází i ke změně hladin cirkulujících hormonů (parathormonu, 25-hydroxyvitamínu D, 1,25-dihydroxyvitamínu D, FGF-23 a růstového hormonu). Již ve stádiu CKD 3 (tj. GFR < 30-59 ml/min/1,73 m²) je schopnost ledvin vylučovat fosfáty zmenšena, což vede k hyperfosfatémií. V tomto okamžiku jsou aktivovány mechanismy zvyšující fosfatúrii. Dochází ke zvýšení hodnot parathormonu a exponenciálnímu navýšení koncentrace FGF-23. Tento významný fosfaturický faktor zároveň inhibuje 1-alfa-hydroxylázu a na základě tohoto efektu je produkce calcitriolu v reziduálním parenchymu ledvin nižší, než bychom pro daný stupeň postižení CKD očekávali.

Vliv vitamínu D na kostní metabolismus je poměrně dobře znám, avšak vitamín D působí i na několika úrovních přímo v ledvinách – inhibičně na systém renin-angiotenzin-aldosteron, redukuje proteinurii a mění strukturu podocyty. Dále je u pacientů s CKD popisována spojitost mezi nízkými koncentracemi vitamínu D a vznikem cévních kalcifikací. A rovněž je u těchto pacientů popisován vztah mezi syndromem inzulinové rezistence a nízkými koncentracemi vitamínu D (Zeitz, 2003).

Závěrem lze shrnout, že valná část pacientů s CKD trpí chronickým deficitem vitamínu D, který je důležitý nejen pro kostní metabolismus, ale jeho nedostatek má i řadu dalších konsekvencí. V současné době je vyšetření hladiny vitamínu D již dostupnou metodou, ale vždy musíme myslet na komplexní posouzení klinického stavu pacienta a dalších laboratorních parametrů a jejich vývoje v čase.

VITAMÍN D A KARDIOVASKULÁRNÍ ONEMOCNĚNÍ

Snížená koncentrace vitamínu D je podle některých autorů asociována s rizikem kardiovaskulárních onemocnění. Tuto domněnku navíc podporují experimentální práce

na myších s knockoutovaným genem receptoru pro vitamín D, u kterých se objevuje hypertrofie myokardu, arteriální hypertenze a zvýšená aktivita renin-angiotensinového systému (Wang, 2008). Mezi mechanismy, kterými se deficit vitamínu D může podílet na patogenezi kardiovaskulárních onemocnění, zřejmě patří endoteliální dysfunkce, ovlivnění cévní rezistence, chronický zánět, renin-angiotensin-aldosteronový systém a samozřejmě kalcium-fosfátový metabolismus. Existuje řada studií, která zkoumala vztah vitamínu D a úmrtní na kardiovaskulární onemocnění. Závěry jednotlivých studií však nejsou jednoznačné. V některých z nich byla nalezena snížená úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění u pacientů léčených vitamínem D. Např. ve velké studii na více než 51 tisících pacientů na pravidelné hemodialýze, kteří užívali vitamín D, byla zjištěna nižší kardiovaskulární mortalita (7,6/100 osob a rok) oproti nemocným, kteří takto léčení nebyli (14,6/100 osob a rok) (Teng, 2005). Práce Wangu ukazuje na zvýšené riziko kardiovaskulárních onemocnění u nemocných s deficitem vitamínu D (Wang, 2008). Ve své práci zhodnotil 1739 dobrovolníků, kteří se účastnili Framinghamské studie bez dřívějších kardiovaskulárních příhod. Dobrovolníci s hladinami 25(OH) vitamínu D pod 15 ng/ml měli adjustované hazard ratio na běžné rizikové faktory 1,62 (95% CI: 1,11–2,36, $p = 0,01$) pro kardiovaskulární příhodu ve srovnání s dobrovolníky s koncentrací 25-OH vitamínu D vyšší než 15 ng/mL. Tento jev však byl pozorován pouze u dobrovolníků s hypertenzí, ale nikoliv bez hypertenze. Riziko bylo dále stratifikováno dle koncentrace vitamínu D. Hazard ratio 1,53 (95% CI: 1–2,36) pro koncentrace 10–15 ng/ml a 1,80 (95% CI: 1,05–3,08) pro koncentrace pod 10 ng/ml ($p = 0,01$). Podobně Wang ve své metaanalýze z roku 2010 zhodnotil 17 prospektivních a randomizovaných studií zabývajících se suplementací vitamínu D a kalcia ve vztahu k prevenci kardiovaskulárních onemocnění (Wang, 2010). Došel k závěru, že podávání vitamínu D ve středních a vyšších dávkách (> 400 IU/den) snižuje riziko vzniku kardiovaskulárních. Efekt byl však nejvýznamnější u hemodialyzovaných pacientů. Na druhou stranu jiná meta-analýza z roku 2011 zkoumala 51 prací na toto téma (Holick, 2011). Koncentrace vitamínu D zde byla statisticky nesignifikantně asociována s mortalitou (relativní riziko RR 0,96; 95% CI, 0,93–1,00; $p = 0,08$; I² = 0 %), infarktem myokardu (RR 1,02; 95% CI, 0,93–1,13; $p = 0,64$; I² = 0 %), cévní mozkovou příhodou (RR 1,05; 95% CI, 0,88–1,25; $p = 0,59$; I² = 15 %). Z dostupných dat vyplývá, že koncentrace vitamínu D není asociována s rizikem vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Většina autorů však přiznává, že jsou potřeba další velké studie na toto téma k potvrzení či vyvrácení vztahu vitamínu D a kardiovaskulárních onemocnění.

VITAMÍN D A DIABETES

Vztah mezi vitamínem D a glukózovým metabolismem je zkoumán již od počátku 80. let minulého století. Nedostatek vitamínu D je dlouho považován za rizikový faktor pro rozvoj diabetu 1. typu. Data z některých studií ale naznačují, že narušená homeostáza vitamínu D a kalcia může být jedním z faktorů podléjících se i na rozvoji diabetu 2. typu (Pittas, 2010). Mezi potenciální patomechanizmy, kterými deficit vitamínu D ovlivňuje glukózovou homeostázu, patří zhoršení

inzulínové sekrece v důsledku dysfunkce β -buněk, alterace plazmatických hladin kalcia, snížená inzulínová senzitivita periferních tkání a chronický zánět (Weyer, 1999; Hu, 2004). Vitamín D nejspíše ovlivňuje výhradně inzulínovou odpověď na stimulaci glukózou avšak nikoli bazální inzulínem. Přímý efekt vitamínu D může být zprostředkovaný vazbou aktivní cirkulující formy 1,25-dihydroxyvitamínu D na receptor pro vitamín D na β -buňce. K aktivaci vitamínu D ale může docházet i v β -buňce 1- α -hydroxylázou, jejíž exprese v β -buňce byla nedávno prokázána. Nepřímý efekt vitamínu D může být zprostředkovaný regulací extracelulárního kalcia a toku kalcia β -buňkou. Neadekvátní příjem kalcia anebo insuficience vitamínu D mohou narušit rovnováhu koncentrací kalcia mezi extracelulárním prostorem a β -buňkou s následným ovlivněním sekrece inzulínu, zejména po zátěži glukózou (Pittas, 2007). Vitamín D může mít příznivý vliv na účinek inzulínu, a to přímo, stimulační exprese inzulínového receptoru (Maestro, 2000), anebo nepřímo, regulací transportu kalcia buněčnými membránami a koncentrace intracelulárního kalcia. Vápník je esenciální pro inzulínem mediované intracelulární děje ve tkáních, jako je kosterní sval a tuková tkáň a změny koncentrací kalcia v cílových tkáních pro inzulín mohou přispět k periferní inzulínové rezistenci (Ohno, 1998). Existují také data popisující vztah mezi insuficiencí vitamínu D, koncentrací kalcia a systémovým zánětem u diabetu 2. typu (Hu, 2004).

Vztah mezi hladinou vitamínu D a diabetem 1. i 2. typu zkoumaly mnohé epidemiologické studie. Riziko rozvoje diabetu 1. typu je dááno do vztahu s polymorfizmem genu pro receptor pro vitamín D, výsledky provedených studií jsou ale nejednoznačné (Motiwala, 2011). Prospektivní průřezová studie u švýcarských dětí a adolescentů s diabetem 1. typu prokázala vysokou prevalenci deficitu vitamínu D se značnou sezónní fluktuací, ale bez korespondujících změn glykemické kontroly (Janner, 2010). Několik observačních studií prokázalo benefit časné suplementace vitamínem D na riziko rozvoje diabetu 1. typu. V multicentrické studii EURODIAB, která probíhala v 7 centrech v Evropě, bylo zjištěno 33% snížení rizika rozvoje diabetu 1. typu u dětí, které dostávaly suplementaci vitamínem D (Vitamín D suplement-EURODIAB). Metaanalýza pěti studií ukázala signifikantní snížení rizika vzniku diabetu 1. typu, přičemž poukázala na to, že důležitými faktory mohou být dávka a načasování suplementace. Výsledky kontrolovaných prospektivních studií jsou ale nepřesvědčivé (Motiwala, 2011). V této studii byli randomizováni pacienti s nově vzniklým diabetem 1. typu k léčbě 1,25-dihydroxyvitamínem D anebo nikotinamidem spolu s intenzifikovanou inzulínoterapií. Přestože ve skupině léčené 1,25-dihydroxyvitamínem D došlo k přechodnému snížení potřeby inzulínu, po 1 roce nebyl pozorovaný rozdíl v hodnotách C-peptidu ani glykovaného hemoglobinu (Pitocco, 2006).

Význam vitamínu D u diabetu 2. typu byl předpokládán z důvodu sezónního kolísání glykemické kontroly u pacientů s diabetem 2. typu, která se zhoršuje v zimních měsících (Ishii, 2001) a částečně může být způsobena možnou hypovitaminózou D v tomto období. Ve většině observačních studií u pacientů s diabetem 2. typu nebo poruchou glukózové tolerance byla zjištěna nižší sérová koncentrace 25-hydroxyvitamínu D oproti kontrolám bez diabetu

(Pittas, 2007). V delších intervenčních studiích byl však hodnocen vztah mezi koncentrací vitamínu D a rizikem rozvoje diabetu 2. typu jako nekonzistentní. Velká Nurses' Health Study, ve které byly sledovány ženy bez anamnézy diabetu více než 20 let, prokázala, že kombinace zvýšeného příjmu kalcia v dávce více než 1200 mg a 800 IU vitamínu D denně byla spojená s 33% snížením rizika diabetu oproti skupině, kde byl příjem kalcia méně než 600 mg a vitamínu D méně než 400 IU (Pittas, 2006). Na druhé straně, WHI (Women's Health Initiative) – randomizovaná, placebem-kontrolovaná studie se 7letým sledováním neprokázala snížení rizika diabetu při suplementaci kalcia a vitamínu D. Bylo ale pozorováno, že vyšší celkový příjem kalcia a vitamínu D při vstupu do studie byl spojený s mírným snížením incidence diabetu (de Boer, 2008). V další malé studii u žen s diabetem 2. typu měsíční podávání vitamínu D3 vedlo ke zlepšení první fáze sekrece inzulínu a byl pozorován trend ke snížení inzulínové rezistence (Borisova et al.). Většina dalších studií byla krátkého trvání a zahrnovala nízké počty pacientů (Motiwala, 2011).

VITAMÍN D, SVALOVÁ SÍLA A PREVENCE PÁDŮ

Pády zejména u starších jedinců jsou závažným medicínským problémem. Podle literárních údajů se ročně až u 30 % jedinců starších 65 let a 50 % starších 80 let objeví pád (Pfeifer, 2009). Pády jsou samozřejmě asociovány s frakturami a jejich komplikacemi, a to dokonce více než kostní denzita. V patogenezi pádů má značný význam funkce svalů, do jejichž metabolismu vitamín D také zasahuje. V experimentálních studiích na myších s knockoutovaným genem pro vitamín D bylo prokázáno, že nedochází k adekvátnímu vývinu svalové hmoty (Dirks-Naylor, 2011). Proti zdravým kontrolám udávají autoři snížení svalové hmoty až o 20 %, s čímž korelovala i zvýšená úroveň exprese některých regulačních diferenciálních faktorů jako např. myf5, myogeninu a E2A, které mají zásadní roli v diferenciaci svalových buněk. Průřezové studie, které se zabývaly vztahem svalové síly a koncentrace vitamínu D u lidí, ukazují, že nemocní s nižší koncentrací vitamínu D mají i nižší svalovou sílu. Z těchto prací však není zcela jasné, zda je nižší svalová síla způsobena právě sníženou koncentrací vitamínu D nebo nějakým dalším jevem. Existují však práce, ve kterých se jejich autoři právě zabývali možností ovlivnění svalové síly suplementací vitamínu D. Relativně recentní meta-analýza, která se zabývala jejich výsledky, hodnotí data jako kontroverzní, a proto tedy nelze v současnosti učinit jednoznačný závěr, že suplementace vitamínu D zlepšuje svalovou sílu (Annweiler, 2009). Vitamín D může ovlivňovat i tukovou degeneraci svalu. Data z několika studií ukazují, že existuje korelace mezi koncentrací vitamínu D a tukovou degenerací svalu (Oh, 2009). Patofyziologie tohoto případného účinku však není zcela zřejmá. V několika publikacích byla suplementace vitamínu D a kalcia spojena se sníženou incidencí pádů. Práce Pfeiffera ukazuje redukci pádů při suplementaci vitamínem D a kalcie (800 IU a 1000 mg kalcia) o 20 % za 12 měsíců (Pfeiffera, 2009). Zároveň popisuje pokles času nutného k postavení a rozejití se nebo snížení výkyvů těla během chůze. Meta-analýza Bischoff-Ferrari ukazuje snížení rizika pádu u seniorů při suplementaci vitamínem D (700-1000 IU, při dosažení

koncentrace v séru nad 60 nmol/l) o 19 % (Bischoff-Ferrari, 2009). Závěrem lze tedy shrnout, že vitamín D se zřejmě podílí na metabolismu svalů a zasahuje i do jejich funkce. V populaci s vyšším věkovým průměrem je nižší koncentrace vitamínu D v séru asociována s nižší svalovou silou, nicméně přímý vliv není zatím jednoznačně prokázán. Některé práce poukazují na redukci pádů při suplementaci vitamínem D u seniorů.

NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Jak již bylo opakovaně řečeno, působí vitamín D cestou receptoru na genové úrovni. Není proto velkým překvapením, že je zkoumán i jeho vliv na nádorové bujení. Vitamín D je zkoumán především ve spojitosti s nádory tlustého střeva, prostaty, kůže či prsu. Na buněčné úrovni ovlivňuje vitamín D proliferaci a diferenciaci buněk, apoptózu či angiogenezi. Kalcitriol inhibuje proliferaci některých rakovinných buněk ovlivněním buněčného cyklu, a to pozastavením jejich dělení ve fázi G0 až G1 (Yang, 2003). Např. u nádorů prostaty či plic inhibuje kalcitriol růst buněk zvýšenou expresí inhibitoru cyklin-dependentní kinázy, což snižuje fosforylaci onkogenního retinoblastomového proteinu pRb. U apoptózy je mechanismem zvýšená exprese proteinů p53 a p73 (Ma, 2008). V případě angiogeneze působí kalcitriol jako inhibitor vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF) (Mantel, 2000). Vitamín D dále ovlivňuje koncentraci IGF-1 (insulin-like growth factor 1), a to regulací jeho transportního proteinu IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein 3). Vyšší koncentrace C peptidu, IGF-1 a vyšší poměr IGF-1/IGFBP-3 je asociován s vyšším rizikem vzniku kolorektálního karcinomu (Soubray, 2012). Potenciálních příznivých účinků vitamínu D v prevenci nádorového bujení je celá řada. Epidemiologické studie zabývající se vztahem polymorfismu VDR a nádorových onemocnění prokazují možnou asociaci polymorfismu genů FokI a BsmI a některých druhů nádorových onemocnění. Přesto výsledky epidemiologických studií zkoumajících vztah koncentrace vitamínu D s rizikem vzniku nádorových onemocnění jsou opět nejednoznačné, podobně jako klinické studie intervenující vitamínem D (Mocellin, 2011).

VITAMÍN D A IMUNITA

Již v minulosti bylo známo, že nemocní s křivici byli náchylnější k infekčním onemocněním. Účinky vitamínu D mohou hrát jistou roli v prevenci infekčních onemocnění či patogenezi autoimunitních chorob. V současnosti již víme, že účinky vitamínu D se projevují i v činnosti imunitních buněk. VDR je exprimován na dendritických buňkách, T i B lymfocytech. Vitamín D zvyšuje produkci peptidu cathelicidinu, který se nachází v lysozomech makrofágů a působí antimikrobiálně a antivirálně. Dále se pak podílí na regulaci exprese řady prozánětlivých cytokinů, jako je IL-1, IL-6, IL-8 a TNF- α (Hewison, 2012). Nízká koncentrace vitamínu D je asociována s vyšším výskytem respiračních infekcí u dětí i dospělých (Laaksi et al., 2007). Na druhé straně kontrolovaná studie se suplementací vitamínu D neprokázala, že podávání vitamínu D u dospělých snižuje incidenci či tíži infekcí horních cest dýchacích (Li-Ng, 2009).

ZÁVĚR

Účinky vitamínu D jsou zřejmě daleko komplexnější, než bylo doposud známo. Objevuje se velké množství zajímavých informací o pozitivním vlivu vitamínu D na snížení rizika vzniku řady onemocnění. Zatím máme k dispozici výsledky z řady experimentálních modelů a observačních studií. Výsledků z randomizovaných kontrolovaných studií, které by jednoznačně prokazovaly kauzalitu a přínosnost suplementace vitamínem D, je zatím málo. Komplexnost problematiky navíc vede k heterogenitě výsledků a bude třeba ještě mnohem důkladnějšího poznání problematiky, nežli bude upřesněn význam suplementace vitamínem D v léčbě a prevenci některých onemocnění.

Podpořeno: IGA MZ ČR NT/12287-5, IGA MZ ČR č. NT11355-4/2010, PRVOUK P37/12.

LITERATURA

- Annweiler C, Schott AM, Berrut G, Fantino B, Beauchet O. Vitamin D-related changes in physical performance: a systematic review. *J. Nutr. Health Aging* 2009; 13: 893-898.
- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br Med J* 2009; 339: b3692.
- Blahos J, Sotornik I. Changes to calcium-phosphate metabolism associated with chronic nephropathies. *Vnitřní Lekarství* 2012; 58: 12-18.
- Borissova AM, Tankova T, Kirilov G, et al. The effect of vitamin D3 on insulin secretion and peripheral insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *Int J Clin Pract.* 2003; 57: 258-261.
- de Boer IH, Tanker LF, Connelly S et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of incident diabetes in the Women's Health Initiative. *Diabetes Care* 2008; 31: 701-707.
- Dirks-Naylor AJ, Lennon-Edwards S. The effects of vitamin D on skeletal muscle function and cellular signaling. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 2011; 125: 159-68.
- Dusilova Sulkova S. Bone disease in chronic renal failure and its modern therapy. *Vnitřní Lekarství* 2011; 57(7-8): 620-5.
- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride. Washington, DC: National Academies Pr; 2003.
- Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Mar; 76(3): 315-25
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH and Weaver CM: Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1911-1930.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med* 2007; 357: 266-281.
- Hu FB, Meigs JB, Li TY, Rafai N, Manson JE. Inflammatory markers and risk of developing type 2 diabetes in women. *Diabetes* 2004; 53: 693-700.
- Ishii H, Suzuki H, Baba T, Nakamura K, Watanabe T. Seasonal variation of glycemic control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2001; 24: 1503.
- Janner M, Ballinari P, Mullis PE, Fluck CE. High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. *Swiss Med Wkly* 2010; 140: w13091.
- Milner RD, Hales CN. The role of calcium and magnesium in insulin secretion from rabbit pancreas studies in vitro. *Diabetologia* 1967; 3: 47-49.
- Laaksi I, Ruohola JP, Tuohimaa P, et al. An association of serum vitamin D concentrations < 40 nmol/l with acute respiratory tract infection in young Finnish men. *Am. J. Clin. Nutr* 2007; 86(3): 714-717.
- Landry CS, Ruppe MD, Grubbs EG. *Endocr Pract* 2011; 17(1): 63-8.
- Li-Ng M, Aloia JF, Pollack S, et al. A randomized controlled trial of vitamin D3 supplementation for the prevention of symptomatic upper respiratory tract infections. *Epidemiol. Infect* 2009; 137 (10): 1396-1404.
- Ma Y, Yu WD, Hershberger PA, Flynn G, Kong RX, Trump DL, Johnson CS. 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 potentiates cisplatin antitumor activity by p73 induction in a squamous cell carcinoma model. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7: 3047-3055.
- Maestro B, Campión J, Dávila N, Calle C. Stimulation by 1,25-dihydroxyvitamin D3 of insulin receptor expression and insulin responsiveness for glucose transport in U-937 human promonocytic cells. *Endocr J.* 2000; 47(4): 383-91.
- Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res.* 2000; 87: 214-220.
- Mocellin S. Vitamin D and cancer: Deciphering the truth. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1816(2): 172-8.
- Motiwala SR, Wang T. Vitamin D and cardiovascular disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2011; 20: 345-353.
- Oh JH, Kim SH, Kim JH, Shin YH, Yoon JP, Oh CH. The level of vitamin D in the serum correlates with fatty degeneration of the muscles of the rotator cuff. *Journal of Bone & Joint Surgery, British Volume* 2009; 91-B: 1587-93.
- Ohno Y, Suzuki H, Yamakawa H, Nakamura M, Otsuka K, Saruta T. Impaired insulin sensitivity in young, lean normotensive offspring of essential hypertensives: possible role of disturbed calcium metabolism. *J Hypertens* 1998; 11: 421-426.
- Pfeifer M, Begerow B, Minne H, Suppan K, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H. Effects of a long-term vitamin D and calcium supplementation on falls and parameters of muscle function in community-dwelling older individuals. *Osteoporosis International* 2009; 20: 315-22.
- Pitocco D, Crino A, Di Stasio E et al. The effects of calcitriol and nicotinamid on residual pancreatic beta-cell function in patients with recent-onset type 1 diabetes (IMDIAB XI) *Diabet Med* 2006; 23: 920-923.
- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willet WC, Manson JE, Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29: 650-656.
- Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. Review: The role of vitamin D and Calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(6): 2017-2029.
- Pittas AG, Sun Q, Manson JE, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and risk of incident type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2010; 33:2021-2023.

31. Soubry A, Il'yasova D, Sedjo R, Wang F, Byers T, Rosen C, Yashin A, Ukraintseva S, Haffner S, D'Agostino R Jr. Increase in circulating levels of IGF-1 and IGF-1/IGFBP-3 molar ratio over a decade is associated with colorectal adenomatous polyps. *Int J Cancer*. 2012 Jul 15; 131(2):512-7.
32. Teng M, Wolf M, Ofsthun MN, Lazarus JM, Hernan MA, Camargo CA Jr, et al. Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16: 1115-25.
33. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia* 1999; 42: 51-54.
34. Wang T, Pencina M, Booth S. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*. 2008; 117: 503-11.
35. Wang L, Manson JE, Song Y, Sesso HD. Systematic review: Vitamin D and calcium supplementation in prevention of cardiovascular events. *Ann. Intern. Med.* 2010; 152: 315-323.
36. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1999; 104: 787-794.
37. Yang ES, Burnstein KL. Vitamin D inhibits G1 to S progression in LNCaP prostate cancer cells through p27Kip1 stabilization and Cdk2 mislocalization to the cytoplasm. *Journal of Biological Chemistry*. 2003; 278(47): 46862-46868.
38. Zeitz U, Weber K, Soegiarto DW et al. Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB J* 2003; 17: 509-511.

*MUDr. Jakub Víšek, Ph.D.
III. interní gerontometabolická klinika
FN a Lékařská fakulta v Hradci Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: jakub.visek@fnhk.cz*

Příloha č. 4

Dusilova-Sulkova S, Safranek R, Vavrova J, Horacek J, Pavlikova L, Palicka V. Low-dose cholecalciferol supplementation and dual vitamin D therapy in haemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 2015; 47(1):169-176. (IF 1,292)

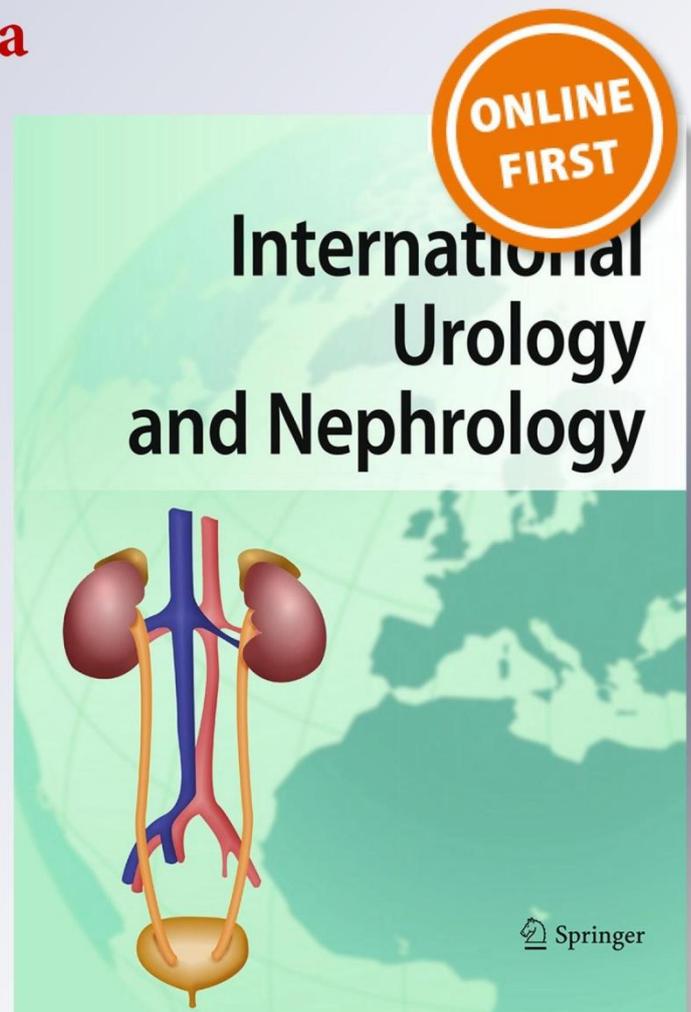
*Low-dose cholecalciferol supplementation
and dual vitamin D therapy in
haemodialysis patients*

**Sylvie Dusilová-Sulková, Roman
Šafránek, Jaroslava Vávrová, Jiří
Horáček, Ladislava Pavlíková &
Vladimír Palička**

**International Urology and
Nephrology**

ISSN 0301-1623

Int Urol Nephrol
DOI 10.1007/s11255-014-0842-7



 Springer

Low-dose cholecalciferol supplementation and dual vitamin D therapy in haemodialysis patients

Sylvie Dusilová-Sulková · Roman Šafránek ·
Jaroslava Vávrová · Jiří Horáček · Ladislava Pavlíková ·
Vladimír Palička

Received: 7 March 2014 / Accepted: 10 September 2014
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2014

Abstract

Background Traditionally, secondary hyperparathyroidism (SHPT) due to low calcitriol synthesis in failing kidneys has been treated with synthetic vitamin D receptor (VDR) activators. Recently, also the importance of low native vitamin D status beyond the issue of SHPT has been recognized in these patients. The aim of this work was to evaluate the effect of cholecalciferol supplementation in haemodialysis patients with low vitamin D serum levels. Another aim was to evaluate dual vitamin D therapy (cholecalciferol supplementation plus paricalcitol) in haemodialysis patients with vitamin D deficiency and concomitant SHPT.

Methods Ninety clinically stable maintenance haemodialysis patients were included. Supervised cholecalciferol supplementation was administered due to low vitamin D status. Patients with SHPT were also treated with synthetic VDR activator. Two pre hoc subgroups for statistical analysis were formed: patients treated solely with cholecalciferol ($N = 34$; 5,000 IU once weekly) and patients treated with a combination of cholecalciferol (identical dose, i.e. 5,000 IU/week) plus paricalcitol ($N = 34$, median dose 10 $\mu\text{g}/\text{week}$). Follow-up visit was scheduled 15 weeks later. Serum concentrations of calcidiol (25-D), parathyroid hormone (PTH) and beta-cross laps (CTX) were assessed at baseline and at follow-up. Serum calcium, phosphate and alkaline phosphatase (ALP) were monitored monthly. Only non-calcium gastrointestinal phosphate binders were administered. Dialysate calcium was 1.5 mmol/L in all patients, and no oral calcium-containing preparations were prescribed. Depending on data distribution, parametric or nonparametric statistical methods were used for comparison within each group (i.e. baseline vs. follow-up data) as well as between groups.

Results In the whole group of 90 patients, mean baseline 25-D serum level was 20.3 (standard deviation 8.7) nmol/L, and it increased to 66.8 (19) nmol/L ($p < 0.0001$) after supplementation. In both preformed subgroups, the effect of vitamin D supplementation was almost identical. In cholecalciferol monotherapy, 25-D levels increased from 18.4 (8.2) to 68.6 (21.2) and in dual vitamin D therapy from 18.4 (5.0) to 67.6 (17.7) nmol/L (both $p < 0.0001$). In addition, both treatment modalities decreased serum PTH levels importantly: from 21.7 (interquartile range 17.3; 35.4) to 18.1 pmol/L (15.3; 24.7) in monotherapy ($p = 0.05$) and from 38.6 (31.8; 53.3) to 33.9 pmol/L (26.1; 47.5) in dual vitamin D therapy ($p = 0.01$). Serum calcium, phosphate, ALP and CTX did not change. We have not observed any

S. Dusilová-Sulková (✉) · R. Šafránek
Haemodialysis Centre, University Hospital Hradec Kralove,
Sokolská 581, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic
e-mail: sulkovas@gmail.com

S. Dusilová-Sulková
Department of Internal Medicine II, Faculty of Medicine
and University Hospital, Charles University, Hradec Kralove,
Czech Republic

R. Šafránek
Department of Internal Medicine III, Faculty of Medicine
and University Hospital, Charles University, Hradec Kralove,
Czech Republic

J. Vávrová · L. Pavlíková · V. Palička
Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine
and University Hospital, Charles University, Hradec Kralove,
Czech Republic

J. Horáček
Department of Internal Medicine IV, Faculty of Medicine
and University Hospital, Charles University, Hradec Kralove,
Czech Republic

episode of hypercalcemia in any subject during the whole period of follow-up. At baseline, slightly lower 25-D levels were observed in diabetic than in non-diabetic patients. This difference disappeared after substitution. Vitamin D status and its changes were not related to the patient's age.

Conclusion Low 25-D levels were very common in haemodialysis patients. They were safely and effectively corrected with supervised low-dose cholecalciferol supplementation. In patients with higher baseline PTH levels, dual vitamin D therapy (cholecalciferol plus paricalcitol) was safely and effectively used.

Keywords Cholecalciferol · Parathyroid hormone · Vitamin D supplementation · Paricalcitol · Dual vitamin D therapy · Haemodialysis

Introduction

Vitamin D biology and physiology are significantly changed in chronic kidney disease (CKD) and namely in end-stage renal disease (ESRD) patients on dialysis. Traditionally, low serum calcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol, 1,25-D) concentrations in these patients have been explained by a decreased or even missing renal 1α -hydroxylase activity, being responsible for hydroxylation of calcidiol (25-D). However, also several non-renal tissues and cell lines express their own 1α -hydroxylase activity, forming calcitriol for autocrine and paracrine action (for review, see [1]).

Both renal and non-renal calcitriol formations are substrate dependent. Therefore, calcitriol production is limited in case of low serum 25-D. Generally, serum 25-D levels >75 nmol/L (to convert to ng/mL, multiple by 0.4) indicate sufficient vitamin D stores, while also values >50 nmol/L are considered acceptable by some authors.

Many CKD and especially ESRD patients on maintenance dialysis are vitamin D deficient. While the exact cause is not known, suggested explanations include low sun exposure, disturbed skin conversion of vitamin D precursor, low food intake of vitamin D, loss of vitamin D-binding protein due to proteinuria, and accelerated vitamin D catabolism [2–6].

Traditionally, low serum 25-D and the issue of native vitamin D supplementation in dialysis patients have been neglected. In order to control or reverse secondary hyperparathyroidism (SHPT), nephrologists have directly focused on synthetic calcitriol or so-called direct vitamin D receptor (VDR) activators, as VDR activation is a way how to suppress parathyroid hormone (PTH) gene transcription. However, this approach has changed recently along with the recognition of the importance of non-renal 1α -hydroxylation and with documented associations

between low calcidiol levels and inverse consequences [7–13]. Contrary to this previous approach, vitamin D status and its consequences as well as treatment options represent now a hot topic in nephrology [13–17].

In principle, two treatment modalities with related but distinct aims are available: (a) native vitamin D supplementation, providing the substrate for hydroxylation, and (b) active VDR activators administration, i.e. direct suppression of PTH production. Theoretically, they may or even should be administered concomitantly [5]. However, there have been scarce data about such a combined treatment [18].

The aim of this work was to evaluate the effect of low-dose vitamin D supplementation in haemodialysis (HD) patients. Another aim was to evaluate dual vitamin D therapy (cholecalciferol supplementation plus direct VDR activator, namely paricalcitol) in HD patients with vitamin D deficiency and concomitant SHPT.

Materials and methods

Ninety maintenance HD patients in our institution (University Hospital Hradec Králové, latitude $50^{\circ}15'N$) were included.

Serum vitamin D concentrations (25-D, nmol/L, direct competitive chemiluminescence immunoanalysis, LIAISON 25 OH Vitamin D TOTAL Assay; DiaSorin, Italy) were assessed together with mineral and bone metabolism indicators (see below).

Serum calcium (Ca, mmol/L), phosphate (P, mmol/L) and alkaline phosphatase (ALP, $\mu\text{kat/L}$) were measured monthly, using routine automatic laboratory methods.

Serum immunoreactive parathyroid hormone concentration (PTH, pmol/L; electrochemiluminescence immunoassay on fully automated analyser, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) was assessed at least every second month.

Serum 25-D and beta-cross-laps (CTX, $\mu\text{g/L}$, sandwich immunoanalysis with chemiluminescence detection, Roche, Germany) were measured at baseline and after 15 weeks (follow-up values).

All studied patients had baseline serum calcidiol levels below 50 nmol/L, and none had serum calcium above the upper limit of reference range (2.55 mmol/L). Patients with baseline 25-D level between 30 and 50 nmol/L ($N = 15$) received 5,000 IU of cholecalciferol every second week, and patients having baseline value <30 nmol/L ($N = 75$) received 5,000 IU every week. All these patients had baseline as well as follow-up examinations.

Phosphate binders were used in 70 and cinacalcet hydrochloride in three cases (maximum 60 mg/day, not taken at least 12 h before serum sampling). We did not use

calcium-based binders, and we did not administer calcium supplementation in any patient. Dialysis solution contained 1.5 mmol/L of diffusible calcium.

To ensure full compliance with the therapy, vitamin D was administered by nursing staff during the first HD procedure in the week. We used cholecalciferol in drops for oral use (500 IU in one drop).

Together with cholecalciferol, paricalcitol ($N = 42$) or calcitriol ($N = 8$) was administered in patients with SHPT (dual vitamin D therapy in 50 patients). To compare fixed low dose of cholecalciferol in monotherapy to dual vitamin D therapy, we formed two pre hoc subgroups for analysis: (a) 34 patients treated solely with cholecalciferol (5,000 IU/week) and (b) 34 patients treated with the combination of cholecalciferol (also 5,000 IU/week) plus paricalcitol (median 10 $\mu\text{g}/\text{week}$ intravenously, interquartile range 10;10 $\mu\text{g}/\text{week}$). Doses of cholecalciferol as well as of paricalcitol remained constant in all patients. Patients treated with calcitriol, which may differently influence serum calcium and phosphorus, were not considered for this comparative subanalysis. Also patients treated with lower cholecalciferol dose than 5,000 IU weekly and/or patients treated with cinacalcet were not included. This approach allowed us to achieve maximum homogeneity of two analysed subgroups, as the only difference in terms of vitamin D therapy was paricalcitol treatment yes or no.

Blood was sampled immediately before the first HD in a week, always 7 days after the last cholecalciferol administration. Patients' clinical data, including primary renal diagnosis, age, dialysis vintage, dialysis adequacy, as well as clinical status were also recorded.

Our study was designed as a part of research grant project, approved by institutional ethics committee. Patients were informed about the study procedures and expressed their consent. All procedures were in accordance with Helsinki Declaration.

Baseline examination was performed at February 2013 and the follow-up in June 2013. For discussing the issue of seasonal variability, historical control group of HD patients ($N = 58$, mean age 65 years, 32 male) was used from the same institution, having serum 25-D assessment both in March and June 2006. In the meantime, they did not receive any vitamin D supplementation. In June 2013, we also measured serum 25-D in incident HD patients who started HD treatment between February and June 2013 ($N = 8$), all being vitamin D therapy naive.

Statistical analysis

Depending on data distribution, the results were expressed as mean \pm standard deviation (SD) or median (interquartile

range, IQR), and parametric or nonparametric tests were used for analysis: for paired data, t test or Wilcoxon's test, respectively, and for between-group comparisons, t test or Mann–Whitney's U test, respectively. Unilateral correlation analysis was performed using Pearson's (r) or Spearman's correlation (r_s), as appropriate.

All tests were two-sided, and p value <0.05 was considered to be statistically significant. Statistica (version 11, Stat Soft, Inc) was used for calculations.

Results

Baseline status

Ninety patients were included (male = 60). Their age was 66.4 ± 12.0 years. The causes of their ESRD were diabetes mellitus ($N = 31$), primary glomerulonephritis ($N = 10$), vascular/ischaemic nephropathy ($N = 10$), tubulointerstitial nephritis ($N = 15$), polycystic kidney disease ($N = 6$) and other causes ($N = 8$). In 10 patients, the cause of renal failure was unknown. One patient had been previously transplanted, and one was transferred from peritoneal dialysis. All have been regularly haemodialysed more than 3 months. Median haemodialysis vintage was 33 months, and third quartile was more than 5 years.

Seventy-two patients had their serum 25-D < 25 nmol/L (10 ng/mL), indicating severe vitamin D deficiency in 80 % previously non-supplemented HD patients.

In unilateral analysis of baseline data in 90 patients included into the study, no relation of serum 25-D level with any of the measured biochemical variable was found. However, serum CTX correlated positively with PTH ($r_s = 0.36$, $p < 0.001$). Also, a positive correlation of serum P and PTH was found ($r_s = 0.30$, $p < 0.01$).

Impact of cholecalciferol supplementation on serum 25-D concentration and on bone metabolism parameters

Cholecalciferol dose was 5,000 IU once weekly ($N = 75$) or 5,000 IU every second week ($N = 15$) and remained constant in all patients. No significant changes were observed between baseline and follow-up serum concentrations of Ca, P, CTX and ALP (Table 1).

Highly significant increase in serum 25-D was observed ($p < 0.0001$). Serum 25-D above 50 nmol/L has been reached in 87 patients. In 5 patients, the follow-up serum 25-D concentration was >100 nmol/L (maximum 128 nmol/L). Even in these five patients, neither serum Ca nor serum P at the final visit differed from baseline values. No episode of hypercalcemia was observed during the study period in any patient.

Table 1 Impact of cholecalciferol supplementation on vitamin D status and on bone and mineral metabolism laboratory parameters

<i>N</i> = 90	Units	Baseline	Follow-up	Statistical significance
Ca	mmol/L	2.16 ± 0.14	2.17 ± 0.15	n.s.
P	mmol/L	1.71 ± 0.43	1.80 ± 0.48	n.s.
ALP	ukat/L	1.56 ± 0.62	1.61 ± 0.75	n.s.
CTX	ug/L	1.9 (1.39–2.50)	2.05 (1.51–2.65)	n.s.
PTH	pmol/L	32.3 (21.1–43.0)	21.8 (23.2–16.1)	0.001
25-D	nmol/L	20.3 ± 8.7	66.8 ± 19.0	0.0001

Serum PTH and CTX are expressed as median (interquartile range) and other variables as mean ± standard deviation

PTH immunoreactive parathyroid hormone, CTX beta-cross-laps, *N* number of subjects

Comparison of dual vitamin D therapy with cholecalciferol monotherapy

Two pre hoc subgroups were formed, and patients on cholecalciferol monotherapy were compared with patients on dual vitamin D therapy (cholecalciferol plus paricalcitol). As stated above, the cholecalciferol dose was identical in all patients and was 5,000 IU per week.

Baseline serum 25-D levels were not different between both subgroups, and they significantly and fully comparably increased after cholecalciferol supplementation (Fig. 1). Baseline serum 25-D was 18.4 ± 8.2 nmol/L and increased to 68.6 ± 21.2 nmol/L in cholecalciferol monotherapy subgroup ($p < 0.0001$). Similarly, baseline serum 25-D was 18.4 ± 5.0 nmol/L and increased to 67.6 ± 17.7 nmol/L in dual vitamin D therapy.

Baseline and follow-up concentrations of serum Ca, P and PTH are shown in Table 2.

Baseline serum calcium concentration was slightly higher in patients on dual vitamin D therapy, and this difference persisted at follow-up assessment. Baseline serum phosphate level was also higher in this subgroup, but the difference between both subgroups remained only of borderline significance at the follow-up visit. Serum phosphate slightly increased in cholecalciferol monotherapy, but did not change in dual vitamin D therapy subgroup.

Serum PTH decreased numerically in both subgroups. The decrease was of borderline statistical significance in monotherapy and clearly significant in dual vitamin D therapy.

At the baseline, serum CTX was 2.33 (1.59–3.34) µg/L in patients allocated to dual vitamin D therapy and 1.71 (1.31–2.10) µg/L in those allocated to cholecalciferol monotherapy ($p < 0.01$). At the follow-up, serum CTX was 2.27 (1.61–2.84) µg/L in patients on dual vitamin D therapy (no change compared with baseline) and 1.9 (1.5–2.64) µg/L in those on cholecalciferol monotherapy (a marginal increase, $p = 0.05$).

Great majority of patients did not change their sevelamer carbonate dose, and median of their initial as well as follow-up dose was 3,200 mg in both subgroups. Only few patients changed their sevelamer carbonate prescription. In cholecalciferol monotherapy, sevelamer dose was increased in four patients and decreased in one patient. In dual vitamin D therapy, dose was increased in five and decreased in three subjects. No patient without baseline sevelamer administration started phosphate binder therapy during the follow-up. Time point of individual serum phosphate maximum was between second and third months of the study in both subgroups. Neither maximum serum phosphate nor the difference between maximum and minimum serum phosphate differed between cholecalciferol monotherapy and dual vitamin D therapy subgroups.

Fig. 1 Baseline and follow-up serum cholecalciferol (25-D) level in patients on cholecalciferol monotherapy (5,000 IU once a week) and on dual vitamin D therapy (cholecalciferol 5,000 IU once a week plus paricalcitol, median dose 10 µg per week). No difference in the magnitude of the significant increase in both subgroups

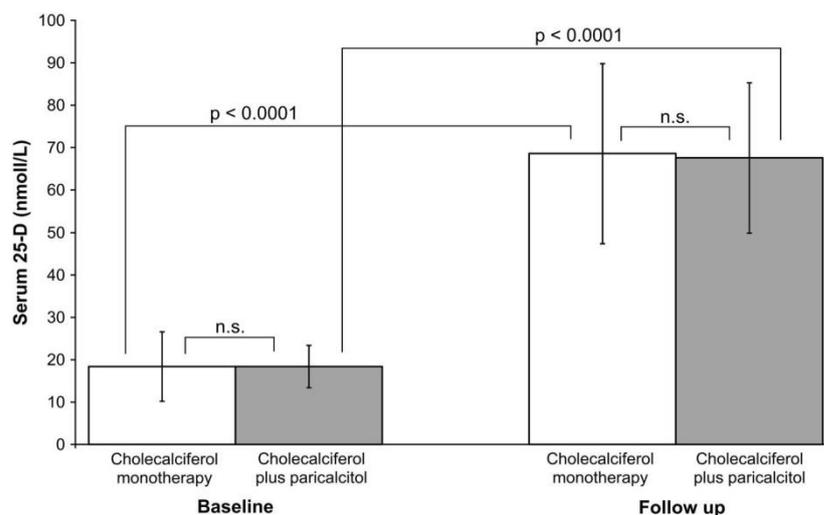


Table 2 Comparison of dual vitamin D therapy with cholecalciferol monotherapy: serum Ca, P and PTH

Therapy	Ca (mmol/L)		P (mmol/L)		PTH (mmol/L)		P (within a group)
	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	Baseline	Follow-up	
Cholecalciferol monotherapy (N = 34)	2.14 ± 0.12	2.13 ± 0.14	n.s.	1.60 ± 0.37	1.77 ± 0.44	0.05	0.05
Cholecalciferol plus paricalcitol (N = 34)	2.20 ± 0.13	2.23 ± 0.15	n.s.	1.82 ± 0.41	1.76 ± 0.48	n.s.	0.01
P (between groups)	0.06	0.01	n.a.	0.01	0.05	n.a.	n.a.

Cholecalciferol dose was 5,000 IU per week in all patients. Paricalcitol dose was 10 µg per week (median). Values are given as mean ± standard deviation or median (interquartile range)

Effect of dosing schedule, age, gender and diabetes mellitus on vitamin D status

Follow-up serum 25-D was 59.9 ± 13.0 nmol/L in patients with administration every second week, but 68.3 ± 19.0 nmol/L in patients with 5,000 IU of cholecalciferol administered every week. The magnitude of the serum 25-D increment was significantly different between these post hoc formed subgroups ($p < 0.001$).

Baseline serum 25-D did not differ between patients older or younger than median age. After a supplementation of 5,000 IU cholecalciferol per week, serum 25-D was 64 ± 22.7 umol/L in younger patients and 64.5 ± 23.3 umol/L in older patients (n.s.), indicating no influence of age.

At the baseline, mean serum 25-D was higher in men (21.9 ± 9.0 nmol/L) than in women (17.3 ± 7.2 ; $p < 0.01$). At the follow-up assessment, this gender difference disappeared (67.5 ± 20.3 nmol/L in men and 65.5 ± 16.5 nmol/L in women; n.s.).

Baseline 25-D concentrations were lower in diabetics compared with non-diabetics (17.4 ± 7.1 vs. 23.1 ± 13.5 nmol/L; $p < 0.01$). At week 15, no significant difference was observed between diabetics and non-diabetics (63.9 ± 17.7 vs. 68.4 ± 21.3 pmol/L; n.s.).

Discussion

Very high prevalence of low vitamin D status in our HD patients previously not supplemented with nutritional vitamin D is in accordance with other reports [2, 9, 10, 19]. The novel finding of our study is that effective correction of low serum 25-D concentration may be achieved with low cholecalciferol dose (only 5,000 IU once weekly).

Several other recent papers used weekly schedule of cholecalciferol administration in HD patients. In all of them, an increase in serum 25-D was observed after supplementation. However, higher doses of vitamin D were used compared with ours [3, 4, 20, 21]. Doses of 10,000 IU/week have been shown effective as well as safe [3]. On the other hand, with 40,000 IU weekly, some patients reached 25-D value even >200 nmol/L and several hypercalcemic episodes were observed [20]. Our dose of 5,000 IU weekly is the lowest dose reported to correct vitamin D deficiency in CKD patients. However, further dose lowering cannot be recommended, as administration of 5,000 IU every other week was less effective.

We have observed a slight decrease in serum PTH with cholecalciferol monotherapy in patients without advanced SHPT. We have also observed a PTH decrease with dual cholecalciferol plus paricalcitol therapy in patients with SHPT. According to previous reports, effect of vitamin

D supplementation on serum PTH may vary [3, 20, 21]. Marckmann [20] did not observe any PTH decrease even with 40,000 IU of cholecalciferol weekly. However, our decrease in serum PTH concentration must be interpreted with a caution due to the high intraindividual variability of serum PTH [22]. Intraindividual concentrations of ALP are less variable [23]. However, in our study, no change of ALP was observed in the whole group, as well as in both pre hoc formed subgroups. Also CTX did not change in dual vitamin D therapy. This may be indirect evidence that bone turnover itself was not changed during this relatively short study period.

Another novel finding of our study is the efficacy and safety of dual vitamin D therapy. Published data about the combined vitamin D supplementation plus paricalcitol are very scarce [18]. In a prospective study, Matias observed a decrease in paricalcitol use from 44 to 33 % of HD patients supplemented with cholecalciferol, but no other attention was deserved to dual vitamin D therapy compared with monotherapy [24]. Saab administered ergocalciferol supplementation in haemodialysis patients treated already with paricalcitol. Median dose of paricalcitol did not change, but again, no detailed data about the dual vitamin D therapy were provided [25]. We clearly demonstrated that the combination of vitamin D supplementation plus paricalcitol is both effective and safe, at least in given dosing schedule and in given period of time. Importantly, no significant changes in serum Ca and/or P between baseline and follow-up levels were observed (only slight phosphate increase in monotherapy). The highest serum calcium in each individual patient, as well as their highest serum phosphate, was observed at any time of the study period (even at the baseline in some cases). This indicates that neither cholecalciferol supplementation nor dual vitamin D therapy per se has been responsible for serum calcium and phosphate fluctuations.

In our study, the magnitude of serum 25-D increase was quite similar in both subgroups (cholecalciferol monotherapy and dual vitamin D therapy) which indicates that concomitant VDR activator does not interfere with the effect of vitamin D supplementation on serum 25-D concentration.

A question may arise whether normalized vitamin D status may also enhance Ca gastrointestinal absorption. We did not observe any increase in serum calcium, but we did not administer any oral calcium supplementation. In a recent study, calcium absorption was 12 % and did not change when serum 25-D increased to 50 ng/mL (125 nmol/L), indicating that nutritional vitamin D had no effect on calcium absorption, which is in accordance with our data [26].

Majority of our patients were treated by sevelamer carbonate, a non-calcium-based gastrointestinal phosphate binder. It has been postulated that due to bile acid

sequestration sevelamer decreases vitamin D absorption from gastrointestinal tract [27]. The magnitude of serum 25-D increase in our patients, supplemented with very small cholecalciferol doses, did not support the clinical relevance of this assumption.

We found two papers reporting on the effect of vitamin D supplementation on serum CTX level [28, 29], one showing a decrease after prolonged period of therapy [28], but no change was observed in second study [29]. In our patients, baseline serum CTX concentrations correlated with baseline serum PTH, confirming that CTX is not simply a retained molecule, but at least partially reflects bone turnover. After 15 weeks of supplementation, we did not observe any decrease in CTX concentration, either in monotherapy with cholecalciferol or in dual vitamin D therapy. Our study period was likely too short to observe any changes in bone turnover.

Diabetics had a little bit lower baseline 25-D levels compared with non-diabetics. However, after supplementation, this difference disappeared. Also Armas observed a similar increase in 25-D levels in diabetics and in non-diabetics [3]. In practice, the approach to vitamin D supplementation may be identical for diabetics and non-diabetics.

Our study has several limitations. We did not use control group, and the study sample was formed only with one-centre population, being thus rather small. Moreover, the study was only observational and short, and it lasted only 15 weeks. Our baseline measurement was done in February and the follow-up assessment in June. Our results may thus be questioned with respect to possible seasonal variations in serum 25-D, well known from the population studies in healthy subjects. However, it may be much less clear in HD patients, with their considerably different lifestyle. Delanay observed seasonal variation of 25-D in his placebo group [21]. However, there are several points supporting that 25-D increase in our studied patients was rather due to vitamin D supplementation. First, we have the opportunity to use historical data from 58 maintenance HD patients from the same institution, i.e. from the same geographical area. Their serum 25-D concentrations were 24.7 ± 12.0 nmol/L (March 2006) and 24.0 ± 12.5 nmol/L (June 2006), indicating no seasonal influence. All these HD patients were vitamin D naive and did not receive any vitamin D supplementation between March and June 2006 (the issue of vitamin D supplementation in HD patients was neglected at that time). Second, in our incident HD patients, starting HD between March and June 2013 and not being on cholecalciferol supplementation (and not included into the study), the serum 25-D assessed in June 2013 varied between 10.1 and 29.9 nmol/L, being significantly lower than values in the treated cohort. Next, there were only very few sunny days that spring. Moreover, the magnitude

of serum 25-D increase was higher in patients treated with 5,000 IU per week than in patients with less frequent dosing. Lastly, outdoor physical activity was much compromised in majority of our patients and active and non-active patients did not have different vitamin D status. We are aware that this supporting evidence does not mean a proof against seasonal variation.

On the other hand, our study is strong in several aspects: cholecalciferol was administered directly by nursing staff and despite the single-centre study and thus limited number of subjects the number of patients was still higher compared with most previous studies. Cholecalciferol dose was identical in both subgroups and remained unchanged during the whole follow-up period.

We therefore conclude that dose of 5,000 IU cholecalciferol once weekly is effective and safe in HD patients. In vitamin D-depleted HD patients with advanced SHPT, vitamin D supplementation may be safely and effectively combined with a direct vitamin D receptor activator.

Acknowledgments This study was supported by Research Project NT/11355-4/2010 Ministry of Health of the Czech Republic.

Conflict of interest S.D.S. served as speaker for Amgen (Czech Republic) and Abbvie (Czech Republic). There is no conflict of interest in co-authors of the manuscript.

References

- Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357:266–281
- González EA, Sachdeva A, Oliver DA, Martin KJ (2004) Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease. A single center observational study. *Am J Nephrol* 24:503–510
- Armas LAG, Andukuri R, Barger-Lux J, Heaney RP, Lund R (2012) 25-Hydroxyvitamin D response to cholecalciferol supplementation in hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 7:1428–1434
- Tokmak F, Quack I, Schieren G, Sellin L, Rattensperger D, Letz TH, Weiner SM, Rump LC (2008) High-dose cholecalciferol to correct vitamin D deficiency in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 23:4016–4020
- Jones G (2010) Why dialysis patients need combination therapy with both cholecalciferol and a calcitriol analog? *Semin Dial* 23:239–243
- Michaud J, Naud J, Ouimet D, Demers C, Petit JL, Leblond FA, Bonnardeaux A, Gascon-Barre M, Pichette V (2010) Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J Am Soc Nephrol* 21:1488–1497
- Jean G, Vanel T, Terrat JC, Chazot C (2010) Prevention of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients: the key role of native vitamin D supplementation. *Hemodial Int* 14:486–491
- London GM, Guerin AP, Verbeke FH, Pannier B, Boutouyrie P, Marchais SJ, Metivier F (2007) Mineral metabolism and arterial functions in end-stage renal disease: potential role of 25-hydroxyvitamin D deficiency. *J Am Soc Nephrol* 18:613–620
- Anand S, Chertow GM, Johansen KL, Grimes B, Darlymple LS, Kaysen A, Kurela Tamura M (2013) Vitamin D deficiency and mortality in patients receiving dialysis: the Comprehensive Dialysis Study. *J Ren Nutr* 23:422–427
- Drechsler C, Verduijn M, Pilz S, Dekker FW, Krediet RT, Ritz E, Wanner C, Boeschoten EW, Brandenburg V, for the NECOSAD Study Group (2011) Vitamin D status and clinical outcomes in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrol Dial Transplant* 26:1024–1032
- Pilz S, Tomaschitz A, Friedl C, Amrein K, Drechsler C, Ritz E, Boehm BO, Grammer TB, Maerz W (2011) Vitamin D status and mortality in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 26:3603–3609
- Taskapan H, Wei M, Oreopoulos DG (2006) 25(OH) Vitamin D3 in patients with chronic kidney disease and those on dialysis: rediscovering its importance. *Int Urol Nephrol* 38:323–329
- Kandula P, Dobre M, Schold JD, Scheiber MJ, Mehrotra R, Navaneethan SD (2011) Vitamin D supplementation in chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies and randomized controlled trials. *Clin J Am Soc Nephrol* 6:50–62
- Szeto CC, Kam-Tao Li P (2009) The use of vitamin D analogues in chronic kidney diseases: possible mechanisms beyond bone and mineral metabolism. *NDT Plus*. doi:10.1093/ndtplus/sfp034
- Melamed ML, Thadhani RI (2012) Vitamin D therapy in chronic kidney disease and end stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 7:358–365
- Nigwekar SU, Bhan I, Thadhani R (2012) Ergocalciferol and cholecalciferol in CKD. *Am J Kidney Dis* 60:139–156
- Moorthi RN, Kandula P, Moe SM (2011) Optimal vitamin D, calcitriol and vitamin D analog replacement in chronic kidney disease: to D or not to D: that is the question. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 20:354–359
- Vondracek SF, Hoody DW (2011) Combination vitamin D therapy in stage 5 chronic kidney disease. *Ann Pharmacother* 45:1011–1015
- Ravani P, Malberti F, Tripepi G, Pecchini P, Cutrupi S, Pizzini P, Mallamaci F, Zoccali C (2008) Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 75:88–95
- Marckmann P, Agerskov H, Thinesh Kumar S, Bladbjerg EM, Sidelmann JJ, Jespersen J, Nybo M, Rasmussen LM, Hansen D, Scholze A (2012) Randomized controlled trial of cholecalciferol supplementation in chronic kidney disease patients with hypovitaminosis D. *Nephrol Dial Transplant* 27:3523–3531
- Delanaye P, Weeker L, Warling X, Moonen M, Smelten N, Médart L, Krzesinski JM, Cavalier E (2013) Cholecalciferol in haemodialysis patients: a randomized, double-blind, proof-of-concept and safety study. *Nephrol Dial Transplant* 28:1779–1786
- Gardham C, Stevens PE, Delaney MP, LeRoux M, Coleman A, Lamb EJ (2010) Variability of parathyroid hormone and other markers of bone mineral metabolism in patients receiving hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:1261–1267
- Sardiwal S, Gardham C, Coleman AE, Stevens PE, Delaney MP, Lamb EJ (2012) Bone-specific alkaline phosphatase concentrations are less variable than those of parathyroid hormone in stable hemodialysis patients. *Kidney Int* 82:100–105
- Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, Borges M, Aires I, Amaral T, Gil C, Cortez J, Ferreira A (2010) Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: Effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:905–911
- Saab G, Young DO, Gincherman Y, Giles K, Norwood K, Coyne DW (2007) Prevalence of vitamin D deficiency and the safety and effectiveness of monthly ergocalciferol in haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 105:132–138
- Armas LAG, Zena M, Lund R, Heaney RP (2013) Calcium absorption response to cholecalciferol supplementation in haemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 8:1003–1008

27. Braunlin W, Zhorow E, Guo A, Apruzzese W, Xu Q, Hook P, Smisek DL, Mandeville HM, Holmes-Farley SR (2002) Bile acid binding to sevelamer HCl. *Kidney Int* 62:611–619
28. Jean G, Souberbielle JC, Chazot C (2009) Monthly cholecalciferol administration in haemodialysis patients: a simple and efficient strategy for vitamin D supplementation. *Nephrol Dial Transplant* 24:3799–3805
29. Massart A, Debelle FD, Racape J, Gervy C, Husson C, Dhaene M, Wissing KM, Nortier JL (2014) Biochemical parameters after cholecalciferol repletion in hemodialysis: Results from the VitaDial randomized trial. *Am J Kidney Dis*. doi:10.1053/j.ajkd.2014.04.020

Příloha č. 5

Dusilova Sulkova S, Horacek J, Safranek R, Gorun P, Viklicky O, Palicka V. Denosumab associated with bone density increase and clinical improvement in a long-term hemodialysis patient. Case report and review of the literature. Acta medica (Hradec Králové) / Universitas Carolina, Facultas Medica Hradec Králové 2014; 57 (1): 30-33.

DENOSUMAB ASSOCIATED WITH BONE DENSITY INCREASE AND CLINICAL IMPROVEMENT IN A LONG-TERM HEMODIALYSIS PATIENT. CASE REPORT AND REVIEW OF THE LITERATURE

Sylvie Dusilová Sulková^{1,2}, Jiří Horáček³, Roman Šafránek^{1,4}, Petr Gorun⁵, Ondřej Viklický⁶, Vladimír Palička⁷

Hemodialysis Centre, University Hospital Hradec Kralové, Czech Republic¹, Department of Internal Medicine II, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic², Department of Internal Medicine IV, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic³, Department of Internal Medicine III, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic⁴, Hemodialysis centre BBraun Avitum, Ustí nad Orlicí, Czech Republic⁵, Department of Nephrology, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic⁶, Department of Clinical Biochemistry, Charles University, Faculty of Medicine and University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic⁷

Summary: Denosumab is a human monoclonal antibody representing a novel therapy of osteoporosis. Contrary to always other antiosteoporotic drugs, it is not contraindicated in advanced chronic kidney disease, as its pharmacokinetic does not differ from patients with normal kidney function. However, published case reports in chronic kidney disease (CKD) patients stopped the therapy after single dose because of hypocalcemia. We present a case of successful treatment of osteoporosis in a young hemodialysis patient with repeated denosumab doses.

Key words: Denosumab; Bone density; Hemodialysis; Hypocalcemia; Parathormone

Introduction

Denosumab is a full length human monoclonal antibody binding to the receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL), mimicking the action of osteoprotegerin (OPG, natural decoy receptor of RANKL) and representing a novel therapy of osteoporosis, approved by FDA in 2010 (1). By its action on RANKL, denosumab reduces the signal that is essential for osteoclasts formation, maturation, function and survival. RANKL inhibition has no effect on osteoblasts.

Denosumab is not cleared by the kidneys. In chronic kidney disease (CKD) dose adjustment of denosumab is not required but calcium and vitamin D supplementation is strongly recommended (2).

So far, only few case reports or very limited case series describing the experience with denosumab in CKD have been published. They all stopped the therapy after single dose because of hypocalcemia (3, 4, 5, 6, 7, 8) (Table 1).

We present a case of successful treatment of osteoporosis in a young hemodialysis patient with repeated denosumab doses.

Case report

A 30-year-old woman with end-stage renal disease (ESRD) has been hemodialyzed since 2002. In 2004, she

underwent unsuccessful kidney transplantation. Genetic form of atypical hemolytic-uremic syndrome (HUS) was confirmed in 2006 and she has been treated with low-dose methylprednisolone and fresh-frozen plasma replacement since.

She suffered from severe back pain. Her concomitant secondary hyperparathyroidism (SHPT) has been well controlled using calcitriol (2005–2008) or paricalcitol (5–15 µg per week starting in 2008) respectively. In 2008, her T-score was –3.9 (DXA, lumbar spine) and –3.6 (total hip). Off-label alendronate between 2008 and 2011 was without any clinical effect.

After careful examination, in-label denosumab (60 mg s.c.) was first given in August 2011. Oral calcium together with nutritional vitamin D was supplemented accordingly. At six-month intervals, four further doses of denosumab were administered.

The bone turnover markers decreased considerably (Table 2). The decrease was sharp shortly after the start of therapy, but in the later period, bone turnover markers normalized. Of interest is namely a profound decrease of serum osteocalcin from 154.1 µg/l to 1.9 µg/l within two months after the first dose, but with further slight increase (these serum samples for bone markers assessment were taken always before denosumab administration). Vitamin D status was well presented with vitamin D supplementation (300,000 IU in regular three months intervals).

Tab. 1: Published case-reports with denosumab use in advanced CKD stages (only 1 dose in all cases).

Author	No of patients	CKD stage; RRT	Age (years)	Lowest serum Ca	Symptoms	Time point of low Ca (post dose)	Serum PTH before denosumab administration	Serum PTH after denosumab	Note
McCormick (2012)	1 (3)	HD	61	1.34 mmol/l	fatigue	1 month	186 pg/ml	1044 pg/ml	
Torregrosa (2013)	1	CKD 3-4T	64	1.91 mmol/l	not reported	6 months	442 pg/ml	1745 pg/ml	
Ivanov (2013)	2	CKD 4-5T; HD	64; 64	1.96; 1.97 mmol/l	not reported		>190 pmol/l; 54,8 pmol/l	>100 pmol/l; 108 pmol/l	cinacalcet not discontinued
Ungprasert (2013)	1	CKD3	61	ionized 2.3 mg/dl	carpopedal spasm; QTc 520 ms		520 pg/ml	778 pg/ml	intravenous Ca
Talreja (2012)	1	CKD	68	6.7 mg/dl	generalized pain, tenderness	11 days	not done	409 pg/ml	intravenous Ca
Agarwal (2013)	1	PD	58	6.3 mg/dl	tetany	7 weeks	315 pg/ml	647 pg/ml	intravenous Ca

Abbreviations: CKD = chronic kidney disease; RRT = renal replacement therapy; HD = maintenance hemodialysis, PD = peritoneal dialysis, Ca = calcium; PTH = parathyroid hormone. Units are presented in accordance with the relevant reference.

Tab. 2: Bone metabolism markers in the course of denosumab treatment.

	Ca (mmol/l)	PTH (pmol/l)	25(OH)D (nmol/l)	Osteocalcin (μ g/l)	CTX (μ g/l)
Reference range	2.15–2.51	1.6–6.9	>75 (recommended)	11–43	0.162–0.436
Before the 1st dose	2.40	5.5	31.6	154.1	1.600
Two months after 1st dose	2.26	30.5	not available	1.9	0.256
Before the 2nd dose	2.45	13.6	30.7	10.5	0.179
Before the 3rd dose	2.68	5.0	113.0	26.3	0.297
Before the 4th dose	2.63	7.0	60.8	33.9	0.724

Note: Serum samples taken in interdialysis period (during out-patient visit in tertiary centre).

Predialysis serum calcium, phosphate and PTH concentrations were monitored on at least monthly basis. Phosphate concentration did not exceed 1.8 mmol/l. Several episodes of asymptomatic hypocalcemia with concomitant increase in PTH levels were observed (Figure 1). They always responded to the adjustment of calcium supplementation and/or paricalcitol administration and nutritional vitamin D supplementation was not interrupted.

No soft tissue calcifications were detected either on hands or on lumbar and thoracic spine lateral x-rays. Very mild wedge-shaped deformity of 11th thoracic vertebral body remained stable, with no change on x-ray in October 2013. In 2010, ultrasonography revealed a small mass (0.07 ml) behind the left thyroid lobe. In 2013, the same observer (J.H.) described a smaller mass (0.03 ml) in the same location. In 2013, her lumbar spine and total hip T-score improved to -2.8 and -2.9, respectively. Importantly, her back pain disappeared shortly after the first denosumab dose and did not occur again, which resulted in marked improvement of subjective feeling and quality of life.

Discussion

In CKD, the DXA interpretation is not straightforward. However, low bone density in our patient indicated osteoporosis, with likely contribution of long-term methylprednisolone and secondary amenorrhea. Moreover, it was symptomatic, and neither next years on hemodialysis nor awaited future kidney transplantation (following eculizumab administration in her case) would improve it. Previous treatment with bisphosphonate therapy did not improve her status. That is why we indicated denosumab shortly after its approval as novel antiosteoporotic drug.

What is our experience? The administration of the drug was clinically well tolerated. There was a permanent clinical improvement, an increase in bone density, a sustained decrease of bone resorption markers and, in accord with the published case reports, also episodes of hypocalcemia associated with PTH increase (Table 2, Figure 1).

However, these episodes were asymptomatic, and we were always able to return her calcium and PTH levels to

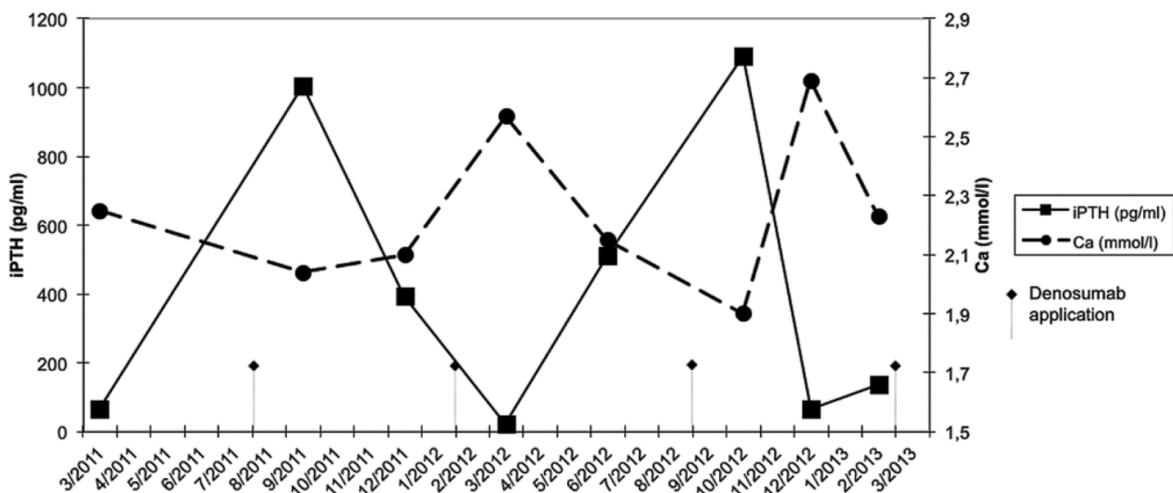


Fig. 1: Serum calcium a PTH (2011–2013)

normal within short time. Her secondary hyperparathyroidism remained responsive to conservative treatment with vitamin D receptor activators and her parathyroid glands did not enlarge.

Various explanations for denosumab-induced hypocalcemia in CKD patients have been presented. Westenfeld suggested hungry bone syndrome with prevailing activity of osteoblasts (9). In our case, however, the osteoblast activity actually decreased, as it is shown by decreasing osteocalcin concentrations (Table 2), which may be due to preserved association of osteoclasts and osteoblasts activity known in renal failure. Vitamin D deficiency would bring another explanation but in our case its levels were well controlled (Table 2). Cinacalcet, mentioned in another case report (4), was not used in our patient. Thus, the exact mechanism remains to be elucidated.

We consider the PTH increase to be a secondary response to hypocalcemia. We offer two parallel explanations why this response, i.e. PTH increase, is so sharp in end-stage renal disease (ESRD): skeletal resistance to PTH (10) and the imbalance between RANKL and OPG. RANKL is eliminated during hemodialysis and its serum concentration in ESRD usually remains normal (11). Conversely, serum OPG concentration is increased (12, 13). The RANKL/OPG ratio thus becomes abnormally low in ESRD. This low ratio is actually further diminished by denosumab. This may lead to over-suppression of the osteoclasts activity and to very low bone resorption. Indeed, in our case there was an 85% decrease in CTX within two months. Due to skeletal resistance to PTH and low RANKL/OPG ratio associated with ESRD, mobility of calcium from bone is abnormally low. Much higher PTH-mediated stimulus for calcium release from bone is therefore needed.

The parallel decreases both in CTX as well as in osteocalcin level may tentatively be explained by a preserved coupling between osteoblasts and osteoclasts in ESRD.

The published case reports are summarized in Table 1. Nadir of serum calcium decrease was observed at variable time points (from 11 days to 6 months) (3, 4, 5, 6, 7, 8). This means that the risk for calcium decrease is continuous. Two authors did not report clinical significance, but remaining four authors observed clinical manifestation of hypocalcemia. In three of them, it was severe (tetany, generalized pain, carpopedal spasm, prolongation of QTc) (see Table 2). Concomitant administration of cinacalcet is definitely not recommended due to augmented risk of serum calcium decrease. Serum parathyroid hormone sharply increased in all but one patient. However, no further course of PTH is given in any of these reports, as all authors stopped denosumab administration after the first dose. McCormick concluded with the definite warning against denosumab administration in hemodialysis patients. Various aspects for the differences between our and published experience may be found, including unsupervised administration and insufficient laboratory and clinical monitoring.

Contrary to their opinion and warning, our experience with denosumab in CKD is positive. Though we also observed a fall in calcium associated with sharp rise in PTH levels, neither was critical, also because we anticipated them from the published reports, and adjusted the concomitant treatment accordingly. Especially, we fully normalized serum vitamin D concentration. We therefore strongly believe that the fear of hypocalcemia in hemodialyzed patients is not a contraindication of denosumab and the benefit of the drug is prevailing.

Acknowledgements

Supported by Research Project NT/11355-4/2010 Ministry of Health of the Czech Republic.

References

1. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al: Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361: 33–41.
2. Block GA, Bone HG, Fang L et al: A single-dose study of denosumab in patients with various degrees of renal impairment. *J Bone Miner Res* 2012; 27: 1471–1479.
3. McCormick BB, Davis J, Burns KD: Severe hypocalcemia following denosumab injection in a hemodialysis patient. *Am J Kidney Dis* 2012; 60: 626–628.
4. Torregrosa JV: Dramatic increase in parathyroid hormone and hypocalcemia after denosumab in a kidney transplanted patient. *Clin Kidney J* 2013; 6: 122; doi:10.1093/ckj/sfs158
5. Ivanov P, Khedr M: Prolonged hypocalcemia following a single dose of 60 ug denosumab in two patients with CKD4/5 on cinacalcet treatment for tertiary hyperparathyroidism. *Clin Kidney J* 2013; doi:10.1093/ckj/sft014
6. Ungprasert O, Cheungpasitporn W, Srivali N, et al: Life-threatening hypocalcemia associated with denosumab in a patient with moderate renal insufficiency. *Am J Emergency Med* 2013; 31: 756e1–756e2.
7. Talreja DB: Severe hypocalcemia following a single injection of denosumab in a patient with renal impairment. *J Drug Assessment* 2012; 1: 33–36.
8. Agarwal M, Csongradi E, Koch AC: Severe symptomatic hypocalcemia after denosumab administration in an end-stage renal disease patient on peritoneal dialysis with controlled secondary hyperparathyroidism. *British J Med Medical Research* 2013; 3: 1398–1406.
9. Westenfeld R, Ketteler M, Brandenburg VM: Anti-RANKL therapy – implications for the bone-vascular-axis in CKD? Denosumab in post-menopausal women with low bone mineral density *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2075–2077.
10. Fukagawa M, Kazama JJ, Shigematsu T et al: Skeletal resistance to PTH as a basic abnormality underlying uremic bone disease. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 152–155.
11. Albalade M, la Piedra C, Fernandez C et al: Association between phosphate removal and markers of bone turnover in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 1626–1632.
12. Gonnelli S, Montagnani A, Caffarelli C, et al. Osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of NF- κ B ligand (RANK-L) serum levels in patients on chronic hemodialysis. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 534–539.
13. Kazama JJ, Kato H, Sato T, et al: Circulating osteoprotegerin is not removed through haemodialysis membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1860–1861.

Received: 12/01/2014

Accepted in revised form: 26/02/2014

Corresponding author:

Sylvie Dusilova Sulkova, M.D., Ph.D., prof., Hemodialysis centre; University Hospital Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic; e-mail: sylvie.dusilova@fnhk.cz

Příloha č. 6

Horáček J, Dusilová Sulková S, Kubišová M, Safránek R, Malířová E, Kalousová M, Svilias I, Malý J, Sobotka L, Zák P. Thyroid hormone abnormalities in hemodialyzed patients: low triiodothyronine as well as high reverse triiodothyronine are associated with increased mortality. *Physiol Res.* 2012 Dec 14;61(5):495-501. (IF 1,531)

Thyroid Hormone Abnormalities in Hemodialyzed Patients: Low Triiodothyronine As Well As High Reverse Triiodothyronine Are Associated With Increased Mortality

J. HORÁČEK^{1*}, S. DUSILOVÁ SULKOVÁ^{2,3*}, M. KUBIŠOVÁ³, R. ŠAFRÁNEK^{2,3}, E. MALÍŘOVÁ⁴, M. KALOUSOVÁ⁵, I. SVILIAS¹, J. MALÝ¹, L. SOBOTKA³, P. ŽÁK¹

*These authors contributed equally to this work

¹Department of Internal Medicine IV, Charles University in Prague, Faculty of Medicine and University Hospital Hradec Kralove, ²Hemodialysis Center, University Hospital Hradec Kralove, ³Department of Internal Medicine III, Charles University in Prague, Faculty of Medicine and University Hospital Hradec Kralove, ⁴Department of Nuclear Medicine, Charles University in Prague, Faculty of Medicine and University Hospital Hradec Kralove, ⁵Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Diagnostics, First Faculty of Medicine and General University Hospital, Charles University in Prague, Czech Republic

Received January 13, 2012

Accepted June 15, 2012

On-line August 8, 2012

Summary

Numerous abnormalities of thyroid hormones in end-stage renal disease (ESRD) have been described. Our aim was to analyze the impact of these abnormalities on survival. In 167 hemodialyzed ESRD patients, TSH and thyroid hormone levels (T4, fT4, T3, fT3, rT3) were determined. The patients were then prospectively followed up for up to 5 years and the possible impact of any observed abnormalities on their mortality was studied. Only 16.8 % patients had all six tests within the reference range. The pattern of nonthyroidal illness syndrome was found in 56.3 %. Low T3 was particularly common (44.3 %), and clearly associated with increased 6- and 12-month mortality and decreased overall survival (log rank test, $P=0.007$). Independent of T3 levels (Spearman correlation, NS), increased rT3 was more frequently observed (9.9 %) than expected from the literature, and was also related to increased mortality and decreased survival (log rank test, $P=0.021$). Increased rT3 may be more common in ESRD patients than previously described, and together with decreased T3 it may serve as an indicator of poor prognosis in subsequent months.

Key words

Thyroid • Triiodothyronine • Reverse triiodothyronine • Hemodialysis • Survival

Corresponding author

Jiri Horacek, Charles University in Prague, Faculty of Medicine and University Hospital Hradec Kralove, Department of Internal Medicine IV, Sokolska 581, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic. Fax: +420 495 832 011. E-mail: horacek9@gmail.com

Introduction

The high mortality of end-stage renal disease (ESRD) patients on maintenance hemodialysis is believed to be a function of complex metabolic and regulatory disorders (Go *et al.* 2004). In particular, numerous abnormalities in endocrine regulation have been described. Thyroid homeostatic regulation may be affected at several levels (Kaptein 1996, Lim 2001, Iglesias and Diez 2009). Hypothyroidism seems to be more common in chronic kidney disease patients (Lo *et al.* 2005), and its association with increased mortality has been reported (Enia *et al.* 2007). Moreover, patients with ESRD and hypothyroidism share some common symptomatology, e.g. asthenia, pallor and hypothermia; therefore correct interpretation of their thyroid status is essential, though this is complicated by both pathophysiological processes and methodological difficulties (Witzke *et al.* 2007).

In particular, ESRD may be viewed as a severe nonthyroidal illness, leading to nonthyroidal illness syndrome (NTIS), with a decrease in triiodothyronine (T3), and in more severe cases also in thyroxine (T4) levels, not accompanied by the usual feed-back increase in thyroid-stimulating hormone (TSH) (Docter *et al.* 1993, Adler and Wartofsky 2007). However, it has been assumed that an increase in reverse triiodothyronine (rT3), a common abnormality in NTIS, does not occur in ESRD (Kaptein 1996, Iglesias and Diez 2009).

Hemodialysis strategy as well as dialysis demography has changed completely since 1980s (Lameire *et al.* 2009, Cavalli *et al.* 2010), when most of the descriptive studies on thyroid hormone patterns in ESRD were published (Lim *et al.* 1977, Faber *et al.* 1983, Kaptein *et al.* 1983a,b) and therefore some conclusions derived from those studies may not now be valid.

In several studies of ESRD, low T3 levels have been reported as an unfavourable prognostic factor for survival (Zoccali *et al.* 2006, Enia *et al.* 2007, Carrero *et al.* 2007); moreover, pretransplant low T3 levels may be associated with higher risk of kidney graft failure (Rotondi *et al.* 2008). A similar prognostic link with rT3 has not yet been published.

In this study we performed a cross-sectional survey of thyroid hormone levels in hemodialyzed ESRD patients, and we found numerous abnormalities, including high rT3. In addition, these patients were prospectively followed up for up to 5 years, and the possible impact of any observed abnormalities on their mortality was studied.

Methods

Patients with ESRD included in the chronic hemodialysis programme at our university hospital were sampled for thyroid function tests in 2006, 2008 and 2010. None of them had a history of thyroid disorders, and they were not treated with any drugs known to affect thyroid function. Patients were dialyzed three times weekly, using a two needle system, low-flux polysulphone dialyser 1.6-1.8 m², bicarbonate dialysis solution with dialysate flow 500 ml/min and blood flow rate 300 ml/min. Equilibrated Kt/V was checked monthly and targeted above 1.2, in accordance with K/DOQI guidelines (National Kidney Foundation 2006). The dialysis population studied was unselected but patients with severe acute complications requiring hospitalization at the time of sampling were not included in the analysis.

As the possible impact of thyroid hormone abnormalities on survival may be time-dependent (i.e. more significant in the shorter interval), only the last sample before the last follow up or death was used for calculations in those who were tested repeatedly. Altogether in 167 patients, (97 male, 70 female, median age 64.9 years) thyroid hormone levels were analyzed, and the patients were followed up for at least 540 days unless they died earlier. The study was in accordance with the Declaration of Helsinki (2000) of the World Medical Association, and was approved by the institutional ethics committee.

As heparin may interfere with competitive assays, blood was drawn just before the start of hemodialysis procedure from the inserted dialysis needle or from the arterial port of dialysis circuit, before contact of blood with dialyser and before heparin administration. This ensured that there was an interval of at least 48 hours since the last heparin application.

Thyroid function tests were performed in our radioisotope laboratory as described previously (Horacek *et al.* 2010); in addition, total T4, total T3 and reverse T3 were also assayed by radioimmunoassays (RIA). The battery of tests thus included: (a) TSH determined by immunoradiometric assay (IRMA, Immunotech, Beckman Coulter, Prague, Czech Republic), reference range (RR) 0.15-5.0 mIU/l, inter-assay variation (CV) 5.5 %; (b) FT4 measured by RIA (Immunotech, Beckman Coulter), RR 11.0-23.0 pmol/l, CV 8.4 %; (c) FT3, RIA (Immunotech, Beckman Coulter), RR 2.5-5.7 pmol/l, CV 6.4 %; (d) T4, RIA (Immunotech, Beckman Coulter), RR 70.0-140.0 nmol/l, CV 8.6 %; (e) T3, RIA (Immunotech, Beckman Coulter), RR 1.0-3.0 nmol/l, CV 7.7 %; and (f) rT3, RIA (Adaltis, Casalecchio di Reno, Italy), RR 0.14-0.54 nmol/l CV 8.7 %).

The descriptive results were tentatively summarized in terms of proportions of various abnormalities, namely hypothyroidism, hyperthyroidism and NTIS, although the links between thyroid hormone levels and the typical patterns of these syndromes are less clear in chronic renal failure (Kaptein 1996), and subject to some debate. Spearman correlation was used for quantifying possible associations between the thyroid hormones. Patients surviving more than 6 and 12 months after the sampling were compared with those having died within the respective period using Mann-Whitney test, and for significantly different parameters (i.e. T3 and rT3), survival analysis using Kaplan-Meier curves and log rank test was performed. For statistical analysis, NCSS software package was used.

Table 1. Thyroid function tests in 167 hemodialyzed ESRD patients (age: median 64.9 years, interquartile range (IQR) 56.2-75.7; Kt/V eq: median 1.31, IQR 1.11-1.47).

Variable (unit)	Reference range (RR)	Median (IQR)	Percentage (%)		
			normal	<RR	>RR
TSH (mIU/l)	0.15-5.0	1.82 (1.16-3.32)	85.0	3.6	11.4
T4 (nmol/l)	70-140	71.4 (60.9-84.4)	53.9	45.5	0.6
T3 (nmol/l)	1.0-3.0	1.06 (0.83-1.26)	55.7	44.3	0
rT3 (nmol/l)	0.14-0.54	0.29 (0.22-0.39)	87.3	2.8	9.9
ft4 (pmol/l)	11.0-25.0	11.6 (10.1-13.5)	61.7	38.3	0
ft3 (pmol/l)	2.5-5.8	3.24 (2.77-3.78)	83.8	15.0	1.2

Results

In our sample of 167 unselected ESRD patients, thyroid abnormalities were very common (Table 1), and only 16.8 % patients had all the six tests within the reference ranges employed. The most common abnormalities were low T4 and low T3, occurring in 45.5 % and 44.3 % of cases, respectively.

Though rT3 was mostly normal, there were still 9.9 % patients with levels above the reference range, considerably more than expected from the literature (Kaptein 1996, Witzke *et al.* 2007 while decreased levels were exceptional (2.8 %).

As the competitive assays for free hormones (ft3 and ft4) generally give less reliable results in CRF, due to methodological problems (Kaptein 1996), we put more emphasis on the more robust total hormone assays but even then there were only 28.7 % patients with all the four tests (i.e. TSH, T4, T3 and rT3) within normal ranges. Patients with higher TSH and normal or lower T4 and T3 are normally classified as having subclinical or overt hypothyroidism, respectively; in our sample there were 19/167 (i.e. 11.4 %) patients in this category. Similarly, patients with suppressed TSH and normal or higher T4 and T3 are usually classified as having subclinical or overt hyperthyroidism; in our sample they comprised 6/167, i.e. 3.6 %. The remaining 94/167 (56.3 %) patients were classified as NTIS; they had normal TSH levels together with (a) lower T3 and/or (b) lower T4 and/or (c) higher rT3.

The Spearman correlation analysis (Table 2) demonstrated some expected associations, e.g. significant inverse correlations between TSH and thyroid hormones, though they were rather weak (ρ coefficients ranging from -0.190 to -0.294) and did not include T3 ($\rho=-0.072$), probably reflecting the frequent incidence of

NTIS, or positive correlations between total and free hormones, again less prominent in T3/ft3 ($\rho=0.269$) than in T4/ft4 ($\rho=0.575$). Unexpectedly for such prevalent NTIS, no significant inverse correlation was found between T3 and rT3 ($\rho=-0.148$, NS). Conversely, an unexpectedly strong positive correlation between rT3 and both T4 ($\rho=0.448$; $P<0.001$) and ft4 ($\rho=0.544$; $P<0.001$) was revealed.

Table 2. Spearman correlation matrix of thyroid function tests in 167 hemodialyzed ESRD patients.

		ft4	T4	ft3	T3	rT3
TSH	ρ	-0.294	-0.204	-0.190	-0.072	-0.242
	P	<0.001	0.008	0.014	0.358	0.004
ft4	ρ		0.575	0.123	0.009	0.544
	P		<0.001	0.114	0.904	<0.001
T4	ρ			-0.092	0.344	0.448
	P			0.237	<0.001	<0.001
ft3	ρ				0.269	-0.109
	P				<0.001	0.195
T3	ρ					-0.148
	P					0.078

ρ = Spearman rho correlation coefficient, P = coefficient of significance

Within one year of sampling, 48 patients (28.7 %) died. Their T3 and rT3 levels were clearly different from those having survived longer than one year while there was no significant difference in any other hormone levels (Table 3). Similar findings were seen for the shorter 6 month period (Table 4), together suggesting an association of mortality at 6 to 12 months with lower T3 and higher rT3.

Table 3. Comparison of hemodialyzed ESRD patients surviving one year since sampling with those dying within one year.

Variable (unit)	Surviving one year n = 119	Dying within one year n = 48	P
TSH (mIU/l)	1.80 (1.20-3.38)	2.03 (1.10-3.00)	0.992
T4 (nmol/l)	73.2 (60.9-85.9)	70.8 (61.4-82.4)	0.570
T3 (nmol/l)	1.08 (0.89-1.27)	0.95 (0.73-1.19)	0.030
rT3 (nmol/l)	0.26 (0.21-0.35)	0.36 (0.29-0.48)	<0.001
fT4 (pmol/l)	11.8 (10.3-13.5)	11.1 (9.5-13.6)	0.299
fT3 (pmol/l)	3.27 (2.83-3.78)	3.19 (2.65-3.78)	0.366

Values are expressed as median (interquartile range). Mann-Whitney test was used for comparison.

Table 4. Comparison of hemodialyzed ESRD patients surviving 6 months since sampling with those dying within 6 months.

Variable (unit)	Surviving six months n = 142	Dying within six months n = 25	P
TSH (mIU/l)	1.94 (1.20-3.40)	1.55 (0.89-2.57)	0.258
T4 (nmol/l)	72.4 (61.3-84.4)	68.0 (56.2-84.4)	0.561
T3 (nmol/l)	1.09 (0.88-1.27)	0.80 (0.71-1.06)	<0.001
rT3 (nmol/l)	0.28 (0.22-0.38)	0.39 (0.31-0.47)	0.015
fT4 (pmol/l)	11.7 (10.2-13.5)	11.4 (9.9-14.8)	0.866
fT3 (pmol/l)	3.23 (2.80-3.74)	3.50 (2.66-3.88)	0.986

Values are expressed as median (interquartile range). Mann-Whitney test was used for comparison.

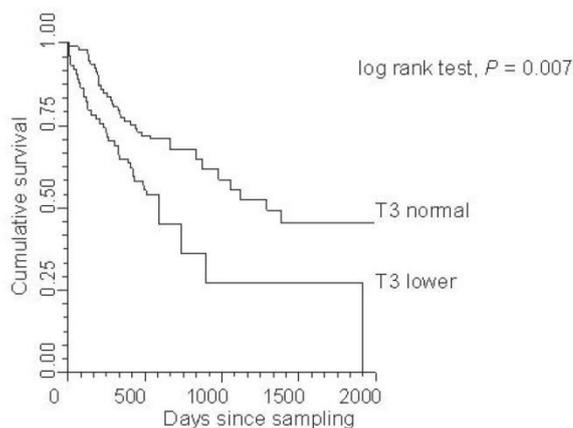


Fig. 1. Kaplan-Meier survival analysis of T3 in ESRD patients. Patients are divided into two groups on the basis of their T3 level; upper trace: values within the reference range (1.0-3.0 nmol/l); lower trace: values <1.0 nmol/l. Log rank test, $P=0.007$.

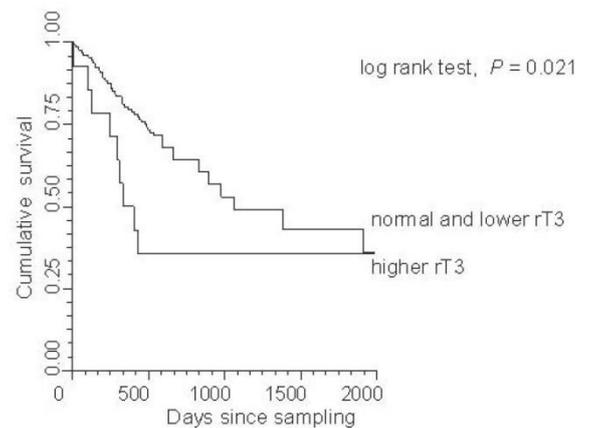


Fig. 2. Kaplan-Meier survival analysis of rT3 in ESRD patients. Patients are divided into two groups on the basis of their rT3 level; upper trace: values within the reference range (0.14-0.54 nmol/l) or below; lower trace: values >0.54 nmol/l. Log rank test, $P=0.021$.

These associations were confirmed by survival analysis. The patients with T3 below RR (<1 nmol/l) had significantly worse survival than those within it (log rank test, $P=0.007$; Kaplan-Meier, Figure 1). When median

was used as the discriminator then patients with T3 values below median (<1.06 nmol/l) had worse survival than those above median (log rank test, $P=0.042$). Similarly for rT3, the patients with values above RR

(>0.54 nmol/l) had significantly worse survival than the rest of the sample (both within and below RR; log rank test, $P=0.021$; Kaplan-Meier, Figure 2). Also, those above median (>0.29 nmol/l) had worse survival than those below it (log rank test, $P=0.020$).

Discussion

Normal thyroid status was found only in a minority of our ESRD patients, and more than a half of our sample fulfilled the criteria for NTIS. In addition, we have used TSH values out of the reference range as markers of hypo/hyperthyroidism in the traditional way (Jameson and Weetman 2008), and in accord with the classification used in population studies (Lo *et al.* 2005, Hollowell *et al.* 2002) though in chronic renal failure a minor increase or decrease in TSH may also be attributed to NTIS (Kaptein 1996). If some of those classified as hypo/hyperthyroid actually had NTIS instead then the proportion of patients with the syndrome would have even been higher.

Interestingly, no significant difference in survival was found between the whole group of NTIS patients and those with normal values of TSH, T4, T3 and rT3 (data not shown). When analyzed separately, low T3 as well as high rT3 were both associated with decreased survival, especially within the first year of follow-up. This suggests that low T4/normal TSH pattern, though often considered as severe NTIS (Adler and Wartofsky 2007), may be of less prognostic importance in hemodialyzed patients.

Several authors have recently pointed out the negative prognostic value of low T3 in ESRD (Zoccali *et al.* 2006, Enia *et al.* 2007, Carrero *et al.* 2007). In our hemodialyzed ESRD patients, we confirmed these conclusions. Clearly, when low T3 is found in an ESRD patient it may serve as a warning sign of poor prognosis within the coming months. It suggests that identifying and treating any modifiable abnormalities that may cause both low T3 and increased mortality (e.g. malnutrition, inflammation, etc.) can be of benefit to the patient. Conversely, misguided attempts to replete thyroid hormone stores by exogenous supplementation may worsen the prognosis (Lim 2001).

Data on rT3 levels in hemodialyzed patients are so far scarce. The representative reviews (Kaptein 1996, Iglesias and Diez 2009) state that patients with ESRD have normal total serum rT3 rather than the elevated levels observed in NTIS, referring to earlier studies from 1983 (Faber *et al.* 1983, Kaptein *et al.* 1983a,b). Though

these studies give careful and detailed description of thyroid hormone kinetics in a small sample of ESRD patients (ranging from 6 to 13, of which only 5 were chronically hemodialyzed) they do not provide relevant data on the estimated proportions of rT3 abnormalities in ESRD population. Such an estimate may be derived from a more recent paper (Witzke *et al.* 2007) comparing thyroid hormones, including rT3, in young patients with preterminal ($n=48$) and terminal ($n=288$) renal failure. Their hemodialyzed ESRD patients had significantly lower rT3 (0.25 ± 0.02 nmol/l; mean \pm SEM) than those with preterminal renal failure (0.39 ± 0.03 nmol/l) or healthy controls (0.37 ± 0.02 nmol/l). As they also used RIA with the same RR for the rT3 assay our results should be comparable with theirs. However, when expressed in the same way, the rT3 levels in our ESRD patients were 0.36 ± 0.03 nmol/l, i.e. clearly higher than in their ESRD group, and similar to their other groups.

Most of our ESRD patients (ca. 87 %) had rT3 within the RR, in accord with the prevailing opinion (Kaptein 1996, Iglesias and Diez 2009). However, and rather unexpectedly, there were ca. 10 % patients with an increased rT3 in our sample. Moreover, the higher rT3 was clearly associated with poor prognosis. These novel findings suggest that also in ESRD (as a special case of NTIS) rT3 may be elevated, and serve as a negative prognostic marker, similar to other severe clinical conditions (Peeters *et al.* 2005).

The observed negative prognostic value of high rT3 appeared independent of low T3 since there was no significant (inverse) correlation between the variables. Conversely, a moderately tight and highly significant positive correlation was found between rT3 and both T4 and fT4. Though this would suggest parallel variations in 5'-deiodinase activity no ready explanation is currently available. If type 2 deiodinase activity fluctuations were responsible, one would expect an inverse correlation between T3 and rT3; perhaps both type 1 and type 2 deiodinases are involved (Maia *et al.* 2011, Williams and Bassett 2011). Interestingly, a similar correlation between rT3 and fT4 was found in independently living elderly men, and higher rT3 and fT4 were associated with lower levels of physical function (van den Beld *et al.* 2005), also suggestive of worse prognosis.

Conclusion

Low T3 concentrations have recently been associated with poor prognosis in ESRD. Our results are

in accordance with these conclusions. Moreover, in this study we focused on a detailed description of thyroid status in a large cohort of non-selected ESRD patients and we reveal two novel findings concerning rT3: levels are higher than previously described and higher rT3 is associated with worse prognosis. These results are worthy of further investigation.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest.

References

- ADLER SM, WARTOFSKY L: The nonthyroidal illness syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am* **36**: 657-672, 2007.
- CARRERO JJ, QURESHI AR, AXELSSON J, YILMAZ MI, REHNMARK S, WITT MR, BÁRÁNY P, HEIMBÜRGER O, SULIMAN ME, ALVESTRAND A, LINDHOLM B, STENVINKEL P: Clinical and biochemical implications of low thyroid hormone levels (total and free forms) in euthyroid patients with chronic kidney disease. *J Intern Med* **262**: 690-701, 2007.
- CAVALLI A, DEL VECCHIO L, MANZONI C, LOCATELLI F: Hemodialysis: yesterday, today and tomorrow. *Minerva Urol Nefrol* **62**: 1-11, 2010.
- DOCTER R, KRENNING EP, DE JONG M, HENNEMANN G: The sick euthyroid syndrome: changes in thyroid hormone serum parameters and hormone metabolism. *Clin Endocrinol* **39**: 499-518, 1993.
- ENIA G, PANUCCIO V, CUTRUPI S, PIZZINI P, TRIPEPI G, MALLAMACI F, ZOCCALI C: Subclinical hypothyroidism is linked to micro-inflammation and predicts death in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant* **22**: 538-544, 2007.
- FABER J, HEAF J, KIRKEGAARD C, LUMHOLTZ IB, SIERSBAEK-NIELSEN K, KØLENDORF K, FRIIS T: Simultaneous turnover studies of thyroxine, 3,5,3' and 3,3',5'-triiodothyronine, 3,5-, 3,3', and 3'5'-diiodothyronine, and 3'-monoiodothyronine in chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* **56**: 211-217, 1983.
- GO AS, CHERTOW GM, FAN D, MCCULLOCH CE, HSU CY: Chronic kidney disease and the risk of death, cardiovascular events and hospitalization. *N Engl J Med* **351**: 1296-1305, 2004.
- HOLLOWELL JG, STAEHLING NW, FLANDERS WD, HANNON WH, GUNTER EW, SPENCER CA, BRAVERMAN LE: Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* **87**: 489-499, 2002.
- HORACEK J, SPITALNIKOVA S, DLABALOVA B, MALIROVA E, VIZDA J, SVILIAS I, CEPKOVA J, Mc GRATH C, MALY J: Universal screening detects two-times more thyroid disorders in early pregnancy than targeted high-risk case finding. *Eur J Endocrinol* **163**: 645-650, 2010.
- IGLESIAS P, DIEZ JJ: Thyroid dysfunction and kidney disease. *Eur J Endocrinol* **160**: 503-515, 2009.
- JAMESON JL, WEETMAN AP: Disorders of the thyroid gland. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine (17th ed.)*. AS FAUCI, E BRAUNWALD, DL KASPER, SL HAUSER, DL LONGO, JL JAMESON, J LOSCALZO (eds), McGraw-Hill Companies Inc, New York, 2008, pp 2224-2247.
- KAPTEIN EM: Thyroid hormone metabolism and thyroid diseases in chronic renal failure. *Endocrine Rev* **17**: 45-63, 1996.
- KAPTEIN EM, FEINSTEIN EI, NICOLOFF JT, MASSRY GD: Serum reverse triiodothyronine and thyroxine kinetics in patients with chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* **57**: 181-189, 1983a.

Acknowledgements

The work was supported by the research project MZO 0021620819 and by the grant SVV-2012-264903. The authors wish to thank Ing. Josef Bukac, MS, PhD (Department of Biophysics, Faculty of Medicine in Hradec Kralove) for the survival analysis and statistical consultations and Catherine Mc Grath, MD (Queen Elizabeth Hospital, Birmingham, UK) for linguistic review of the manuscript.

- KAPTEIN EM, FEINSTEIN EI, NICOLOFF JT, MASSRY GD: Alterations of serum reverse triiodothyronine and thyroxine kinetics in chronic renal failure: Role of nutritional status, chronic illness, uremia, and hemodialysis. *Kidney Int* **24** (Suppl 16): S180-S186, 1983b.
- LAMEIRE N, VAN BIESEN W, VANHOLDER R: Did 20 years of technological innovations in hemodialysis contribute to better patient outcomes? *Clin J Am Soc Nephrol* **4** (Suppl 1): S30-S40, 2009.
- LIM VS: Thyroid function in patients with chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* **38**: S80-S84, 2001.
- LIM VS, FANG VS, KATZ AI, REFETTOFF S: Thyroid dysfunction in chronic renal failure. *J Clin Invest* **60**: 522-534, 1977.
- LO JC, CHERTOW GM, GO AS, HSU CY: Increased prevalence of subclinical and clinical hypothyroidism in persons with chronic kidney disease. *Kidney Int* **67**: 1047-1052, 2005.
- MAIA AL, GOEMANN IM, MEYER ELS, WAJNER SM: Type 1 iodothyronine deiodinase in human physiology and disease. *J Endocrinol* **209**: 283-297, 2011.
- NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, HEMODIALYSIS ADEQUACY 2006 WORK GROUP: Clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy, update 2006. *Am J Kidney Dis* **48** (Suppl 1): S2-S90, 2006.
- PEETERS RP, WOUTERS PJ, VAN TOOR H, KAPTEIN E, VISSER TJ, VAN DEN BERGHE G: Serum 3,3',5'-triiodothyronine (rT₃) and 3,5,3'-triiodothyronine/rT₃ are prognostic markers in critically ill patients and are associated with postmortem tissue deiodinase activities. *J Clin Endocrinol Metab* **90**: 4559-4565, 2005.
- ROTONDI M, NETTI GS, ROSATI A, MAZZINGHI B, MAGRI F, RONCONI E, BECHERUCCI F, PRADELLA F, SALVADORI M, SERIO M, ROMAGNANI P, CHIOVATO L: Pretransplant serum FT3 levels in kidney graft recipients are useful for identifying patients with higher risk for graft failure. *Clin Endocrinol* **68**: 220-225, 2008.
- VAN DEN BELD AW, VISSER TJ, FEELDERS RA, GROBBEE DE, LAMBERTS SWJ: Thyroid hormone concentrations, disease, physical function, and mortality in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* **90**: 6403-6409, 2005.
- WILLIAMS GR, BASSETT JHD: Local control of thyroid hormone action: role of type 2 deiodinase. *J Endocrinol* **209**: 261-272, 2011.
- WITZKE O, WIEMANN J, PATSCHAN D, WU K, PHILIPP T, SALLER B, MANN K, REINHARDT W: Differential T4 degradation pathways in young patients with preterminal and terminal renal failure. *Horm Metab Res* **39**: 355-358, 2007.
- ZOCCALI C, MALLAMACI F, TRIPEPI G, CUTRUPPI S, PIZZINI P: Low triiodothyronine and survival in end-stage renal disease. *Kidney Int* **70**: 523-528, 2006.

Příloha č. 7

Kalousová M, Dusilova-Sulkova S, Zakiyanov O, Kostirova M, Safranek R, Tesar V, Zima T. Vitamin D binding protein is not involved in vitamin D deficiency in patients with chronic kidney disease. *Biomed Res Int.* 2015; 492365. (IF 2,134)

Research Article

Vitamin D Binding Protein Is Not Involved in Vitamin D Deficiency in Patients with Chronic Kidney Disease

Marta Kalousova,¹ Sylvie Dusilova-Sulkova,² Oskar Zakiyanov,³ Milada Kostirova,¹
Roman Safranek,² Vladimir Tesar,³ and Tomas Zima¹

¹Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, First Faculty of Medicine,

Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, U Nemocnice 499/2, 128 01 Prague, Czech Republic

²Haemodialysis Centre, University Hospital Hradec Kralove, Sokolská 581, 500 05 Hradec Kralove, Czech Republic

³Department of Nephrology, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital in Prague, U Nemocnice 499/2, 128 08 Prague, Czech Republic

Correspondence should be addressed to Marta Kalousova; marta.kalousova@lf1.cuni.cz

Received 23 October 2014; Accepted 26 January 2015

Academic Editor: Luca De Nicola

Copyright © 2015 Marta Kalousova et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Objective. This study was designed to evaluate vitamin D status with separate determination of 25-OH D₂ and 25-OH D₃ and its relationship to vitamin D binding protein (VDBP) in patients with chronic kidney disease (CKD) and long-term haemodialysis patients (HD). **Methods.** 45 CKD patients, 103 HD patients, and 25 controls (C) were included. Plasma vitamin D concentrations were determined using chromatography and VDBP in serum and urine in CKD using enzyme immunoassay. **Results.** Plasma vitamin D levels were lower in CKD (30.16 ± 16.74 ng/mL) and HD (18.85 ± 15.85 ng/mL) versus C (48.72 ± 18.35 ng/mL), $P < 0.0001$. 25-OH D₃ was the dominant form of vitamin D. Serum VDBP was higher in CKD (273.2 ± 93.8 ug/mL) versus C (222 ± 87.6 ug/mL) and HD (213.8 ± 70.9 ug/mL), $P = 0.0003$. Vitamin D/VDBP ratio was the highest in C and the lowest in HD; however, there was no correlation between vitamin D and VDBP. Urinary concentration of VDBP in CKD (0.25 ± 0.13 ug/mL) correlated with proteinuria ($r = 0.43$, $P = 0.003$). **Conclusions.** Plasma levels of vitamin D are decreased in CKD patients and especially in HD patients. 25-OH D₃ was the major form of vitamin D. Despite urinary losses of VDBP, CKD patients had higher serum VDBP concentrations, indicating compensatory enhanced production. Vitamin D binding protein is not involved in vitamin D deficiency.

1. Introduction

Vitamin D plays important physiological roles in maintaining calcium and phosphate homeostasis but also in many other biological processes. There is growing evidence that low vitamin D status is associated with several diseases including not only osteoporosis and osteomalacia but also cardiovascular disease, diabetes mellitus, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, and other autoimmune conditions and several cancer types [1, 2]. In general, regulating the transcription of many genes through their binding to nuclear vitamin D receptor (VDR), active vitamin D serves as antiproliferative and prodifferentiating factor [1, 2].

Vitamin D may be produced endogenously in the skin (ultraviolet irradiation converting 7-dehydrocholesterol to cholecalciferol, i.e., vitamin D₃) or obtained from food or

supplements (mostly ergocalciferol, i.e., vitamin D₂, but also D₃, e.g., from fish sources). To become biologically active, both ergocalciferol and cholecalciferol must be double-hydroxylated. The product of the first hydroxylation in the liver, 25-hydroxyvitamin D (calcidiol, 25-OH D), is the major circulating vitamin D metabolite. Calcidiol is then converted by the second (1 α) hydroxylation to calcitriol, that is, dihydroxylated active form of vitamin D (1, 25-OH D). For production of circulating calcitriol, renal 1 α -hydroxylase is responsible, but also several nonrenal tissues and cell lines express their own 1 α -hydroxylase activity [1–4]. As the liver hydroxylation is neither regulated nor rate limited, 25-OH vitamin D well represents vitamin D status in the body. Serum 25-OH D levels > 75 nmol/L (30 ng/mL) indicate sufficient vitamin D stores [1, 4].

Many CKD and mainly HD patients have low serum or plasma vitamin D concentrations [5–11]. Several explanations have been suggested: low solar radiation exposure, disturbed conversion of vitamin D precursor in the skin, low food intake of vitamin D, and loss of vitamin D binding protein due to proteinuria and accelerated vitamin D catabolism [4, 12, 13]. However, the definite role of these possible causes is not clear.

Vitamin D binding protein (VDBP) is a 58 kDa circulating alpha globulin produced primarily by the liver, binding the majority (>85%) of circulating 25-OH vitamin D [14]. It is a highly polymorphic single chain serum glycoprotein ensuring that circulating vitamin D is delivered to target tissues [15]. In principle, there are two main roles of VDBP in vitamin D physiology: enlargement of biological half-life of vitamin D (as binding protects vitamin D from biodegradation) and limiting its access to target tissues. Moreover, VDBP maintains plasma vitamin D levels through reabsorption in the kidneys [16]. The complex of VDBP with 25-OH vitamin D is filtered in the glomerulus, which is followed by receptor mediated reuptake at the brush border of tubular epithelial cells [17] involving megalin [18] and cubilin [19]. In addition to its vitamin D binding properties, there are additional actions attributed to VDBP including binding of extracellular actin and transport of fatty acids. VDBP also appears to protect the complement C5a from proteolytic degradation, enhancing its action as chemotactic protein [20]. A deglycosylated form of VDBP, VDBP-macrophage activating factor, is able to promote activation of macrophages and osteoclasts, and even native VDBP may have effect on osteoclasts [21].

There are several methodological approaches for vitamin D determination in serum or plasma. They can be grouped into immunochemical methods (based on radioactive, enzymatic, or chemiluminescence detection), chromatographic methods (HPLC: high-performance liquid chromatography), and mass spectrometry. Immunochemical methods may vary due to differential detection of D₃ and D₂ molecules (conventional analytical measurement of serum or plasma 25-OH D level reflects the sum of 25-OH D₃ plus 25-OH D₂), interference by detection using polyclonal antibodies, and nonspecific detection of other vitamin D metabolites including degradation products [22, 23]. In addition, incomplete release of vitamin D from VDBP has been identified as a potential source of variability for both manual and automated immunoassays [24]. Another analytical approach, HPLC (high-performance liquid chromatography), allows not only precise assessment of vitamin D level but also simultaneous measurement of 25-OH D₂ and 25-OH D₃ vitamins separately, informing thus about the source of vitamin D.

Therefore, in the current study, the aim was to measure vitamin D concentration in plasma using HPLC method with separate detection of vitamin D₂ and vitamin D₃ and to assess VDBP levels in serum in patients with CKD and HD patients and healthy subjects for comparison. In addition, urine levels of VDBP in CKD patients were also assessed to allow a more complex view of vitamin D status.

2. Materials and Methods

This is a cross-sectional study that includes 173 subjects with CKD, long-term HD and healthy controls. All patients were in stable clinical status at the time of the study, without signs of acute infection. Vitamin D supplementation (apart from dihydroxylated form of vitamin D₃) was not prescribed in any HD or CKD patients at the time of study, and controls did not take any special alimentary supplements. The study was approved by the Ethical Committee and all patients have given written informed consent prior to entering the study.

2.1. Study Groups

2.1.1. CKD Patients. Forty-five patients (27 male and 18 female, mean age 60 ± 17 years) with CKD were included. Their median creatinine clearance was $0.39 \text{ mL/s/1.73 m}^2$ (IQR $0.22\text{--}0.70 \text{ mL/s/1.73 m}^2$). Urinary protein concentration was 0.22 g/L (median; IQR $0.09\text{--}1.10 \text{ g/L}$) and daily protein losses varied from 0.04 g to 13.78 g (median 0.48 g/24 hours). Duration of their follow-up for renal disease was 84 months (IQR $24\text{--}120$ months). Causes of their renal disease were diabetic nephropathy in 2 patients, hypertensive nephropathy in 14 cases, chronic tubulointerstitial nephritis in 5 patients, chronic glomerulonephritis in 12 cases, polycystic kidney disease in 6 patients, and multifactorial or unknown in 6 cases. The majority of patients (42 cases) had hypertension and were treated with moderate doses of antihypertensive drugs. Cardiovascular disease was known in eight patients. Twelve patients had diabetes mellitus and were treated with insulin or peroral antidiabetics. Twenty-eight patients had dyslipidaemia and were treated with statins. Basic laboratory characteristics of CKD patients are given in Table 1.

2.1.2. HD Patients. One hundred and three patients with end-stage renal disease treated on long-term HD (63 male and 40 female, mean age 60 ± 14 years) were included in the study. Their primary renal diagnoses were as follows: diabetic nephropathy ($N = 26$), vascular nephropathy ($N = 5$), tubulointerstitial nephritis ($N = 22$), chronic glomerulonephritis ($N = 21$), polycystic kidney disease ($N = 14$), and other or unknown diagnoses ($N = 15$). Their residual diuresis ranged from anuria to 2500 mL . The majority of patients were dialyzed three times weekly for 4–4.5 hours using conventional bicarbonate-buffered dialysate. The majority of patients (97 cases in total) had hypertension and were treated with moderate doses of antihypertensive drugs. Sixty-one patients had dyslipidaemia. Cardiovascular disease was known in 34 cases. Forty-one patients had diabetes mellitus and were treated with insulin or peroral antidiabetics. Patients with secondary hyperparathyroidism were treated by synthetic calcitriol (i.e., dihydroxylated form of vitamin D₃) or paricalcitol (synthetic analogue of vitamin D₂). None of patients received any native vitamin D or its 25-hydroxylated metabolite. Basic laboratory characteristics of HD patients are provided in Table 1.

2.1.3. Control Group. The control group (C) consisted of 25 healthy adults (15 male and 10 female, mean age 49 ± 10

TABLE 1: Characteristics of study subjects.

	Healthy controls (C) N = 25	Chronic kidney disease (CKD) N = 45	Long-term haemodialysis (HD) N = 103	Significance P
Body mass index (kg/m ²)	26.13 ± 4.28	26.84 ± 5.18	27.07 ± 5.34	n.s.
S-Creatinine (umol/L)	91 ± 12	292 ± 148	777 ± 219	P < 0.0001 C versus CKD*** C versus HD**** CKD versus HD****
Haemoglobin (g/L)	143 ± 9	120 ± 14	112 ± 11	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD***
Albumin (g/L)	47.3 ± 3.4	41.4 ± 5.0	40.9 ± 3.3	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD n.s.
Calcium (mmol/L)	2.32 ± 0.11	2.28 ± 0.25	2.16 ± 0.18	P < 0.0001 C versus CKD n.s. C versus HD*** CKD versus HD**
Phosphate (mmol/L)	1.13 ± 0.20	1.19 ± 0.30	1.95 ± 0.57	P < 0.0001 C versus CKD n.s. C versus HD**** CKD versus HD****
Parathyroid hormone (pmol/L)	4.21 ± 2.26 3.73 (3.02–4.75)	14.03 ± 14.43 9.60 (5.15–16.73)	34.57 ± 35.81 23.97 (14.60–41.05)	P < 0.0001 C versus CKD n.s. C versus HD**** CKD versus HD***
C-reactive protein (mg/L)	6.1 ± 3.0 5.6 (3.8–7.1)	7.5 ± 8.2 5.0 (2.4–7.2)	6.9 ± 6.9 5.5 (2.0–9.0)	n.s.
Proteinuria (g/L)	Not assessed (dipstick negative)	0.22 (0.09–1.10)	Not assessed	Not evaluated

Results are expressed as mean ± standard deviation and in case of high interindividual variability also as medians (interquartile ranges).

Comparison: one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

****P < 0.0001, ***P < 0.001, **P < 0.01.

years). Basic laboratory characteristics of controls are shown in Table 1.

2.2. Samples. In HD patients, blood was collected from inserted dialysis needle into the arteriovenous fistula before starting HD session and prior to heparin administration. In other subjects, blood was collected after overnight fasting by puncturing the cubital vein with simultaneous blood collection for routine control examinations. Routine laboratory parameters were measured in fresh samples according to institutional standards. For vitamin D determination and VDBP assessment, blood was centrifuged for 10 minutes at 1450 g, and serum and plasma were frozen at –80°C until analysis. Additionally in CKD patients, a 24-hour urine sample was collected, frozen at –80°C, and used for analysis.

2.3. Laboratory Analyses. Vitamin D (its hydroxylated form, 25-OH D) in plasma was assessed with Chromsystems reagent kit (<http://www.chromsystems.de>) using high-performance liquid chromatography. This assay allows simultaneous determination of 25-hydroxycholecalciferol (25-OH

D₃) and 25-hydroxyergocalciferol (25-OH D₂). Samples were treated according to the manufacturer's protocol and HPLC was performed with isocratic system with UV detection (HPLC apparatus ECOM; ECOM, <http://www.ecom.cz/>).

Vitamin D binding protein (VDBP) in serum and urine was assessed by standard ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) Quantikine, RD Systems (Minneapolis, MN, USA), according to the manufacturer's protocol.

For parathyroid hormone (PTH) determination, second generation test was used (iPTH), ECLIA (Electrochemiluminescence, Modular, Roche, Germany). Other laboratory parameters were measured with standard methods.

2.4. Statistical Analysis. Statistical software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) was used for statistical evaluation. Results are expressed as mean ± standard deviation and in case of high interindividual variability also as medians (interquartile ranges). Vitamin D₃/VDBP and total vitamin D/VDBP ratio was calculated and evaluated. Comparison among groups was done with one-way ANOVA (analysis of variance) test followed by Tukey's multiple

TABLE 2: Vitamin D and vitamin D binding protein in study groups.

	Healthy controls (C) N = 25	Chronic kidney disease (CKD) N = 45	Long-term haemodialysis (HD) N = 103	Significance P
25-OH vitamin D ₃ in plasma (ng/mL)	48.72 ± 18.35 47.10 (37.10–65.40)	30.16 ± 16.74 24.65 (19.45–38.50)	18.09 ± 15.64 13.70 (9.98–22.65)	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD****
25-OH vitamin D ₂ in plasma (ng/mL)	Not detected	Not detected	Detected in 8 patients: 9.67 ± 7.80 8.08 (1.83–15.10)	Not evaluated
Total 25-OH vitamin D (D ₂ + D ₃) in plasma (ng/mL)	48.72 ± 18.35 47.10 (37.10–65.40)	30.16 ± 16.74 24.65 (19.45–38.50)	18.85 ± 15.85 14.45 (10.33–23.65)	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD****
VDBP in serum (ug/mL)	222.0 ± 87.7 209.0 (163.0–269.2)	273.2 ± 93.8 268.0 (217.4–327.4)	213.8 ± 70.9 206.6 (161.5–252.3)	P = 0.0003 C versus CKD* C versus HD n.s. CKD versus HD****
VDBP in urine (ug/mL)	Not assessed	0.25 ± 0.13 0.33 (0.12–0.35)	Not assessed	Not evaluated
25-OH vitamin D ₃ /VDBP ratio (×10 ⁻⁶)	246.56 ± 112.44 242.54 (153.02–275.30)	129.72 ± 93.57 97.93 (72.34–191.86)	90.97 ± 74.97 70.84 (40.91–116.39)	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD*
Total 25-OH vitamin D (D ₂ + D ₃)/VDBP ratio (×10 ⁻⁶)	246.56 ± 112.44 242.54 (153.02–275.30)	129.72 ± 93.57 97.93 (72.34–191.86)	95.26 ± 77.16 70.84 (42.23–120.172)	P < 0.0001 C versus CKD**** C versus HD**** CKD versus HD n.s.

Results are expressed as mean ± standard deviation and in case of high interindividual variability also as medians (interquartile ranges).

Comparison: one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

****P < 0.0001, ***P < 0.001, and *P < 0.05.

VDBP: vitamin D binding protein.

comparison test. Correlations were tested using Pearson and Spearman correlation coefficients. All tests were two-sided and results were considered statistically significant for $P < 0.05$.

3. Results

3.1. Vitamin D Status. Plasma vitamin D levels were significantly lower in CKD (30.16 ± 16.74 ng/mL) and HD (18.85 ± 15.85 ng/mL) patients versus (48.72 ± 18.35 ng/mL) in controls, $P < 0.0001$ (Table 2). In particular, low levels were in HD patients and more than 75% of HD patients were vitamin D deficient. 25-OH D₃ was the dominant form of vitamin D (Table 2) and in most subjects serum 25-OH D₂ was not detectable. This was the case for all control subjects and CKD patients. Also in HD patients, serum 25-OH D₂ was detectable only in few patients, but these concentrations were low. Overall, the total 25-OH D levels were represented mostly by 25-OH D₃. Vitamin D was not detectable in urine in CKD patients.

Vitamin D₃ significantly correlated with haemoglobin in CKD patients but not in HD patients and controls. In HD patients, but not in CKD patients and controls, plasma D₃ positively correlated with serum calcium. In CKD patients, vitamin D₃ correlated with proteinuria, protein losses, and

diuresis but not with serum creatinine and creatinine clearance. No other correlations between plasma vitamin D and investigated laboratory parameters were found in HD and CKD patients, as well as in control group. Significant correlations are summarized in Table 3.

3.2. Vitamin D Binding Protein. Serum VDBP levels in CKD patients were significantly higher compared to controls as well as to HD patients (Table 2). There was no association between VDBP and vitamin D₃ in any studied group of subjects. VDBP negatively correlated with age in CKD patients which was not proven either in HD patients or in controls. VDBP did not correlate either with serum creatinine or with creatinine clearance in these patients and was not related to serum albumin, calcium, phosphate, PTH, C-reactive protein, or body mass index (BMI). Only in HD patients, VDBP correlated slightly positively with serum albumin and slightly negatively with BMI.

Vitamin D₃/VDBP ratio and total vitamin D/VDBP ratio significantly differed among studied groups with the highest levels in controls and the lowest levels in HD patients (Table 2) but did not correlate with basic laboratory parameters in any of the studied groups apart from haemoglobin in CKD patients.

TABLE 3: Overview of significant correlations of vitamin D and vitamin D binding protein in the study groups.

Chronic kidney disease patients			
25-OH vitamin D ₃	VDBP in serum	25-OH vitamin D ₃ /VDBP ratio	VDBP in urine
Haemoglobin (<i>r</i> = 0.40, <i>P</i> = 0.006)			Proteinuria (<i>r</i> = 0.43, <i>P</i> = 0.003)
Proteinuria (<i>r</i> = 0.34, <i>P</i> = 0.02)			Protein losses (<i>r</i> = 0.39, <i>P</i> = 0.008)
Protein losses (<i>r</i> = 0.43, <i>P</i> = 0.003)	Age (<i>r</i> = -0.34, <i>P</i> = 0.02)	Haemoglobin (<i>r</i> = 0.31, <i>P</i> = 0.04)	Serum creatinine (<i>r</i> = 0.47, <i>P</i> = 0.001)
Diuresis (<i>r</i> = 0.40, <i>P</i> = 0.006)			Creatinine clearance (<i>r</i> = -0.41, <i>P</i> = 0.006)
Long-term haemodialysis patients			
25-OH vitamin D ₃	VDBP in serum	25-OH vitamin D ₃ /VDBP ratio	
	Albumin (<i>r</i> = 0.22, <i>P</i> = 0.03)		
Calcium (<i>r</i> = 0.22, <i>P</i> = 0.03)	BMI (<i>r</i> = -0.22, <i>P</i> = 0.03)		
Controls			
25-OH vitamin D ₃	VDBP in serum	25-OH vitamin D ₃ /VDBP ratio	
No significant correlation.			

VDBP: vitamin D binding protein.

Urinary concentration of VDBP in CKD patients (0.25 ± 0.13 ug/mL) correlated with proteinuria. Moreover, urinary VDBP positively correlated with serum creatinine in CKD patients and similar relationship was found between creatinine clearance and VDBP in urine. No association between serum and urinary VDBP was found. Significant correlations are summarized in Table 3.

Taken together, the majority of patients with chronic kidney diseases are 25-OH vitamin D deficient. Vitamin D is represented mainly by 25-OH vitamin D₃ (25-hydroxycholecalciferol). Serum VDBP is increased in CKD patients and is measurable also in urine. Vitamin D/VDBP is the highest in healthy subjects and the lowest in HD patients.

4. Discussion

Examining a cohort of CKD and HD patients and a control group in a cross-sectional design, we assessed vitamin D status by separate determination of both 25-hydroxylated vitamin D metabolites (hydroxyergocalciferol, i.e., 25-OH D₂, and hydroxycholecalciferol, i.e., 25-OH D₃) in plasma. This allowed us to recognize the probable source of vitamin D for given subjects. Concomitant measurement of VDBP in serum and also in urine in CKD patients allowed us to evaluate the possible role of urinary VDBP losses in vitamin D status.

We found significantly lower 25-OH D plasma levels in CKD patients compared to controls. In line with previous studies, the majority of CKD patients were vitamin D deficient. In particular, low levels were found in HD patients, which is also in agreement with published data [5, 7–9]. Contrary to previous published studies, we measured

separately 25-OH D₂ and 25-OH D₃ which provided us with information about the source of vitamin D in these subjects. Surprisingly, 25-OH D₂ was not detectable in plasma in the great majority of studied subjects. None of controls and CKD patients and only few HD patients exhibited detectable 25-OH D₂. Undetectable 25-OH D₂ found in plasma in all control subjects and also in the majority of renal patients points out very low intake of vitamin D from plant sources. Further studies are necessary to confirm if this observation can be generalized for our country or even for other geographical and socioeconomic areas.

Undetectable 25-OH D₂ and numerical values of 25-OH D₃ plasma concentration in our subjects indicate either solar skin irradiation and/or food containing vitamin D₃ (e.g., fish) as a vitamin D source. However, low 25-OH D₃ in CKD patients not yet on dialysis and not with limited life style indirectly shows that causes other than low sun exposure and/or disturbed conversion of skin precursor play a role in their vitamin D deficiency. Metabolic changes and their consequences that accompany CKD and end-stage renal disease may influence 25-OH D plasma levels in CKD patients and mainly in HD patients. For example, reduced hepatic synthesis of calcidiol in uraemia was described recently [25]. However, very high PTH level, which is considered as the main factor responsible for disturbed hepatic hydroxylation, was not the case in our patients.

Serum concentrations of VDBP were similar in healthy controls and HD patients. However, we observed significantly increased levels of VDBP in CKD patients compared to controls as well as to HD patients, which is in contrast to other studies [26, 27]. This increase was observed despite the urinary VDBP losses which were independent of serum

VDBP levels. Urine concentrations of VDBP were as low as several tenths of μg per mL, but total daily amount was not negligible and, however, still did not result in serum VDBP decrease. We might speculate that in vitamin D deficiency VDBP would increase. However, this would explain just the serum VDBP increase in CKD patients but not normal VDBP levels in serum in HD patients among whom many do not experience any urinary VDBP losses due to anuria. However, the interpretation of elevated VDBP should be more complex, as an association between high VDBP and risk of several cancers has been described [28]. Regardless of the mechanism leading to VDBP elevation, it is obvious that VDBP losses in urine in our patients were not associated either with vitamin D status or with serum VDBP levels similarly as in one previous study [26]. VDBP in urine was inversely related to creatinine clearance and urinary DBP correlated with proteinuria which is in line with the above-mentioned study [26], where additional urinary VDBP excretion responded to antiproteinuric treatment and was higher than that in healthy subjects. This is consistent with previously published hypothesis that urinary DBP is a marker of renal interstitial inflammation and fibrosis [29]. The occupancy of circulating VDBP by vitamin D metabolites is generally lower than 5% [14]. When calculating the 25-OH D/VDBP ratio (resp., 25-OH D₃/VDBP ratio), the main result was that this ratio is much higher in healthy controls than in CKD and HD patients. This further supports the finding that vitamin D deficiency observed in CKD and HD patients was not related to VDBP serum concentration. Also the lack of association between serum VDBP and 25-OH D levels supports the conclusion that VDBP has little effect on concentrations of vitamin D metabolites.

However, we focused only on total vitamin D serum level and we did not consider its free or so-called bioavailable fraction. According to free hormone hypothesis, only unbound fraction is biologically active [30]. With respect to vitamin D physiology, a recent study found that lower VDBP resulted in higher vitamin D bioavailability [31]. Higher bioavailability may lead to higher biological effect but also to higher biodegradation, that is, shorter half-life. Thus, the definite answer if the assessment of bioavailable fraction will bring superior information compared to total vitamin D serum/plasma level is not known at present.

Besides the slightly positive link between 25-OH D₃ and serum calcium in HD patients, vitamin D status did not correlate with any measured parameter of bone and mineral metabolism. In particular, no correlation between 25-OH D₃ and iPTH was found. Several papers report on contribution of low vitamin D status to secondary hyperparathyroidism [32]. In our patients, vitamin D status was generally low but the lack of the direct association between PTH and 25-D concentrations is not surprising as 25-OH D₃ does not represent an active vitamin D form. Active form, dihydroxylated vitamin D (calcitriol), is synthesized by kidneys but also by many extrarenal tissues and cell lines. Low serum calcitriol belongs to main stimulators for PTH production and triggers the initial as well as advanced forms of secondary hyperparathyroidism [33, 34]. We did not measure calcitriol serum concentration and thus we cannot discuss this topic in

the view of our data. However, according to recent data, low calcitriol production in CKD and HD patients is related not only to kidney dysfunction but also to low substrate, that is, low 25-OH D levels [4]. Based on this, it is important to assess vitamin D status, which was the main target in our study. The positive association of plasma vitamin D₃ concentration with proteinuria was surprising and requires further investigation.

In CKD patients, but not in HD patients and controls, serum VDBP levels inversely correlated with age. The age dependency of vitamin D binding protein was described also by others [35, 36]. We did not analyse this relationship, but it is not likely to be associated with age-dependent decrease of renal function, as there was no relationship between serum creatinine and VDBP. Contrary to CKD subjects, in HD patients, serum VDBP positively correlated with serum albumin and inversely with BMI, indicating possible nutritional association.

The present study has several limitations. The age of our groups of patients was a little bit different, which theoretically might influence VDBP concentration, as we found a correlation between age and VDBP but only in CKD patients. Another issue which complicates the interpretation of our findings is well-known genetic variability in VDBP [14]. Vitamin D was assessed in plasma and VDBP in serum which was done due to the availability of material and according to manufacturers, and both methods were designed for both materials. Lastly, no vitamin D nutritional supplementation was prescribed in our patients, but the possibility of vitamin D intake cannot be rigorously excluded. Although some patients were treated with active vitamin D or paricalcitol, it was demonstrated recently that they do not affect 25-OH D levels in blood [10].

5. Conclusion

In CKD and mainly HD patients not administered vitamin D supplementation, low vitamin D status was found, with no detectable 25-OH D₂ in most cases. Thus, 25-OH D₃ was the major form of vitamin D. Despite VDBP urinary losses in nondialysis CKD patients, serum VDBP was increased in these subjects compared to healthy controls, indicating VDBP losses are not responsible for 25-OH D deficiency.

Conflict of Interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Acknowledgments

The study was supported by research projects PRVOUK-P25/LF1/2 and MH CZ-DRO VFN 64165. The authors are thankful to Mrs. Dita Hudcová and Mrs. Jana Švarcová, Ph.D., from the Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, for technical assistance.

References

- [1] M. F. Holick, "Vitamin D deficiency," *The New England Journal of Medicine*, vol. 357, pp. 266–281, 2007.

- [2] M. F. Holick, "Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application," *Annals of Epidemiology*, vol. 19, no. 2, pp. 73–78, 2009.
- [3] N. Binkley, R. Ramamurthy, and D. Krueger, "Low vitamin D status: definition, prevalence, consequences, and correction," *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, vol. 39, no. 2, pp. 287–301, 2010.
- [4] S. U. Nigwekar, I. Bhan, and R. Thadhani, "Ergocalciferol and cholecalciferol in CKD," *The American Journal of Kidney Diseases*, vol. 60, no. 1, pp. 139–156, 2012.
- [5] E. A. González, A. Sachdeva, D. A. Oliver, and K. J. Martin, "Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease: a single center observational study," *American Journal of Nephrology*, vol. 24, no. 5, pp. 503–510, 2004.
- [6] R. E. LaClair, R. N. Hellman, S. L. Karp et al., "Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: a cross-sectional study across latitudes in the United States," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 45, no. 6, pp. 1026–1033, 2005.
- [7] A. Levin, G. L. Bakris, M. Molitch et al., "Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease," *Kidney International*, vol. 71, no. 1, pp. 31–38, 2007.
- [8] G. Jean, B. Charra, and C. Chazot, "Vitamin D deficiency and associated factors in hemodialysis patients," *Journal of Renal Nutrition*, vol. 18, no. 5, pp. 395–399, 2008.
- [9] Y. Echida, T. Mochizuki, K. Uchida, K. Tsuchiya, and K. Nitta, "Risk factors for vitamin D deficiency in patients with chronic kidney disease," *Internal Medicine*, vol. 51, no. 8, pp. 845–850, 2012.
- [10] S. Dusilová-Sulková, R. Šafránek, J. Vávrová, J. Horáček, L. Pavlíková, and V. Palička, "Low-dose cholecalciferol supplementation and dual vitamin D therapy in haemodialysis patients," *International Urology and Nephrology*, vol. 47, no. 1, pp. 169–176, 2015.
- [11] P. Yousefzadeh, S. A. Shapses, and X. Wang, "Vitamin D binding protein impact on 25-hydroxyvitamin D levels under different physiologic and pathologic conditions," *International Journal of Endocrinology*, vol. 2014, Article ID 981581, 6 pages, 2014.
- [12] H. Taskapan, M. Wei, and D. G. Oreopoulos, "25(OH) vitamin D3 in patients with chronic kidney disease and those on dialysis: rediscovering its importance," *International Urology and Nephrology*, vol. 38, no. 2, pp. 323–329, 2006.
- [13] M. L. Melamed and R. I. Thadhani, "Vitamin D therapy in chronic kidney disease and end stage renal disease," *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 7, no. 2, pp. 358–365, 2012.
- [14] M. Speeckaert, G. Huang, J. R. Delanghe, and Y. E. C. Taes, "Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism," *Clinica Chimica Acta*, vol. 372, no. 1-2, pp. 33–42, 2006.
- [15] R. F. Chun, "New perspectives on the vitamin D binding protein," *Cell Biochemistry and Function*, vol. 30, no. 6, pp. 445–456, 2012.
- [16] A. J. Brown and D. W. Coyne, "Bioavailable vitamin D in chronic kidney disease," *Kidney International*, vol. 82, no. 1, pp. 5–7, 2012.
- [17] A. Nykjaer, D. Dragun, D. Walther et al., "An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3," *Cell*, vol. 96, no. 4, pp. 507–515, 1999.
- [18] J.-R. Leheste, B. Rolinski, H. Vorum et al., "Megalin knockout mice as an animal model of low molecular weight proteinuria," *American Journal of Pathology*, vol. 155, no. 4, pp. 1361–1370, 1999.
- [19] A. Nykjaer, J. C. Fyfe, R. Kozyraki et al., "Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D₃," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 98, no. 24, pp. 13895–13900, 2001.
- [20] C. A. Piquette, R. Robinson-Hill, and R. O. Webster, "Human monocyte chemotaxis to complement-derived chemotaxins is enhanced by Gc-globulin," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 55, no. 3, pp. 349–354, 1994.
- [21] O. A. Adebajo, B. S. Moonga, J. G. Haddad, C. L.-H. Huang, and M. Zaidi, "A possible new role for vitamin D-binding protein in osteoclast control: inhibition of extracellular Ca²⁺ sensing at low physiological concentrations," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 249, no. 3, pp. 668–671, 1998.
- [22] A. M. Wallace, S. Gibson, A. de la Hunty, C. Lamberg-Allardt, and M. Ashwell, "Measurement of 25-hydroxyvitamin D in the clinical laboratory: current procedures, performance characteristics and limitations," *Steroids*, vol. 75, no. 7, pp. 477–488, 2010.
- [23] H.-W. Moon, J.-H. Cho, M. Hur et al., "Comparison of four current 25-hydroxyvitamin D assays," *Clinical Biochemistry*, vol. 45, no. 4-5, pp. 326–330, 2012.
- [24] A. C. Heijboer, M. A. Blankenstein, I. P. Kema, and M. M. Buijs, "Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of vitamin D binding protein concentration," *Clinical Chemistry*, vol. 58, no. 3, pp. 543–548, 2012.
- [25] J. Michaud, J. Naud, D. Ouimet et al., "Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 21, no. 9, pp. 1488–1497, 2010.
- [26] C. R. C. Doorenbos, M. M. de Cuba, L. Vogt et al., "Antiproteinuric treatment reduces urinary loss of vitamin D-binding protein but does not affect vitamin D status in patients with chronic kidney disease," *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, vol. 128, no. 1-2, pp. 56–61, 2012.
- [27] H. J. C. van Hoof, R. G. L. de Sévaux, H. van Baelen et al., "Relationship between free and total 1,25-dihydroxyvitamin D in conditions of modified binding," *European Journal of Endocrinology*, vol. 144, no. 4, pp. 391–396, 2001.
- [28] G. M. Anic, S. J. Weinstein, A. Mondul, S. Mannisto, and D. Albanes, "Serum vitamin D, vitamin D binding protein, and risk of colorectal cancer," *PLoS ONE*, vol. 9, no. 7, Article ID e102966, 2014.
- [29] K. Mirković, C. R. C. Doorenbos, W. A. Dam et al., "Urinary vitamin D binding protein: a potential novel marker of renal interstitial inflammation and fibrosis," *PLoS ONE*, vol. 8, no. 2, Article ID e55887, 2013.
- [30] C. M. Mendel, "The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model," *Endocrine Reviews*, vol. 10, no. 3, pp. 232–274, 1989.
- [31] I. Bhan, C. E. Powe, A. H. Berg et al., "Bioavailable vitamin D is more tightly linked to mineral metabolism than total vitamin D in incident hemodialysis patients," *Kidney International*, vol. 82, no. 1, pp. 84–89, 2012.
- [32] G. Jean, J. C. Terrat, T. Vanel et al., "Evidence for persistent vitamin D 1-alpha-hydroxylation in hemodialysis patients: evolution of serum 1,25-dihydroxycholecalciferol after 6 months of 25-hydroxycholecalciferol treatment," *Nephron Clinical Practice*, vol. 110, no. 1, pp. c58–c65, 2008.

- [33] J. Cunningham, F. Locatelli, and M. Rodriguez, "Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression, and therapeutic options," *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 6, no. 4, pp. 913–921, 2011.
- [34] E. Slatopolsky, A. Brown, and A. Dusso, "Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism," *Kidney International*, vol. 56, no. 73, pp. S14–S19, 1999.
- [35] Z. Xie, A. C. Santora, S. A. Shapses, and X. Wang, "Vitamin D binding protein and vitamin D levels," *International Journal of Endocrinology*, vol. 2014, Article ID 638263, 2 pages, 2014.
- [36] A. C. Ross, J. E. Manson, S. A. Abrams et al., "Clarification of DRIs for calcium and vitamin D across age groups," *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 111, no. 10, p. 1467, 2011.

Příloha č. 8

Šafránek R, Mistrík E, Kalousová M, Sobotka L, Moučka P, Dusilová Sulková S. Asymetrický dimethylarginin negativně ovlivňuje prokrvení kůže v průběhu hemodialýzy *Aktuality v nefrologii* 2014; 20 (4): 148-153.

ASYMETRICKÝ DIMETHYLARGININ NEGATIVNĚ OVLIVŇUJE PROKRVENÍ KŮŽE V PRŮBĚHU HEMODIALÝZY

ASYMMETRIC DIMETHYLARGININE NEGATIVELY INFLUENCES PERIPHERAL SKIN PERFUSION DURING HEMODIALYSIS

ROMAN ŠAFRÁNEK^{1,2}, ERIK MISTRÍK², MARTA KALOUSOVÁ³,
LUBOŠ SOBOTKA², PETR MOUČKA¹, SYLVIE DUSILOVÁ SULKOVÁ^{1,4}

¹Hemodialyzační středisko Fakultní nemocnice Hradec Králové

²3. interní gerontometabolická klinika LF UK a FN Hradec Králové

³Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN v Praze

⁴2. interní gastroenterologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

ABSTRAKT

Asymetrický dimethylarginin (ADMA) je inhibitorem syntázy oxidu dusnatého a blokováním tohoto enzymu může navozovat vazokonstrikci. Cílem naší práce bylo zjistit, zda zvýšené koncentrace ADMA, které jsou u dialyzovaných pacientů obvyklé, mohou ovlivňovat prokrvení kůže při hemodialyzační proceduře.

U 35 chronicky hemodialyzovaných pacientů bylo během jedné standardizované isotermické hemodialyzační procedury opakovaně měřeno prokrvení povrchových vrstev kůže rukou a nohou. Zjišťována byla souvislost mezi změnami v prokrvení a pre- i podialyzačními sérovými koncentracemi ADMA, rychlostí ultrafiltrace a základními ukazateli hemodynamické stability.

Predialyzační sérové koncentrace ADMA dosahovaly $1,4 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$. Během HD poklesly o $0,9 \mu\text{mol/l}$ (64%) na výsledných $0,5 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$). Prokrvení kůže během HD významně pokleslo ve všech čtyřech měřených lokalizacích ($p < 0,001$).

Prediktorem poklesu prokrvení v první hodině hemodialýzy byla podialyzační koncentrace ADMA.

Retence ADMA u dialyzovaných pacientů, která je navíc jen špatně ovlivnitelná mimotělní eliminací, snižuje mikrocirkulaci v kůži během hemodialyzační procedury.

Klíčová slova: asymetrický dimethylarginin, hemodialýza, mikrocirkulace, prokrvení kůže

ABSTRACT

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an inhibitor of nitric oxide synthase. Blocking this enzyme by ADMA may lead to a vasoconstriction. The aim of our study was to investigate whether increased ADMA concentration that is observed in maintenance hemodialysis patients may influence skin perfusion during hemodialysis procedure.

Skin microcirculation of hands and legs was repeatedly measured during a single isothermic hemodialysis procedure in 35 stable maintenance hemodialysis patients. We analyzed an association among skin perfusion changes, pre- and postdialysis ADMA concentrations, ultrafiltration rate, and basic parameters of hemodynamic stability.

Serum ADMA concentrations decreased during procedure from $1,4 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ by $0,9 \mu\text{mol/l}$ (64%) to $0,5 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$).

Skin perfusion significantly decreased in all measured areas ($p < 0,001$). Postdialysis ADMA concentration was a predictor of skin perfusion decrease during the first hour of hemodialysis. An elevation of serum ADMA concentration that is not fully corrected by an extracorporeal elimination decreases skin perfusion during hemodialysis.

Key words: asymmetric dimethylarginine, hemodialysis, skin microcirculation

ÚVOD

Asymetrický dimethylarginin (ADMA) je endogenním inhibítorem syntázy oxidu dusnatého (NO). Za normálních podmínek kompetuje s přirozeným substrátem tohoto enzymu, L-argininem. Blokováním NO syntázy ADMA snižuje na oxidu dusnatém závislou vazodilataci. To může vést až k významné vazokonstrikci.

Při konečném selhání ledvin koncentrace ADMA v organismu stoupají (Leone, 1992; Fliser, 2003) a ve srovnání se zdravými kontrolami dosahují 2–6× vyšších koncentrací. Za kumulaci ADMA jsou zodpovědné nejen snížené vylučování ledvinami, ale především snížená enzymatická degradace. Její rychlost je ovlivňována také koncentrací LDL cholesterolu, hyperglykemií, kouřením a dalšími faktory (Jacobi, 2007; Vilayur, 2009). Vysoké koncentrace tohoto uremického toxinu jsou tedy dány nejen chybějící renální eliminací, ale i životou správou.

Hemodialyzační procedura (HD) dokáže zvýšené hladiny ADMA snížit, nikoli však normalizovat (Kalousová, 2006; Wu, 2009). Dle našich předchozích výsledků není odstraňování ADMA při hemodiafiltraci větší než při konvenční HD (Kalousová, 2006).

Akumulace ADMA při selhání ledvin může mít klinicky závažné kardiovaskulární důsledky. ADMA je významným nezávislým prediktorem kardiovaskulární i celkové mortality u pacientů s konečným selháním ledvin (Zoccali, 2001). Z možných dalších nežádoucích účinků bylo poukázáno například na vyšší riziko restenózy arteriovenózní fistule v průběhu 6 měsíců po perkutánní angioplastice (Wu, 2009).

V předchozích pracích jsme zkoumali změny periferní kožní mikrocirkulace během HD. Zjistili jsme, že dochází k významnému poklesu prokrvení i u hemodynamicky stabilních pacientů. Tyto změny jsou jen částečně vysvětlitelné změnami intravaskulárního objemu během procedury, které jsou indukovány ultrafiltrací (Mistrík, 2010). Klinický význam opakovaného poklesu periferního kožního prokrvení při HD ukazuje souvislost mezi

změnami prokrvení a následným rozvojem ischemických kožních defektů (Mistrík, 2010). V této práci jsme zjišťovali, zda kumulace ADMA, potenciálně významného vazokonstrikčního faktoru, má vliv na změny v mikrocirkulaci v kůži v průběhu HD.

METODY

Soubor nemocných

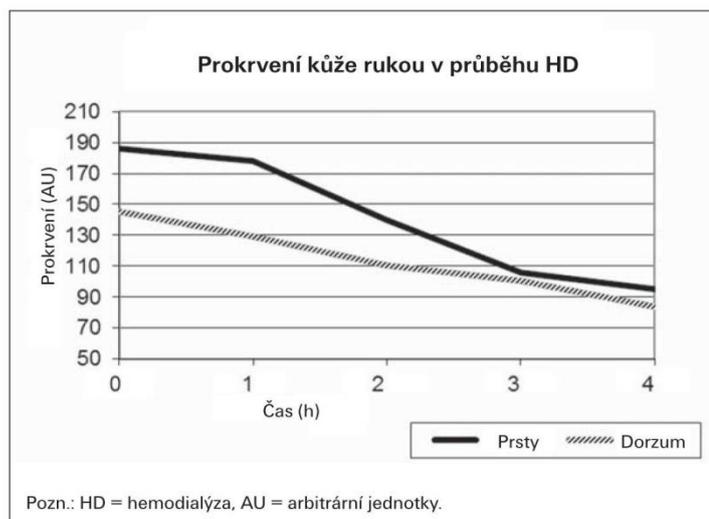
Do studie bylo zařazeno 35 stabilních pacientů (21 mužů, průměrný věk 63 let, rozpětí 36–83 let) léčených pravidelnou hemodialýzou, průměrně po dobu 26 (5–179) měsíců. Všichni pacienti byli dialyzováni 3x týdně cestou nativní arteriovenózní fistule. Žádný z pacientů neměl významné známky lokalizovaného ani celkového infekčního onemocnění. Pacienti s ischemickými kožními defekty, anamnézou amputací a hemodynamické nestability (více než jedna epizoda hypotenze v předchozím měsíci) nebyli do studie zařazeni.

Příčiny selhání ledvin byly následující: *diabetes mellitus* 11 (31%) pacientů, tubulointersticiální nefritida 7 (20%), glomerulonefritida 9 (26%), polycystóza ledvin 5 (14%), amyloidóza 1 (3%) a u 2 (6%) pacientů zůstala příčina neznámá. Za přítomnost významné aterosklerózy bylo považováno klinicky manifestní postižení koronárního řečiště, tepen končetin nebo anamnéza cévní mozkové příhody. Studie byla prováděna se souhlasem etické komise a s informovaným souhlasem všech pacientů.

Koncentrace ADMA byly měřeny v séru metodou ELISA (DLD Diagnostika GmbH, Hamburg, Německo). Vzorky krve byly odebrány před a po HD proceduře v souladu s doporučeními KDOQI pro techniku odběru krve po dialýze (*slow-flow* metoda) (2006).

Měření mikrocirkulace

Měření mikrocirkulace v kůži jsme prováděli pomocí Laser Doppler Line Scanneru (LDLS, Moor electronics,



Graf 1: Změny prokrvení kůže rukou v průběhu HD

Původní práce

Devon, UK) a je popsáno v předchozích pracích (Mistrík, 2010). LDLS umožňuje neinvazivní vyšetření pomocí laserového paprsku. Měřeno je prokrvení kůže v povrchovém kožním plexu do hloubky 1–1,5 mm. Principem je měření odrazu laserového paprsku od pohybujících se erytrocytů. Výhodou měření je jeho bezkontaktnost. Nemůže tak dojít k ovlivnění prokrvení při měření tlakem přístroje. Přístroj navíc umožňuje provádět měření na větších plochách. Do 25 vteřin je provedeno měření v jedné oblasti.

Všechna měření kožní mikrocirkulace i její interpretace byla prováděna pouze jednou osobou (E. M.). Měřeno bylo prokrvení na prstech a dorzu rukou i nohou, a to těsně před zavedením dialyzačních jehel a zahájením HD, dále opakovaně během HD každou hodinu. Výsledky jsou vyjádřeny v arbitrárních jednotkách (AU).

Pro určení kritického poklesu prokrvení byla u 15 náhodně vybraných pacientů manžeta tonometru napuštěna nad systolický krevní tlak a zaznamenány hodnoty prokrvení. Medián těchto hodnot pro každou měřenou oblast byl považován za kriticky nízké prokrvení (Kernick, 1999).

Hemodialyzační procedura

Měření probíhala během jedné hemodialyzační procedury (HD). HD byly standardizovány: 4 hod, polysulfonový *low-flux* parou sterilizovaný hemodialyzátor o ploše 1,6 m², dialyzační jehly G15, krevní průtok (QB) 300 ml/min, průtok dialyzačního roztoku 500 ml/min, konstantní rychlost ultrafiltrace k dosažení „optimální“ hmotnosti. Pro všechny HD bylo použito stejného dialyzačního roztoku o koncentraci Na 138 mmol/l, Ca 1,5 mmol/l, K 3 mmol/l, glukózy 1 g/l. Optimální hmotnost pacientů byla stanovena lékařem na základě klinického úsudku a s posouzením hydratace biospektroskopicky (*Body Composition Monitor /BCM/*, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Německo). Všichni pacienti měli optimální hmotnost v rozmezí ± 1 kg ve srovnání s výsledky stavu hydratace při měření modulem BCM.

HD byly prováděny isotermicky – teplota těla pacientů byla během procedury udržována konstantní, pomocí kontinuálního zpětnovazebného přizpůsobování teploty dialyzačního roztoku = izotermická dialýza (Pizzarelli, 2007). Toho bylo dosaženo aktivním zapojením modulu BTM (*Blood Temperature Monitor /BTM/*, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Germany).

Krevní tlak a puls byly měřeny každou hodinu. Intradialyzační hypotenze byla definována dle *European Renal Best Practice Guidelines* pro hemodynamickou nestabilitu jako pokles systolického krevního tlaku minimálně o 20 mmHg nebo středního krevního tlaku o 10 mmHg spojený se změnou klinického stavu vyžadující intervenci (Kooman, 2007). Relativní změny objemu krve (dBV) byly hodnoceny pomocí kontinuálního optického monitorování hematokritu a jeho změn v průběhu hemodialýzy metodou CritLine (On-Line Diagnostics, Riverdale, USA). Během HD procedur nebyly podávány žádné infuze. Ekvilibrované Kt/V bylo $> 1,2$ u všech procedur. Krevní průtok arteriovenózní fistulí (QVA) byl měřen termodynamickou metodou při reverzním zapojení jehel modulem

Tab. 1: Základní charakteristika pacientů

Věk (let)	63 (36–83) ^a
Muži/ženy	21/14
Délka RRT (měsíce)	26 (5–179) ^{a)}
BMI (kg/m ²)	28.3 \pm 4.6
ATS	19 (54%)
CAD (%)	17 (49%)
PAOD (%)	3 (9%)
CMP (%)	10 (29%)
DM (%)	17 (49%)
Arteriální hypertenze (%)	35 (100%)
Dyslipidemie (%)	20 (57%)
Kuřáci (%)	7 (20%)
Ex-kuřáci (%)	7 (20%)
Průtok krve AV fistulí	752 (559; 927) ^{b)}
UF rychlost (ml/hod)	650 (440; 980) ^{b)}

Pozn.: RRT = náhrada funkce ledvin, BMI = *body mass index*, ATS = ateroskleróza, CAD = postižení koronárního řečiště aterosklerózou, PAOD = ischemická choroba dolních končetin, CMP = cévní mozková příhoda, DM = *diabetes mellitus*, UF = ultrafiltrace, a) = rozpětí, b) = medián a interkvartilové rozpětí.

BTM. Všechna měření průtoku byla provedena v průběhu nejdříve jednoho měsíce před experimentem a u všech pacientů byl průtok krve fistulí > 400 ml/min (medián 752 [559; 927] ml/min).

Statistické zpracování

Absolutní hodnoty prokrvení kůže byly analyzovány metodou ANOVA pro opakovaná měření. T-testem byly srovnávány dvě podskupiny pacientů. Hladina statistické významnosti byla stanovena na $p = 0,05$.

Nejllepší prediktor absolutních hodnot prokrvení kůže byl počítán s využitím hierarchického modelu vícenásobné regrese. Parametry z univariální korelační/regresní analýzy (převážně neparametrické Spearmanovy korelace) s nejméně významnější korelací byly postupně zahrnovány do modelu, který pro malý počet vzorků ve skupině nezahrnoval více než 3 proměnné.

Výsledky jsou vyjádřeny jako medián (mezikvartilové rozmezí) nebo průměr a směrodatná odchylka, podle homogenosti rozptylu dat.

VÝSLEDKY

Základní charakteristiky pacientů ukazuje tab. 1. Systolický ani diastolický krevní tlak se během HD procedury významně neměnily. Během studie jsme při ultrafiltrační rychlosti 650 (440; 980) ml/hod nezaznamenali žádnou epizodu hypotenze. Protože kožní prokrvení je ovlivňováno teplotou okolí a během HD došlo ke vzestupu pokojové teploty ($T_{out} = 25,5 \pm 1,4$ vs. $26,0 \pm 0,6$ °C; $p < 0,001$), byl do analýz zahrnut i vliv změn teplot.

Predialyzační sérové koncentrace ADMA činily $1,4 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$. Během HD poklesly o $0,9 \mu\text{mol/l}$ (64 %) na výsledných $0,5 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$ ($p < 0,001$). Prokrvení kůže během HD významně pokleslo ve všech čtyřech měřených lokalizacích ($p < 0,001$). Graf 1 ukazuje pokles kožní mikrocirkulace na rukou. Predialyzační koncentrace ADMA s poklesem kožní mikrocirkulace v žádné měřené lokalitě nesouvisela. Nejlepším prediktorem poklesu prokrvení v první hodině HD byla podialyzační koncentrace ADMA. V následujících 3 hodinách HD již převažoval vliv rychlosti ultrafiltrace (viz tab. 2 a 3). U 57 % pacientů došlo v alespoň jedné z měřených oblastí ke kritickému poklesu kožní mikrocirkulace. U těchto pacientů byly koncentrace ADMA mírně vyšší (podialyzační $0,56 \pm 0,15$ vs. $0,45 \pm 0,7 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,05$; predialyzační $1,46 \pm 0,25$ vs. $1,31 \pm 0,15 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,06$).

DISKUSE

Prezentovaná studie je první, která zkoumá souvislost sérových koncentrací ADMA a změny mikrocirkulace povrchových vrstev kůže rukou a nohou během HD procedury u pravidelně dialyzovaných pacientů. Naše výsledky ukazují na možný negativní vliv zvýšených koncentrací ADMA, avšak vlastní pokles prokrvení nebyl podmíněn predialyzační koncentrací, nýbrž koncentrací po dialýze. Jeví se, že pokud koncentrace ADMA zůstávají zvýšené

(respektive během HD méně klesají), může se periferní prokrvení během hemodialýzy více zhoršit.

Zvýšené koncentrace ADMA nejsou považovány za nevinný důsledek onemocnění ledvin. Naopak, jsou uremickým toxinem asociovaným s rychlejší progresí renálního onemocnění, vyšším krevním tlakem, inzulinovou resistencí, rizikem kardiovaskulárních příhod i úmrtí (Tripepi, 2011; Ravani, 2005). V našem souboru dosahovaly predialyzační sérové koncentrace ADMA měřené metodou ELISA $1,4 \pm 0,2 \mu\text{mol/l}$. V práci věnované mimo jiné možnostem eliminace ADMA HD a hemodiafiltrací činily predialyzační hodnoty $0,81 \pm 0,25 \mu\text{mol/l}$ (Kalousová, 2006). V tomto případě byly výsledky získány chromatografickou metodou. V souladu s tím literatura uvádí, že koncentrace naměřené metodou ELISA mohou být nadhodnocené (Pecchini, 2012). V pracích jiných autorů jsou uváděny predialyzační koncentrace ADMA v širokém rozmezí, např. 2,52 (1,58; 3,85) (Tripepi, 2011) či 1,25 (0,97; 1,33) (Eiselt, 2010). Protože pro stanovení ADMA nebyly v minulosti dostupné referenční vzorky, je srovnání absolutních hodnot různých autorů obtížné. Naše výsledky zapadají do rozpětí uváděných v literatuře nebo jsou spíše nižší. Přesto byl nežádoucí účinek ADMA patrný.

V průběhu HD sérové koncentrace ADMA výrazně klesají, avšak eliminace ADMA při HD není dostačující a právě postdialyzační koncentrace významně ovlivňuje pokles prokrvení kůže v první hodině HD, kdy potenciuje

Tab. 2: Korelace mezi změnami prokrvení kůže při HD a vybranými proměnnými

Čas (hod)	Prsty					Dorzum				
	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
sBP (mmHg)	$r = 0,2$ $p = \text{ns}$	ns	ns	0,38 0,03	0,39 0,02	ns	ns	ns	0,42 0,02	0,52 < 0,01
dBV (%)		0,4 0,02	0,49 < 0,01	0,42 0,02	0,37 0,03		0,5 < 0,01	0,6 < 0,01	0,63 < 0,01	0,63 < 0,01
T_{out} (°C)	0,5 < 0,01	0,42 0,01	0,4 0,02	0,34 0,05	ns	0,41 0,02	0,40 0,02	ns	0,34 0,05	ns
ADMA ($\mu\text{mol/l}$)	ns	-0,5 < 0,01	ns	ns	ns	ns	-0,44 < 0,01	-0,36 0,04	-0,33 0,05	-0,36 0,04

Pozn.: sBP = systolický krevní tlak, dBV = relativní změna objemu krve, T_{out} = pokojová teplota, ADMA = asymetrický dimethylarginin (ukázána data pro postdialyzační hodnoty), r = korelační koeficient, ns = nesignifikantní.

Tab. 3: Nezávislé proměnné predikující prokrvení kůže v čase 1 hod od začátku HD podle vícenásobné regresní analýzy

	Nezávislá proměnná	Regresní koeficient	Standardní chyba	Standardní koeficient	Hodnota p
Prsty	ADMA	-182	47	-0,52	< 0,001
	T_{out}	18,1	4,8	0,50	< 0,001
<i>multiple</i> $r = 0,69$; <i>multiple</i> $r^2 = 0,47$; <i>adj</i> $r^2 = 0,43$; $F = 13$; $p = 0,001$; <i>power</i> = 0,995					
Dorzum	T_{out}	10,2	4,0	0,37	0,02
	dBV	3,2	1,4	0,345	0,03
	ADMA	-92	-29	-0,344	0,024
<i>multiple</i> $r = 0,68$; <i>multiple</i> $r^2 = 0,46$; <i>adj</i> $r^2 = 0,41$; $F = 8$; $p < 0,001$; <i>power</i> = 0,98					

Pozn.: dBV = relativní změna objemu krve, T_{out} = pokojová teplota, ADMA = asymetrický dimethylarginin (ukázána data pro postdialyzační hodnoty).

Původní práce

negativní vliv ultrafiltrace. V následujícím průběhu HD je mikrocirkulace kůže ovlivňována především ultrafiltrací, která sumárně v čase narůstá. Přesto je pozorovatelné, že u pacientů, u kterých došlo ke kritickému poklesu prokrvení, byly vyšší poddialyzační hladiny ADMA.

U pacientů v chronickém dialyzačním léčení je nejčastější příčinou hemodynamické nestability vysoká rychlost ultrafiltrace. V naší studii jsme nezaznamenali žádný případ intradialyzační hypotenze a žádnou významnou změnu krevního tlaku ani pulzu. Přesto jsme naměřili signifikantní pokles v prokrvení kůže ve všech měřených oblastech – na prstech a dorzu rukou a na prstech a nártu nohou. Prokrvení kůže ve všech lokalizacích postupně klesalo během HD a nejmenších hodnot dosahovalo na konci procedury. Tyto výsledky ukazují, že rutinní ukazatele hemodynamické stability – krevní tlak a pulz – zdaleka nejsou spolehlivými ukazateli bezpečně prováděné HD.

Sydow a jeho spolupracovníci (2010) používali stejnou metodu měření koncentrací ADMA. U zdravých dospělých věkově odpovídajících naší studii zjistili medián sérové koncentrace ADMA 0,63 $\mu\text{mol/l}$. Bylo ukázáno, že koncentrace ADMA v séru během chronického onemocnění ledvin postupně stoupají a u dialyzovaných dosahují přibližně dvojnásobných hodnot (Aslam, 2006; Marescau, 1997; Kalousová, 2006). Nejdůležitějším důvodem tohoto vzestupu je pokles aktivity enzymu dimethylarginin dimethylaminohydrolázy (DDAH). Tento enzym je u zdravých lidí zodpovědný za odstraňování 80% ADMA (Achan, 2003). Ztráta renální clearance ADMA má na vzestupu jeho koncentrací u dialyzovaných pacientů jen malý podíl. Přestože je molekulová hmotnost ADMA malá, není snadno odstranitelný ani glomerulární filtrací, ani mimotělními eliminačními metodami. Příčinou je vysoká vazba na bílkoviny krevní plasmy, která dosahuje přibližně 90% (Kielstein, 2004). Použití různých typů dialyzátorů ani různé módy mimotělní eliminace (HD versus hemodiafiltrace) (Kalousová, 2006) eliminaci ADMA výrazně nezvyšují.

Téměř po dvaceti letech výzkumu ADMA byla zjištěna jeho zvýšená koncentrace u anurických pacientů (Leone, 1992). Dnes víme, že i při malém zvýšení extracelulárních koncentrací dochází ke vzestupu intracelulární koncentrace v endoteliálních buňkách, což může vést ke snížení syntézy oxidu dusnatého a následné vazokonstrikci (Cardounel, 2007). Dalším mechanismem, který by se mohl podílet na poklesu kožní mikrocirkulaci, je asociace zvýšených koncentrací ADMA a zvýšené aktivity sympatického systému. Koncentrace noradrenalinu jsou u pacientů s konečným selháním ledvin typicky zvýšené a byla popsána asociace mezi zvýšenými koncentracemi těchto látek (Mallamaci, 2007). Pátrání po patofyziologických pochodech vedoucích ke zhoršenému prokrvení ovšem nebylo cílem naší práce. Ta popisuje klinicky relevantní pokles prokrvení, který asociuje s vyšší sérovou koncentrací ADMA.

Na závěr lze shrnout, že tato práce jednoznačně ukazuje pokles v mikrocirkulaci v kůži při HD, a to i při jednoznačné hemodynamické stabilitě hodnocené rutinními ukazateli. Z toho vyplývá jejich nedostatečnost

a pro budoucnost nutnost hledání lepších ukazatelů, které pomohou lépe volit dialyzační strategii u konkrétních pacientů. Dále práce demonstruje vliv zvýšených koncentrací ADMA a ultrafiltrace v jednotlivých částech HD a ukazuje tím na další možné negativní důsledky této látky, retinované při selhání ledvin a jen částečně odstraňované mimotělní eliminací.

Práce byla podpořena výzkumným projektem Ministerstva zdravotnictví ČR č. NT 11355-4/2010 a projektem PRVOUK P37/12.

LITERATURA

1. Achan V, Broadhead M, Malai M et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1455–1459.
2. Alam S, Snatha T Leone A et al. Effects of amlodipine and valsartan on oxidative stress and plasma methylarginines in end-stage renal disease patients on hemodialysis. *Kidney Int* 2006; 70: 2109–2115.
3. Cardounel AJ, Cui H, Samouilov A et al. Evidence for the pathophysiological role of endogenous methylarginines in regulation of endothelial NO production and vascular function. *J Biol Chem* 2007; 282: 879–887.
4. Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy, Update 2006. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: S2–S90.
5. Clinical Practice Guidelines for Hemodialysis Adequacy, Update 2006. *Am J Kidney Dis* 2006; 48: S176–S276.
6. Eiselt J, Rajdl D, Racek J et al. Asymmetric dimethylarginine in hemodialysis, hemodiafiltration, and peritoneal dialysis. *Artif Organs* 2010; 34: 420–425.
7. Fliser D, Kielstein JT, Haller H et al. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor in renal disease? *Kidney Int* 2003; 63: S37–S40.
8. Jacobi J, Tsao PS. Asymmetrical dimethylarginine in renal disease: limits of variation or variation limits? A systematic review. *Am J Nephrol* 2007; 28: 224–237.
9. Kalousová M, Kielstein JT, Hodková M et al. No benefit of hemodiafiltration over hemodialysis in lowering elevated levels of asymmetric dimethylarginine in ESRD patients. *Blood Purif* 2006; 24: 439–444.
10. Kernick D, Tooke J, Shore A. The biological zero signal in laser doppler fluximetry – origins and practical implications. *Pflugers Arch Eur J Physiol* 1999; 437: 624–631.
11. Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM et al. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 594–600.
12. Kooman J, Basci A, Pizzarelli F et al. EBP guideline on haemodynamic instability. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: ii22–44.
13. Leone A, Moncada S, Vallance P et al. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572–575.
14. Mallamaci F, Tripepi G, Maas R et al. Analysis of the relationship between norepinephrine and asymmetric dimethylarginine levels among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 435–441.

15. Marescau B, Nagels G, Possemiers I et al. Guanidino compounds in serum and urine of nondialyzed patients with chronic renal insufficiency. *Metabolism* 1997; 46(9): 1024–1031.
16. Mistrík E, Dusilová Sulková S, Bláha V et al. Evaluation of skin microcirculation during hemodialysis. *Ren Fail* 2010; 32: 21–26.
17. Mistrík E, Dusilová Sulková S, Bláha V et al. Plasma albumin levels correlate with decreased microcirculation and the development of skin defects in hemodialyzed patients. *Nutrition* 2010; 26: 880–885.
18. Pecchinini P, Malberti F, Mieth M et al. Measuring asymmetric dimethylarginine (ADMA) in KD: a comparison between enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J Nephrol* 2012; 25: 1016–1022.
19. Pizzarelli F. From cold dialysis to isothermic dialysis: a twenty-five year voyage. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1007–1012.
20. Sydow K, Fortmann S, Fair JM et al. Distribution of asymmetric dimethylarginine among 980 healthy, older adults of different ethnicities. *Clin Chem* 2010; 56: 111–120.
21. Tripepi G, Raso FM, Sjbrands E et al. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6: 1714–1721.
22. Vilayur E, Harris DC. Emerging therapies for chronic kidney disease: what is their role? *Nature Rev Nephrol* 2009; 5: 375–383.
23. Wu CC, Wen SC, Yang CW et al. Plasma ADMA predicts restenosis of arteriovenous fistula. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 213–222.
24. Zoccali C, Bode-Boger S, Mallamaci F et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113–2117.

*MUDr. Roman Šafránek, Ph.D.
Hemodialyzační středisko
Fakultní nemocnice Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: roman.safranek@fnhk.cz*

Příloha č. 9

Kubišová M, Šafránek R, Ságová M, Horáček J, Podhola M, Dusilová Sulková, S. Pokročilá sekundární hyperparathyreóza při selhání ledvin - Chirurgická či farmakologická léčba? - Popis dvou případů *Osteologicky Bulletin* 2011; 16 (1): 11-15.

Pokročilá sekundární hyperparathyreóza při selhání ledvin – chirurgická či farmakologická léčba? – popis dvou případů

M. KUBIŠOVÁ¹, R. ŠAFRÁNEK¹, M. SÁGOVÁ², J. HORÁČEK³,
M. PODHOLA⁴, S. DUSILOVÁ SULKOVÁ⁵

¹Hemodialyzační oddělení, Klinika gerontologická a metabolická, LF UK a FN Hradec Králové,

²Fresenius Medical Care – DC, Praha,

³II. interní klinika LF UK a FN Hradec Králové, ⁴Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN Hradec Králové

⁵Klinika nefrologie, Institut klinické a experimentální medicíny, Praha

SOUHRN

Kubišová M., Šafránek R., Ságová M., Horáček J., Podhola M., Dusilová Sulková S.: **Pokročilá sekundární hyperparathyreóza při selhání ledvin – chirurgická či farmakologická léčba? – popis dvou případů**

Kazuistické sdělení popisuje dva odlišné případy chronicky dialyzovaných pacientů se sekundární hyperparathyreózou, u kterých byl zvolen rozdílný typ terapie. V prvním případě pacient i přes vyšší operační riziko podstoupil parathyreoidektomii, která byla zvolena zejména s ohledem na klinické obtíže. Po operativním odstranění příštítných tělísek se nejen upravila koncentrace PTH v séru, ale vymizela i celá řada subjektivních příznaků. Naopak, ve druhém případě kombinovaná farmakoterapie dlouhodobě postačovala ke kontrole koncentrací kalcia, fosforu i PTH v séru a pacient zůstal asymptomatický.

Klíčová slova: sekundární hyperparathyreóza, parathyreoidektomie, selhání ledvin

SUMMARY

Kubišová M., Šafránek R., Ságová M., Horáček J., Podhola M., Dusilová Sulková S.: **Advanced secondary hyperparathyroidism in renal failure – surgical or pharmacological therapy? – Report of two cases**

The case report describes two different cases of chronic dialysis patients with secondary hyperparathyroidism, for each of whom a different type of therapy was selected. The first patient, despite a higher operative risk, underwent parathyroidectomy, selected mainly with respect to clinical problems. After the parathyroid glands were surgically removed, not only serum PTH levels returned to normal but many symptoms disappeared. In the other case, by contrast, long-term combined pharmacotherapy was sufficient to control serum calcium, phosphorus and PTH and the patient remained asymptomatic.

Keywords: secondary hyperparathyroidism, parathyroidectomy, renal failure

Osteologický bulletin 2011;16(1):11–15

Adresa: Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc., Klinika nefrologie IKEM, Videňská 1958, 140 21 Praha 4,
e-mail: sulkovas@gmail.com

Došlo do redakce: 16. 11. 2010

Přijato k tisku: 5. 5. 2011

Úvod

Sekundární hyperparathyreóza (SHPT) je doprovodnou komplikací chronického selhání ledvin. Vzniká již v časných stádiích chronických nemocí ledvin (CKD, chronic kidney disease), kdy klesá eliminace fosfátů a současně se snižuje tvorba kalcitriolu v ledvinách [1]. Vysoká koncentrace parathormonu (PTH) v séru při SHPT je kombinací tří komponent: vystupňované tvorby i sekrece PTH a obvykle i hyperplázie příštítných tělísek (PT). Charakteristická je kvantitativní i kvalitativní porucha receptorů pro vitamín D (VDR) i receptorů pro kalcium (CaR, calcium sensing receptor): s progresí SHPT se tělíška zvětšují (hyperplazie), ale denzita VDR i CaR klesá a je snížena i jejich vazebná aktivita [2].

Klinická manifestace SHPT zahrnuje nejen projevy kostní nemoci s vysokým kostním obrátem, ale i řadu jiných důsledků abnormalit v metabolismu kalcia a fosforu, včetně

např. kalcifikací v měkkých tkáních (zejména cévních a srdečních) či nekrotických ulcerací kůže.

Prevence a léčba sekundární hyperparathyreózy je nedílnou součástí péče o pacienty se selháním ledvin. I když současná farmakoterapie umožňuje snížit tvorbu i sekreci parathormonu (aktivátory VDR, kalcimimetika) a vazače fosfátů v zažívacím traktu spolu s optimální dialyzační strategií upraví hyperfosfatémii, v některých případech je stále nutná parathyreoidektomie. Operační řešení však představuje samo o sobě riziko, a tak je volba konzervativní či operační strategie vždy pečlivě zvažována.

Uvádíme popis dvou případů pokročilé SHPT u dialyzovaných pacientů. V prvním pacient i přes vyšší operační riziko podstoupil parathyreoidektomii, která byla zvolena zejména s ohledem na klinické obtíže. Po operativním odstranění příštítných tělísek se nejen upravila koncentrace PTH v séru, ale vymizela i celá řada subjektivních příznaků, kte-

ré pravděpodobně souvisely s předchozí vystupňovanou aktivitou příštítných tělísek a vysokou koncentrací PTH v krvi. Naopak, ve druhém případě kombinovaná farmakoterapie dlouhodobě postačovala ke kontrole koncentrací kalcia, fosforu i PTH v séru a pacient zůstal asymptomatický.

Popis prvního případu:

Kazuistika popisuje klinickou manifestaci a léčbu sekundární parathyreózy u pacienta (muž, narozen 1951) léčeného v pravidelném hemodialyzačním programu pro chronické selhání ledvin od května 2005. Základní diagnózou je diabetická nefropatie (diabetes mellitus 2. typu od roku 1994) v kombinaci s agenezí levé ledviny.

V roce 2008 pacient prodělal akutní infarkt myokardu s implantací stentu do pravé koronární arterie. Ve stejném roce byl resuscitován pro kardiopulmonální zástavu při fibrilaci komor, s následnou implantací ICD (implantabilní kardioverter defibrilátor). Dále byl léčen pro refluxní esofagitidu, sekundární hypertenzi a sekundární renální anémii.

Zvolený dialyzační režim je on-line hemodiafiltrace 3x týdně 4,5 hodiny, s adekvátní eliminací (eKt/V 1,4), bez komplikací. Koncentrace kalcia v dialyzačním i substitu-

ním roztoku byla 1,5 mmol/l (jedná se o kalcium difusibilní).

Sekundární hyperparathyreóza byla až do poloviny roku 2008 dobře kontrolována kombinovanou farmakologickou léčbou (tabulka 1). Od prvního roku dialyzační terapie do konce roku 2006 byl pacient léčen kalcitriolem 0,25 µg per os 1x denně. V první polovině roku 2007 byl kalcitriol vysazen a do léčby byl zařazen cinacalcet hydrochlorid v dávce 30 mg denně per os. Vzhledem k horší gastrointestinální toleranci (nauzea) bylo podávání kalcimimetika několikrát krátkodobě přerušeno a v květnu 2008 ukončeno (s krátkým obdobím dalšího užívání v roce 2009). Nejnižší dokumentovaná kalcémie v průběhu léčby byla 1,9 mmol/l, a to jen jednorázově, jinak byla kalcémie v normě (a celkově nižší, než při léčbě kalcitriolem).

Ke snížení vstřebávání fosforu v zažívacím traktu byl podáván nekalciový vazáč – sevelamer hydrochlorid v dávkách 2 400–4 800 mg podle aktuální fosfatémie a gastrointestinální tolerance.

Od května 2008 postupně stoupá koncentrace PTH (tabulka 1 a tabulka 2). Do terapie byl zařazen parikalцитol v dávce 5 µg třikrát týdně i. v. (tj. do návratového krevního

Tabulka 1
Pacient 1 – Průběh hodnot Ca, P, PTH a souběžná farmakologická léčba do konce roku 2008

Období	Koncentrace fosforu v séru (mmol/l)	Koncentrace kalcia v séru (mmol/l)	Koncentrace PTH v séru (pg/ml)	Léčba
09/2006	2,7	2,7	233	Sevelamer + kalcitriol
12/2006	2,0	2,3	341	Sevelamer + kalcitriol
04/2007	1,8	2,2	66	Sevelamer + cinacalcet
10/2007	1,7	2,4	345	Sevelamer
02/2008	1,4	1,9	280	Sevelamer + cinacalcet
04/2008	1,5	2,2	148	Sevelamer + cinacalcet
06/2008	1,5	2,3	449	Sevelamer
10/2008	1,4	2,3	518	Sevelamer + parikalцитol

Tabulka 2
Pacient 1 – Průběh hodnot Ca, P, PTH a souběžná farmakologická léčba od počátku roku 2009

Období	Koncentrace fosforu v séru (mmol/l)	Koncentrace kalcia v séru (mmol/l)	Koncentrace PTH v séru (pg/ml)	Léčba
01/2009	2,3	2,5	945	Sevelamer + parikalцитol
03/2009	1,6	2,4	796	Sevelamer + parikalцитol
04/2009	2,2	2,4	1 530	Sevelamer + parikalцитol
05/2009	1,7	2,4	464	Sevelamer + parikalцитol + cinacalcet
06/2009	1,7	2,2	194	Sevelamer+ parikalцитol
07/2009	2,1	2,0	126	Sevelamer + parikalцитol
08/2009	2,4	2,3	147	Sevelamer + parikalцитol
09/2009	2,2	2,3	94	Sevelamer + parikalцитol

dialyzačního setu na konci hemodialýzy), za kontrol koncentrací fosforu a kalcia v séru. Přesto koncentrace sérového PTH postupně stouply až na nejvyšší zachycenou hodnotu 1 530 pg/ml. V daném období se kalcémie pohybuje mezi 2,4 až 2,5 mmol/l, fosfatémie kolísá mezi 1,6 až 2,3 mmol/l a maximální hodnota celkové ALP byla 1,1 ukat/l.

Od počátku roku 2009 pacient udává mnohočetné a málo specifické subjektivní obtíže, jejichž tíže postupně narůstá. Dominuje únava, nespavost, výrazné omezení denní aktivity, zažívací obtíže (zejména nadýmání a nechutenství), neurčitá bolesti svalů a kostí, zhoršení hybnosti. Z dříve naprosto samostatného a soběstačného pacienta se stává během několika měsíců pacient jen obtížně mobilní, neso-běstačný, vyžadující k denním aktivitám asistenci druhé osoby. Komplexní interní vyšetření (včetně gastroscopie) neukázalo žádnou novou či akcentovanou abnormalitu a neobjasnilo příčinu těchto obtíží, funkce ICD byla správná, ejekční frakce 30%, tj. bez zhoršení oproti předchozímu vyšetření.

Při ultrazvukovém vyšetření krku v květnu 2009 byla popsána tři suspektní zvětšená příštítná tělíška. Jejich rozměry byly 8 x 6 x 9 mm (kalkulovaný objem 0,2 ml), 8 x 7 x 17 mm (0,5 ml) a 8 x 8 x 12 mm (0,4 ml).

Vzhledem k eskalaci subjektivních stesků a objektivní poruchy hybnosti, které byly po vyloučení jiných příčin pracovně hodnoceny jako možné projevy akcentované hyperparathyreózy, bylo zvažováno operativní řešení, a to i přes přidružené interní komplikace. Ve spolupráci s kardiologem byla indikována a v polovině června 2009 provedena chirurgická parathyreoidektomie všech tří sonograficky identifikovaných tělíšek. Jejich lokalizace i velikost odpovídala sonografickému popisu (průměr dvou tělíšek 15 mm, třetí tělíško 10 mm). Patologem byl preparát hodnocen jako hyperplastické příštítné tělíško ložiskově vykazující onkocytární diferenciaci (obrázek 1).

Pooperační průběh byl nekomplikovaný (celková doba hospitalizace byla 10 dní), postačovala substituce kalcia per os v denní dávce 1 000 mg. Před operací byla hodnota ionizovaného kalcia 1,12 mmol/l, při dimisi 1,09 mmol/l.

Během několika dní po operaci ustoupily bolesti svalů a kostí, zlepšila se hybnost a funkční zdatnost, pacient se opět stal soběstačným a plně zvládal běžné denní aktivity.

Zvýšila se chuť k jídlu a postupně i tělesná hmotnost. Zřetelné bylo i zlepšení psychické. V následujících týdnech po parathyreoidektomii pokračuje léčba malými dávkami VDR aktivátorů a vazači fosfátů (nadále sevelamer 2 400 mg denně per os). Půl roku po parathyreoidektomii je kalcémie 2,2 mmol/l, fosfatémie 1,01 mmol/l a koncentrace PTH v séru 240 pg/ml.

Popis druhého případu:

Muž (narozen 1952) v pravidelném hemodialyzačním programu od prosince 2007, od roku 1992 opakovaně dnave záchvaty, v roce 2005 diagnostikováno významné snížení funkce ledvin, biopsie ledviny neprovedena a dále nesledován. V roce 2007 operován pro rupturu čtyřhlavého stehenního svalu vlevo. Při zahájení dialyzační léčby léčen kalcitriolem v dávce 0,5 µg/den se suplementací kalcia 500 mg/denně a podáváním nekalciových vazačů fosfátů (lanthanum karbonát). V únoru 2008 předán na jiné hemodialyzační středisko. Zde při vstupu byla koncentrace PTH 1 394 pg/ml, při kalcémii 2,28, fosfatémii 1,86 mmol/l a koncentraci ALP 6,19 ukat/l.

Obrázek 1
Histologický obraz nejvíce zvětšeného odstraněného příštítného tělíška



Tabulka 3
Pacient 2 – Průběh hodnot Ca, P, PTH a souběžná farmakologická léčba v průběhu sledování

Období	Koncentrace fosforu v séru (mmol/l)	Koncentrace kalcia v séru (mmol/l)	Koncentrace PTH v séru (pg/ml)	Terapie
02/2008	2,12	1,47	1 394	Parikalцитol + cinacalcet + kalcium
03/2008	1,3	2,04	1 689	Parikalцитol + cinacalcet + kalcium
04/2008	2,26	2,55	994	Parikalцитol + cinacalcet
05/2008	1,77	2,03	393	Parikalцитol + cinacalcet + kalcium
11/2008	1,56	2,45	187	Parikalцитol + cinacalcet
05/2009	1,77	2,14	196	Parikalцитol + cinacalcet + kalcium
09/2009	1,47	2,35	298	Parikalцитol + cinacalcet + kalcium

Dialyzační léčba probíhala od počátku 3krát týdně (hemodiafiltrace, koncentrace kalcia v dialyzačním i substitučním roztoku 1,5 mmol/l), index Kt/V trvale nad 1,4. Na ultrazvukovém vyšetření krku zachyceno hypoechogenní ložisko 0,8 ml (rozměry sonografistou neuvedeny); scintigrafický nálezn byl negativní, resp. při opakování byl jeho závěr nejednoznačný. Pacient byl klinicky asymptomatický. I nadále pokračoval konzervativní postup, avšak vzhledem k přetrvávajícím vysokým koncentracím PTH byl od února 2008 modifikován a kalcitriol byl zaměněn za parikalcol, podávaný 3x týdně 10 µg intravenózně během hemodialýzy (přechodně navýšení na 15 µg 3x týdně) v kombinaci s kalcimimetikem v dávce 30 mg/denně a suplementací kalcia 500 mg/den. Pacient léčbu dobře toleroval a subjektivně byl zcela bez komplikací, plně mobilní a soběstačný. Poslední zaznamenané koncentrace po roce a půl léčby jsou kalcémie 2,2 mmol/l, fosfatémie 1,8 mmol/l a PTH 234 pg/ml. Kontrolní ultrazvukové vyšetření po 1 roce léčby nezaznamenalo regresí velikosti tělíska, naopak, je popsáno suspektní další tělísko menších rozměrů.

Diskuze

Sekundární hyperparathyreóza je častá komplikace selhání ledvin. Je dobře dokumentováno, že je potřeba ji diagnostikovat a léčit včas. Současné farmakoterapeutické postupy umožňují úpravu koncentrací kalcia i fosforu a směřují i přímo na receptory PT (receptory CaR a VDR), jsou tedy dobře účinné.

První uvedená kazuistika má ve srovnání s obvyklým průběhem tři odlišnosti: ukazuje, že sekundární hyperparathyreóza má širokou klinickou manifestaci (PTH jako uremický toxin), dokumentuje úspěšné chirurgické řešení i u pacienta se závažnými interními komorbiditami (bezpečnost chirurgického řešení) a konečně upozorňuje na to, že patofyziologie pravděpodobně není ještě plně objasněna (akcentace hyperparathyreózy nastala přesto, že koncentrace kalcia a fosforu byly dobře kontrolovány).

V roce 2006 byl zaveden v nefrologické komunitě termín CKD-MBD (kostní a minerálová nemoc při chronickém onemocnění ledvin), který vychází ze souvislosti mezi kostní tkání a cévními a srdečními komplikacemi [3,4]. Zahrnuje laboratorní, kostní a cévní komponentu. Laboratorní komponenta je nejen základem diagnostiky, ale i vodítkem pro terapii v praxi (doporučené koncentrace kalcia, fosforu a PTH).

Při diagnostice i léčbě SHPT (jako podkladu pro CKD-MBD) se řídíme laboratorními ukazateli, tj. koncentracemi kalcia, fosforu, PTH a případně ALP, event. i 25-D v krvi. Cílové koncentrace PTH jsou podle nadnárodních doporučení KDOQI z roku 2003 mezi 150–300 pg/ml (kompromis mezi požadavkem na normální kostní obrát a rizikem dynamické osteopatie při hodnotách PTH odpovídajícím referenčnímu rozmezí). Cílová koncentrace vápníku je mezi 2,1–2,4 mmol/l (resp. hodnota odpovídající fyziologickému pásmu), pro fosfor je stanovena horní akceptovatelná mez 1,78 mmol/l (resp. hodnota co nejbližší k referenčnímu pásmu) – toto prakticky vždy vyžaduje nejen dobře vedenou dialyzační strategii, ale i vazbače fosfátů v zažívacím traktu. Léčba je obvykle konzervativní.

Tímto směrem byla vedena i léčba v popisovaném případě. K ovlivnění aktivity příštítných tělísek byla použita analoga vitamínu D a dle tolerance byl podáván i cinacalcet, který zvyšuje citlivost CaR na extracelulární koncentraci kalcia [5]. Tato kombinovaná léčba byla u pacienta dlouho účinná, avšak po určité době i přes dobrou kontrolu koncentrace kalcia i fosforu nastal růst tělísek a jejich autonomie.

Co bylo příčinou markantního zvětšení příštítných tělísek? Obecně jsou faktory indukující proliferaci shodné s těmi, které zodpovídají za hyperfunkci [2]. V uvedeném případě byla však po celou dobu koncentrace kalcia i fosforu v krvi dobře kontrolována. Přesto se tělíska zvětšila až na více než 10 mm, neboli nad empiricky stanovenou hranici možností konzervativní léčby [6]. To svědčí pro možnou existenci dalších mechanismů, dosud málo známých, které se podílejí na růstu a na změněných funkčních vlastnostech příštítných tělísek při SHPT [7]. Lze připustit, že v období, kdy byly vynechány VDR aktivátory (období mezi ukončením terapie kalcitriolem a zahájením podávání parikalcolu), mohl být proliferativní potenciál tělísek zvýšen. Hlavním stimulem pro růst tělísek je však nedostatečná stimulační kontrola CaR. Hypokalcémie byla zaznamenána jen jednorázově, což však nevylučuje její častější, avšak nepoznaný výskyt. Navíc, citlivost tělísek na kalcium mohla být nižší než obvyklá [8]. Z uvedeného vyplývá, že v praxi je třeba dbát na trvalou kontrolu obou receptorů – CaR a VDR (tak, jak probíhala léčba druhého pacienta).

Prezentovaná první kazuistika též dokumentuje, že SHPT je klinickou komplikací s mnohočetnou symptomatologií, která není omezená pouze na skelet. V uvedeném případě se sekundární hyperparathyreóza manifestovala početnými a málo specifickými symptomy, pro které nebylo zjištěno jiné vysvětlení a které ustoupily po chirurgickém vymezení zvětšených tělísek. Parathormon ve vysoké koncentraci není „toxický“ jen pro kostní metabolismus. Experimentální práce ukázaly mnohé toxické účinky PTH na buněčné úrovni [9,10]. PTH zvyšuje osmotickou fragilitu erytrocytů, zkracuje jejich přežívání a zvyšuje agregabilitu (prokoagulační moment). Je permisivním faktorem fibrózy myokardu, se zhoršením kontraktility i diastolické funkce a s hypertrofií levé komory. Při vysokých hodnotách PTH se zpomaluje vedení vzruchu v nervovém systému, což může korelovat s abnormálním nálezem na EEG a s projevy neuropatie, svalové slabosti a zhoršené hybnosti. Dále je při hyperparathyreóze popsána porucha glukózové tolerance a další endokrinní abnormality (snižuje se hladina testosteronu a naopak zvyšuje hladina aldosteronu a volně cirkulujícího prolaktinu). Na intracelulární úrovni je snížena oxidativní fosforylace, což vede ke snížení syntézy ATP (popisováno v kosterní svalovině). Akutní zvýšení PTH vede ke zvýšení počtu T lymfocytů a ke zvýšené produkci cytokinů, kdežto chronicky vyšší hodnoty PTH mají opačný efekt a imunitní systém inhibují. Je popsán i pokles aktivity lipoproteinové lipázy, což může přispívat k dyslipidémii u pacientů s chronickým selháním ledvin. V současné době je předmětem intenzivních výzkumů efekt PTH na cévní systém. Kontinuální vysoké koncentrace způsobují v experimentu poškození endotelu a kalcifikace cév. Vysoká koncentrace PTH má podíl

i na renální anémii [11]. Muskuloskeletální komplikace a bolest jsou horší se stoupající koncentrací PTH [12,13]. V klinických pozorováních je PTH nad 600 pg/ml spojen se zvýšenou kardiovaskulární morbiditou i mortalitou [14] a negativní prognostický význam byl nedávno doložen i pro koncentrace PTH nad 300 pg/ml [15]. Je tedy zřejmé, že u pacientů v dialyzačním léčení jsou dlouhodobě vysoké koncentrace PTH nežádoucí.

Souběžně dokumentujeme, že paratyreoidektomie je schůdná i u pacientů považovaných za vysoce rizikové. Při mezioborové spolupráci (nefrolog, endokrinolog, kardiolog, chirurg) a pečlivé přípravě a perioperačním i pooperačním sledování bylo chirurgické řešení úspěšné i u anurického pacienta s těžkou srdeční dysfunkcí.

Druhá kazuistika naopak popisuje příznivou laboratorní odezvu na léčbu a dlouhodobě asymptomatický průběh onemocnění. Nelze však s určitostí tvrdit, že do budoucna je vyřešené (trvá sonografický nálezní). Kombinovaná titrovaná terapie však zajistila počáteční zřetelný pokles a v dalším období udržela koncentrace kalcia, fosforu i PTH v doporučeném rozmezí [16,17].

Pro úplnost je vhodné zmínit, že výše uvedené doporučené cílové hodnoty PTH 150–300 pg/ml byly publikovány v roce 2003 (iniciativa K/DOQI) [16] a opíraly se o studie sledující vztah mezi koncentrací PTH a kostní histomorfometrií. V roce 2009 byl publikován jiný dokument (KDIGO), který na podkladě přísně mortalitních dat posunuje koncentraci PTH výše (2–9ti násobek horní referenční meze). Důležité však je, že tento dokument poprvé klade důraz na dynamiku dat a upozorňuje, že důvodem k zahájení či změně léčby je změna laboratorních dat, nikoliv jen jejich absolutní hodnota. Postup pro implementaci těchto KDIGO doporučení nedávno uveřejnila pracovní skupina České nefrologické společnosti [18].

Závěr

Lze shrnout, že sekundární hyperparathyreóza zůstává problémem i v současné době, kdy je k dispozici cílená farmakoterapie, umožňující dlouhodobou kompenzaci hladin kalcia a fosforu a zasahující cílová místa receptorů příštítných tělísek (CaR, VDR). Vysoké koncentrace PTH nejsou jen laboratorním nálezem a nemají vztah jen ke kostnímu metabolismu, ale jejich negativní vliv je mnohem širší (parathormon jako uremický toxin). Paratyreoidektomie zůstává metodou volby v pokročilých a rezistentních případech, a to i u pacientů se závažnými interními komplikacemi.

Podpořeno Výzkumným záměrem MSM 0021620819.

Literatura

- Dusilová Sulková S a kol. Renální osteopatie. Maxdorf Jessenius 2007.
- Silver J, Kilav R, Naveh-Many T. Mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *American journal of physiology. Am J Physiol Renal Physiol* 2002;283: F367–F376.
- Moe S, Drüeke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, Ott S, Sprague S, Lameire N, Eknoyan G et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006;69:1945–1953.
- Dusilová Sulková S. Kostní minerálová porucha při chronickém onemocnění ledvin – přehled problematiky. *Osteol Bull* 2008;13:144–151.
- Kakuta T, Tanaka R, Kanai G, Sawaya A, Hirukawa T, Sato A, Saito A. Can cinacalcet replace parathyroid intervention in severe secondary hyperparathyroidism? *Ther Apher Dial* 2009;13 (Suppl 1):S20–27.
- Horáček J. Ultrazvukové vyšetření příštítných tělísek u chronických nemocí ledvin. *Osteologický bulletin* 2008;13:152–155.
- Eren PA, Turan K, Berber I, Canbakan M, Kara M, Tellioglu G, Bugan U, Sevinc C, Turkmen F, Titiz MI. The clinical significance of parathyroid tissue calcium sensing receptor gene polymorphisms and expression levels in end-stage renal disease patients. *Clin Nephrol* 2009;72:114–121.
- Cunningham J, Locatelli F, Rodriguez M. Secondary hyperparathyroidism: pathogenesis, disease progression and therapeutic options. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:913–921.
- Barreto FC, Barreto DV, Liabeuf S, Drueke TB, Massy ZA et al: Effects of uremic toxins on vascular and bone remodeling. *Semin Dial* 2009;22:433–437.
- Rodriguez M, Lorenzo V. Parathyroid hormone, an uremic toxin. *Semin Dial* 2009;22:363–367.
- Drueke T, Eckardt KU. Role of secondary hyperparathyroidism in erythropoietin resistance of chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 (Suppl. 5):28–31.
- Noordzij M, Boeshoten E, Bos W, Dekker FW, Bosuyt PM, Krediet RT, Korevaar JC for the NECOSAD Study Group. Disturbed mineral metabolism is associated with muscle and skin complaints in a prospective cohort of dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:2944–2949.
- Golan E, Haggiag I, Os P, Bernheim J. Calcium, parathyroid hormone and vitamin D: major determinant of chronic pain in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1374–1380.
- Tentori F, Blayney MJ, Albert JM, Gillespie BW, Kerr PG, Bommer J, Young EW, Akizawa T, Akiba T, Pisoni RL, Robinson BM, Port FK. Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 2008;52:519–530.
- Floege J, Kim J, Ireland E, Chazot Ch, Drueke T, de Francisco A, Kronenberg F, Marcelli D, Passlick-Deetjen J, Scherthaner G, Fouqueray B, Wheeler DC on behalf of the ARO investigators. Serum iPTH, calcium and phosphate, and the risk of mortality in a European haemodialysis population. *Nephrol Dial Transplant* 2010; doi 10.1093/dnt/gfq219.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO® clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention and treatment of chronic kidney disease – mineral bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009;76 (Suppl 113):S1–S130.
- National Kidney Foundation. K/DOQITM clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42 (suppl 3):S1–S201.
- Dusilová Sulková S, Opatrná S, Ryšavá R, Teplan V, Víklícký O, Zahálková J. KDIGO doporučení pro diagnostiku a léčbu CKD-MBD: komentovaný návod pro klinickou praxi. *Aktuality v nefrologii* 2010;16:113–126.

Příloha č. 10

Vykoukalová E, Dusilová Sulková S, Šafránek R, Vávrová J, Kalousová M, Kohoutová J, Malá A, Ryba M, Pavlíková L, Palička V. Sklerostin při chronickém onemocnění a selhání ledvin: Literární přehled současných poznatků *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (4): 138-146.

SKLEROSTIN PŘI CHRONICKÉM ONEMOCNĚNÍ A SELHÁNÍ LEDVIN: LITERÁRNÍ PŘEHLED SOUČASNÝCH POZNATKŮ

SCLEROSTIN IN CHRONIC KIDNEY DISEASE AND KIDNEY FAILURE: A REVIEW OF THE CURRENT LITERATURE

EVA VYKOUKALOVÁ¹, SYLVIE DUSILOVÁ SULKOVÁ^{2,3}, ROMAN ŠAFRÁNEK^{2,4}, JAROSLAVA VÁVROVÁ⁵, MARTA KALOUSOVÁ⁶, JANA KOHOUTOVÁ², ALENA MALÁ², MIROSLAV RYBA⁷, LADISLAVA PAVLÍKOVÁ⁵, VLADIMÍR PALIČKA⁵

¹Centrum interních oborů, Krajská nemocnice Liberec, a. s., Liberec

²Hemodialyzační středisko, Fakultní nemocnice Hradec Králové

³II. interní gastroenterologická klinika, Lékařská fakulta UK v Hradci Králové

⁴III. interní gerontometabolická klinika, Lékařská fakulta UK v Hradci Králové

⁵Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a Fakultní nemocnice Hradec Králové

⁶Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

⁷Oddělení nefrologie a dialýzy, Krajská nemocnice Liberec, a. s.

ABSTRAKT

Sklerostin (produkt SOST genu) je cirkulující inhibitor Wnt/b-katenin signální dráhy produkovaný především osteocyty, který negativně ovlivňuje osteoblastogenezi, tím inhibuje kostní novotvorbu a významně přispívá k rozvoji osteoporózy.

Chronické onemocnění ledvin (CKD) je provázeno poruchou metabolismu vápníku, fosforu a vitamínu D a je obligatorně spojeno s renální osteopatií a onemocněním kardiovaskulárního systému (kostní a minerálová porucha u chronického onemocnění ledvin; CKD-MBD). Nové poznatky ukazují, že spojovacím článkem mezi onemocněním kostí a cév by mohl být právě sklerostin, který se nejspíše podílí na „komunikaci“ mezi kostí a cévou (bone-vascular cross-talk).

Sérové koncentrace sklerostinu se při chronickém onemocnění ledvin zvyšují. Příčinou může být nejen chybějící renální eliminace, ale také změna kostního metabolismu, neboli i změna produkce sklerostinu. Oproti očekávání je vztah mezi kostní densitou a sérovou koncentrací sklerostinu při CKD spíše pozitivní než negativní, i to může ukazovat na změnu vztahu mezi tvorbou a eliminací sklerostinu při CKD. Inverzní vztah mezi koncentrací parathormonu a sklerostinu je zachován i při CKD, a dokonce i u selhání ledvin. To vede k úvaze, že sklerostin může mít roli i v patogenezi tzv. adynamické kostní nemoci u těchto nemocných.

Prognostický význam sérových koncentrací sklerostinu při CKD a zejména u dialyzovaných pacientů je intenzivně studován.

Z některých recentních studií vyplývá, že vysoké hladiny sklerostinu u dialyzovaných pacientů jsou spojeny s nižší kardiovaskulární mortalitou. Zatím hypotetickým vysvětlením je možný protektivní vliv sklerostinu na cévní stěnu, jsou však zapotřebí další studie.

Článek si klade za cíl přehledně utřídit dosavadní poznatky o sklerostinu, a to zejména při onemocnění a selhání ledvin.

Klíčová slova: sklerostin, osteoporóza, chronické onemocnění ledvin, minerálová a kostní choroba, cévní kalcifikace, kardiovaskulární mortalita, protilátka proti sklerostinu

ABSTRACT

Sclerostin (the SOST gene product) is a circulating inhibitor of the Wnt/b-catenin signaling pathway, secreted mainly by osteocytes.

Sclerostin has a negative effect on osteoblastogenesis, thereby inhibiting bone formation and significantly contributing to the development of osteoporosis.

Chronic kidney disease (CKD) is associated with calcium, phosphorus and vitamin D metabolism disorders and it is inevitably connected with renal osteopathy and cardiovascular system (chronic kidney disease - mineral and bone disorder). According to recent studies, sclerostin could be the link between bone and vascular diseases, most likely participating in communication between blood vessel walls and bones (bone-vascular cross-talk).

Serum sclerostin concentrations increase in the course of CKD. The reason may be not only missing renal elimination, but also bone

metabolism changes, that is, sclerostin secretion changes. Contrary to expectations, the correlation between bone density and sclerostin serum concentrations is positive rather than negative, also suggesting a change in the relationship between sclerostin secretion and elimination in CKD patients. An inverse correlation between parathormone and sclerostin is maintained in CKD patients, even those with end stage renal disease. It could be hypothesized that sclerostin can play a role in the pathogenesis of adynamic bone disease in these patients.

The prognostic relevance of sclerostin is intensively studied in CKD patients, especially those on long-term maintenance hemodialysis (HD). Some recent studies show that high sclerostin levels in HD patients predict lower cardiovascular mortality in these patients. A rather hypothetical explanation is a possible protective effect of sclerostin on the blood vessel wall, but more studies are needed to prove this.

The aim of this article is to summarize the existing knowledge about sclerostin, especially in CKD and HD patients.

Key words: sclerostin, osteoporosis, chronic kidney disease, mineral and bone disorder, cardiovascular calcification, cardiovascular mortality, sclerostin antibody

ÚVOD

Osteocyty jsou nejpočetnější buňky v kostní tkáni. Jejich význam v kostní remodelaci nebyl dlouho znám. Nyní je zřejmé, že se významně účastní na přestavbě kostní tkáně převodem mechanického signálu na biochemický, a to prostřednictvím aktivace Wnt/ β -catenin signalizační dráhy. Klíčovým regulátorem v tomto procesu je sklerostin [1].

Sklerostin je glykoprotein o molekulové hmotnosti 22 kD. Je produktem genu SOST, který je exprimován téměř výhradně v osteocytech. Patří mezi inhibitory signální dráhy Wnt/ β -catenin, která je zodpovědná za diferenciaci a proliferaci osteoblastů. Vysoké hladiny sklerostinu vedou k potlačení kostní formace a poruše mineralizace, čímž přispívají k rozvoji osteoporózy [2]. Mezi další inhibitory Wnt dráhy patří glykoprotein Dickkopf-1 (Dkk-1).

Role sklerostinu v procesu kostní novotvorby byla objasněna i díky pacientům se sklerosteózou. Tato choroba vzniká v důsledku vyřazení obou alel genu SOST, což vede k progresivnímu zesílení tloušťky kosti, a tím ke zvýšení kostní hustoty (bone mineral density, BMD). Podobný fenotyp pozorujeme i u vzácné Van Buchemovy choroby [1,2].

V nedávných studiích bylo zjištěno, že aktivace Wnt signální dráhy zřejmě stojí i na počátku kalcifikace středních arterií a aortální chlopně. Zatímco však role sklerostinu v patogenezi úbytku kostní tkáně, resp. role sklerostinu v patogenezi osteoporózy je dobře doložena, úloha sklerostinu v biologii cévní stěny je teprve zkoumána [3,4,5].

Fyziologická hladina sklerostinu v krvi u zdravých jedinců je přibližně 20–30 pmol/l (454–681 pg/ml) v závislosti na typu použité laboratorní metody (imunoeseje). V současné době existují tři hlavní typy komerčně vyráběných esejí, další jsou vyvíjeny (například firma DiaSorin). Zatímco Biomedica a TECO využívají ke stanovení sklerostinu monoklonální protilátku proti sklerostinu, MSD (Meso Scale Discovery) používá polyklonální sekundární protilátku. Při porovnání naměřených hodnot sklerostinu v plazmě a v séru pomocí esejí Biomedica a TECO byla zjištěna značná variabilita výsledků jak mezi oběma esejemi, tak mezi hodnotami v plazmě a v séru v rámci jedné esejí [6]. Tyto výsledky naznačují, že sklerostin se vyskytuje v séru v různých formách a odlišné protilátky

používané v esejích tak rozpoznávají vždy jen některou z jeho forem. Výsledky jednotlivých studií je tedy vždy třeba interpretovat s uvedením metodiky stanovení. Před případným zavedením stanovení koncentrace sklerostinu v krvi do klinické praxe bude nutná standardizace použité metody.

Sérové koncentrace sklerostinu se mezi jednotlivými osobami velmi liší, tj. vykazují velkou interindividuální variabilitu. Byly zkoumány jednotlivé okolnosti, které by s touto variabilitou mohly být spojeny; například rozdílný věk, tělesná konstituce (BMI, body mass index), fyzická aktivita (která představuje mechanickou zátěž skeletu). Dále byl studován i vliv pohlavních hormonů, které mají samy o sobě významný vliv na kostní tkáň. Pozornost je věnována i dalším hormonům a látkám, které ovlivňují kostní metabolismus či s ním jsou spojeny (ukazatele kostní novotvorby i resorpce) – obr. 1. V neposlední řadě se ukazuje, že hladina sklerostinu se může měnit při snížené funkci ledvin (možnost retence sklerostinu v krvi při snížené či chybějící renální eliminaci, avšak i souvislost se změnou metabolismu a morfologie kostní tkáně při poruše funkce ledvin, viz dále).

U zdravých dobrovolníků korelovala hladina sklerostinu pozitivně s věkem (čím vyšší věk, tím vyšší sklerostin v krvi), dále i s BMI a nižší fyzickou aktivitou [7]. Fyzická inaktivita produkci sklerostinu v osteocytech a následně i jeho sérové koncentrace zvyšuje, fyzická aktivita (mechanická zátěž skeletu) naopak snižuje. Jedním z dokladů vzestupu koncentrace sklerostinu v krvi, resp. zvýšené produkce sklerostinu při nízké fyzické aktivitě neboli při nízké mechanické zátěži skeletu, je dynamika hodnot sledovaná u mladých mužů po poranění páteře s následnou dlouhodobou imobilizací: během pěti let po poranění koncentrace sklerostinu v séru výrazně narůstala, po pěti letech se postupně snižuje (což je podle autorů dáno zřejmě zmenšením kostní hmoty, a tedy poklesem počtu osteocytů) [8].

Vztah mezi tělesným složením a koncentrací sklerostinu v séru při normální renální funkci studoval Urana et al. [9] u japonských žen po menopauze. Hladina sklerostinu pozitivně korelovala s procentem tukové tkáně. Dále bylo zjištěno, že hladiny sklerostinu u mužů jsou výrazně vyšší než u žen, ale po přepočtu hodnot na kostní hmotu (BMC, bone mineral content), věk, BMI, fyzickou aktivitu a renální funkce se tento rozdíl nejevil tak významný [7,10].

Další studie se zaměřily na longitudinální vývoj koncentrací sklerostinu v séru. Bylo dokumentováno, že u zdravých mužů i žen neléčených estrogenem se hladina sklerostinu během let zvyšuje. Zvýšení je významnější u mužů (až 4,6krát) než u žen (2,4krát) [10]. Nárůst hladiny sklerostinu v průběhu života byl doložen i ve studii srovnávající premenopauzální a postmenopauzální ženy [11]. Vztah mezi koncentrací sklerostinu v krvi a věkem byl tedy doložen opakovaně a tento vztah je u zdravé populace konzistentní (při onemocnění ledvin však tento vztah nemusí být jednoznačný, viz dále).

Studie zkoumající vliv pohlavních hormonů na hladinu sklerostinu u postmenopauzálních žen a starších mužů ukázala, že při užití estrogeneru (nikoliv však testosteronu) se zmírňuje vzestup sklerostinu při stoupajícím věku [12]. Toto je v souladu se známým antiosteoporotickým vlivem estrogenerů.

Text předkládá shrnutí základních poznatků o sklerostinu s cíleným zaměřením na chronické onemocnění ledvin (CKD, chronic kidney disease) a zejména na jejich selhání (dialyzovaní pacienti). Jednotlivé části se přehledně věnují koncentraci sklerostinu v séru (včetně laboratorních úskalí), vztahu mezi parathormonem a sklerostinem, mezi sklerostinem a dalšími ukazateli kostního metabolismu, kostními denzitometrickými nálezy, antropometrickými a demografickými ukazateli. Je zmíněna i nově zvažovaná role sklerostinu v ose céva – kost. Je též zařazen i přehled studií, které se dosud věnovaly možné prognostické roli sklerostinu u dialyzovaných pacientů.

SÉROVÉ KONCENTRACE SKLEROSTINU

Sklerostin je cirkulující molekula a jeho koncentrace v séru jsou měřitelné. Hodnoty jsou uváděny nejčastěji v pmol/l nebo v pg/ml; převodní koeficient z pmol/l na pg/ml činí přibližně 22,7krát (1 g = 22,7 mmol).

Referenční meze se liší dle jednotlivých autorů a v závislosti na typu použité imunoeseje. Podle Malluche et al. [13] se pohybují v rozmezí od 130 do 1 160 pg/ml, v přepočtu 5,7 až 51,1 pmol/l (TECO). Amrein et al. [7] naměřil u zdravých mužů průměrné hodnoty sklerostinu 49,8 ± 17,6 pmol/l a u premenopauzálních žen 37,2 ± 15,2 pmol/l (Biomedica). Ve studii Moddera et al. [10] vychází průměrná hladina sklerostinu ve skupině zdravých mužů 33,3 ± 1,0 pmol/l a ve skupině pre- a postmenopauzálních žen 23,7 ± 0,6 pmol/l (Biomedica).

Při chronickém onemocnění ledvin, a zejména při selhání ledvin, se hladiny mění. Pelletier et al. [14] ukázal, že hladiny sklerostinu u pacientů s onemocněním ledvin jsou obecně vyšší než u zdravých jedinců a s progresí CKD dále stoupají. Ve skupině 90 osob s chronickým onemocněním ledvin (median glomerulární filtrace stanovené metodou inulinové clearance 1,1 ml/s/1,73 m²) byla střední koncentrace sklerostinu 53,5 (mezikvartilové rozmezí 37,5–77,2) pmol/l. V jednorozměrných analýzách negativně korelovala s glomerulární filtrací ($r = -0,58$; $p < 0,001$), pozitivně s věkem ($r = 0,34$;

$p < 0,01$), a též se sérovou koncentrací fosforu ($r = 0,26$; $p = 0,02$). Koncentraci sklerostinu v séru může ovlivňovat řada faktorů. V mnohorozměrné analýze se ukázaly jako významné funkce ledvin (glomerulární filtrace), pohlaví a sérová koncentrace fosforu; avšak věk v mnohorozměrné analýze již k významným determinantám nepatřil. Jde o první studii, která dokumentuje vzestup sklerostinu při poklesu funkce ledvin (vzestup byl zaznamenán od stadia CKD3). Autoři zmiňují možnost, že dosud konzistentně popisovaná korelace mezi sklerostinem a věkem může ve skutečnosti odrážet sníženou funkci ledvin u osob vyššího věku.

Při své relativně nízké molekulové hmotnosti (22 kDa, přitom permeabilita glomerulární membrány se zastavuje až s molekulovou hmotností albuminu, tj. 60 kDa) a pozitivním nábojem přechází sklerostin do glomerulárního filtrátu; tj. z organismu je vylučován především glomerulární filtrací. Snížená renální funkce skutečně může vést ke snížené renální eliminaci sklerostinu, ale na druhou stranu velké interindividuální rozdíly mezi pacienty se stejným stupněm snížení funkce ledvin mohou odrážet právě rozdílnou (kostní) expresi SOST genu.

Po úspěšné transplantaci se obnovuje funkce ledvin. Změny koncentrací sklerostinu v krvi u pacientů po úspěšné transplantaci ledviny prospektivně zkoumal Bonani et al. [15] v souboru 42 pacientů. Průměrná koncentrace sklerostinu v krvi bezprostředně před transplantací činila 61,8 ± 32,3 pmol/l. Po 15 dnech po úspěšné transplantaci poklesla na 21,7 ± 14,7 pmol/l, avšak po 6 a 12 měsících opět stoupla, byť nikoliv na vstupní hodnoty (na 23,8 ± 14,9 pmol/l, respektive 28,0 ± 16,8 pmol/l). Rychlý pokles sklerostinu paralelně s obnovou renálních funkcí ukazuje na důležitost renální eliminace pro udržení fyziologické koncentrace sklerostinu. Postupný vzestup sérové koncentrace sklerostinu při přetrvávající dobré funkci transplantované ledviny nepřímo ukazuje na změnu resp. zvýšení produkce. Ukazuje se, že po úspěšné transplantaci ledviny sklerostin vzrůstá paralelně s poklesem parathormonu (viz dále).

VZTAH MEZI SKLEROSTINEM A PARATHORMONEM A DALŠÍMI UKAZATELI KOSTNÍHO METABOLISMU

Je známo, že intermitentně podávaný parathormon (PTH) stimuluje kostní novotvorbu [16]. Tento efekt je využíván i terapeuticky (anabolický účinek rekombinantního parathormonu). Tento efekt PTH na kost je zřejmě přinejmenším částečně dán sníženou expresí sklerostinu [17–19]. Opakovaně bylo doloženo, že vztah mezi parathormonem a sklerostinem je inverzní.

Prospektivní studie srovnávající hladinu sklerostinu u 27 postmenopauzálních žen krátkodobě léčených rekombinantním PTH 1–34 (teriparatid) a 28 žen bez této léčby (tj. kontrolní skupiny) ukázala, že rekombinantní PTH významně snižuje hladinu sklerostinu v séru: v intervenované skupině se sérové koncentrace sklerostinu snížily (pokles z 24,27 ± 1,41 na 21,23 ± 1,37 pmol/l), zatímco v kontrolní skupině se nezměnily [20]. Expresí sklerostinu v kostní tkáni koreluje s hladinou sérového

sklerostinu. V budoucnu by tedy teoreticky na základě znalosti sérové koncentrace sklerostinu mohla být stanovena citlivost kosti k účinku rekombinantního PTH a efekt léčby by mohl být dále sledován pomocí monitorování sérových koncentrací sklerostinu. Toto je však pouze vstupní hypotéza, k jejímu ověření je třeba provést další rozsáhlejší a dlouhodobější studie.

K objasnění vztahu mezi PTH a sklerostinem byli sledováni i pacienti s primární hyperparatyreózou (PHPT), kdy je produkce parathormonu zcela autonomní. I u nich byl doložen inverzní vztah sérovými koncentracemi PTH a sklerostinu. Pacienti s PHPT, neboli s vysokou koncentrací PTH, měli nižší hladiny sérového sklerostinu oproti zdravým kontrolám či oproti pacientům po parathyreoidektomii, a to nezávisle na typu použité imunoeseje [21,22]. Ve studii van Lierop [21] byly po parathyreoidektomii koncentrace sklerostinu v séru významně vyšší ve srovnání s kontrolami. K podobným výsledkům dospěl i Ardawi et al. [22], který zároveň dokázal, že původní nízká sérová koncentrace sklerostinu při hyperparatyreóze se u pacientů po parathyreoidektomii normalizovala do 10 dnů, neboli rychleji, než se měnily klasické biochemické ukazatele kostní novotvorby. Šedesát pacientů s primární hyperparatyreózou a 74 pacientů po parathyreoidektomii bylo porovnáno s kontrolní skupinou 268 osob srovnatelného věku a se stejným zastoupením obou pohlaví; podskupina 27 osob po parathyreoidektomii byla dále sledována longitudinálně po dobu 360 dní. Pacienti s primární hyperparatyreózou měli průměrnou koncentraci sklerostinu v séru necelých 30 pmol/l, zatímco kontrolní skupina měla průměrnou hodnotu 46,2 pmol/l. Korelační koeficient mezi inverzní koncentrací PTH a sklerostinu dosahoval $-0,651$ ($p < 0,0001$). Výsledky obou těchto studií [21,22] jsou v souladu s výše uvedenou studií u žen léčených rekombinantním PTH [20].

Sérové koncentrace sklerostinu byly měřeny i u pacientů s primární hypoparatyreózou, (hypoPT). Zde lze teoreticky předpokládat, že budou naopak vysoké. Costa et al. [23] zkoumal hladiny sklerostinu ve vztahu k iPTH (stanovení iPTH testem 2. generace, Scantibodies) u 20 pacientů s hypoPT a u 20 pacientů s PHPT. Ve skupině pacientů s hypoPT byla sérová koncentrace sklerostinu $49,25 \pm 3,96$ pmol/l, ve skupině pacientů s PHPT $29,29 \pm 1,76$ pmol/l, v kontrolní skupině $31,50 \pm 1,76$ pmol/l; tj. skutečně u hypoparatyreózy byly naměřené hodnoty nejvyšší (a u hyperparatyreózy nejnižší). Zatímco u pacientů s PHPT byla zjištěna negativní asociace mezi ukazateli kostní novotvorby (P1NP) i kostní resorpce (CTX) a koncentrací sklerostinu v séru, u pacientů s hypoPT se osteomarkery se vzrůstající hladinou sklerostinu spíše zvyšovaly (statistické významnosti však dosáhl pouze vztah mezi sklerostinem a CTX). To znamená, že rozdílná dysfunkce příštítných tělísek (hyper- či hypoparatyreóza) může ovlivnit vztah mezi osteomarkery a sklerostinem.

V jiných studiích srovnávajících koncentrace sklerostinu v séru s markery kostního obratu byla zjištěna negativní korelace mezi sklerostinem a osteomarkery [24–25]. Ze studií provedených při hyper- a hypoparatyreóze však

vyplývá, že tento inverzní vztah je zřejmě podmíněn i aktuální funkcí příštítných tělísek.

U hemodialyzovaných pacientů je funkce příštítných tělísek změněna vlivem poruchy mnoha regulačních dějů (změny tvorby i sekrece PTH vlivem nižší úrovně aktivace vitamin D receptoru v buňkách příštítných tělísek, ale i vlivem nižší denzity receptorů pro vitamin D i nižší denzity receptorů CaR, calcium-sensing receptor). Sérové koncentrace sklerostinu tak mohou být zvýšeny nezávisle na hladině PTH. I přes uvedené dysregulace většina publikovaných prací nachází inverzní vztah mezi PTH a sklerostinem i při selhání ledvin (viz dále).

Cejka et al. [26] ve své studii zjišťovali vztahy mezi biochemickými ukazateli kostního a minerálového metabolismu (sklerostin, Dkk-1, iPTH, vápník, fosfor) a BMD u dialyzovaných pacientů. Sérová koncentrace sklerostinu (průměr \pm směrodatná odchylka) byla $90,53 \pm 154,58$ pmol/l. I zde, jako u osob s normální funkcí ledvin, byla nalezena negativní korelace mezi hladinou sklerostinu a intaktním parathormonem (iPTH), korelační koeficient byl $-0,34$ ($p = 0,01$). Kromě hraniční pozitivní korelace mezi sérovým vápníkem a sklerostinem ($p = 0,26$, $p = 0,04$) nebyla zjištěna žádná další asociace se sérovými koncentracemi sklerostinu. To znamená, že u hemodialyzovaných pacientů nebyl např. doložen vztah mezi sérovou koncentrací fosforu a sklerostinem.

Inverzní korelace mezi PTH a sklerostinem může být zachována i při onemocnění a selhání ledvin [27]. Pacienti s hodnotami sklerostinu pod $67,8$ pmol/l měli průměrné hladiny iPTH $45,52 \pm 38,88$ pmol/l (i zde byl parathormon stanoven testem 2. generace, byť však od jiného výrobce diagnostické soupravy), u pacientů s hladinou sklerostinu nad $67,8$ pmol/l činila hladina iPTH $14,92 \pm 13,46$ pmol/l. Mezi markery kostního obratu (P1NP, CTX) a sklerostinem však korelace potvrzena nebyla.

Ve studii NECOSAD [28], která se opírá o precizní velkou prospektivní dlouholetou databázi dialyzovaných pacientů v Nizozemí, byla u pacientů ve 3. tertili (tj. se sérovou koncentrací sklerostinu nad $60,35$ pmol/l) průměrná hladina vápníku $2,4 \pm 0,2$ mmol/l a hladina fosforu $1,9 \pm 0,5$ mmol/l; hladiny vápníku u pacientů v 1. tertili (koncentrace sklerostinu pod $41,85$ pmol/l) činily $2,3 \pm 0,2$ mmol/l a fosforu $1,9 \pm 0,5$ mmol/l. Z výsledků vyplývá slabá pozitivní korelace mezi sklerostinem a vápníkem ($r = 0,12$) a naznačená slabě pozitivní korelace mezi sklerostinem a fosforem ($r = 0,09$). U pacientů s hodnotami sklerostinu v prvním tertili (tj. s nejnižšími koncentracemi) byla průměrná sérová koncentrace iPTH 32 ± 35 pmol/l a ALP $1,45 \pm 0,98$ ukat/l, u pacientů s hodnotami sklerostinu ve 3. tertili byly sérové koncentrace iPTH i ALP nižší (PTH = 15 ± 17 pmol/l, ALP = $1,21 \pm 0,53$ μ kat/l), opět jde o nálež inverzní korelace mezi PTH a sklerostinem, který je tedy potvrzen i při selhání ledvin. Sérové koncentrace sklerostinu byly měřeny metodou TECO.

I v další studii, zkoumající markery kostního metabolismu u dialyzovaných pacientů [29] byla potvrzena negativní korelace mezi sklerostinem a iPTH i BAP a nebyla nalezena asociace mezi sklerostinem a hladinou

vápníku, fosforu a kalcidiolu. Pacienti byli i zde rozděleni do tercílů podle naměřených sérových koncentrací sklerostinu. V 1. tercílu (sklerostin < 44,49 pmol/l) byla sérová koncentrace iPTH $33,0 \pm 24,19$ pmol/l, ALP $1,82 \pm 0,92$ μ kat/l, Ca $2,3$ mmol/l, P $1,6$ mmol/l a koncentrace kalcidiolu 28 ng/ml. Ve 3. tercílu byla sérová koncentrace iPTH $20,80 \pm 13,16$ pmol/l ($p = 0,001$), tedy významně nižší. Nižší byla i hodnota ALP ($1,45 \pm 0,66$ μ kat/l; $p = 0,001$), v ostatních parametrech rozdíly nebyly patrné (Ca $2,3$ mmol/l, P $1,6$ mmol/l, kalcidiol 28 ng/ml).

Lze tedy uzavřít, že inverzní vztah mezi parathormonem a sklerostinem je zachován i při selhání ledvin (a je tedy nadřazen vlivu renální funkce na sérové koncentrace sklerostinu), a dále jsou v některých studiích (avšak nikoliv ve všech) popsány asociace mezi sklerostinem a ukazateli kostního metabolismu, tyto asociace jsou však při selhání ledvin poměrně slabé.

SKLEROSTIN A KOSTNÍ DENZITOMETRIE

Na základě výše zmíněných údajů o působení sklerostinu na kostní novotvorbu by se dalo předpokládat, že čím nižší bude hladina sklerostinu, tím vyšší bude kostní denzita a tedy nižší sklon k frakturám (za předpokladu, že kostní denzita reflektuje riziko fraktur, což je podkladem pro definici osteoporózy).

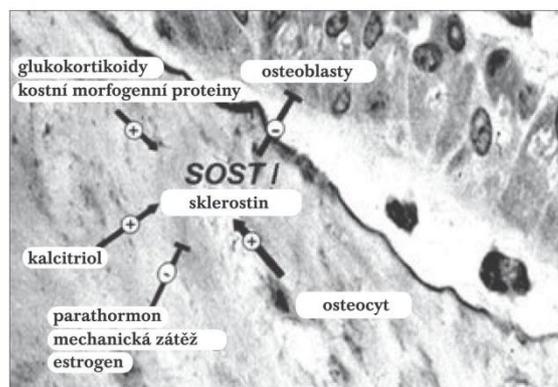
Avšak dvě podobně designované studie tuto hypotézu nepotvrzují. Kohortová studie Arasa et al. [30] prospektivně sledovala u skupiny postmenopauzálních žen vztah sérové koncentrace sklerostinu k riziku fraktury krčku femuru a také ke kostní denzitě (BMD) stejné oblasti. Ženy s nejvyšší hladinou sklerostinu a nejnižší hodnotou BMD sice měly nejvyšší riziko fraktury, avšak zároveň hladina sklerostinu oproti očekávání korelovala s BMD pozitivně (vyšší sérové koncentrace sklerostinu byly spojeny s vyšší, nikoliv nižší kostní denzitou). K podobnému závěru dospěla i studie Ardawiho et al. [31].

Paradoxně tedy zjišťujeme, že sklerostin sice snižuje kostní novotvorbu (útlumem aktivace osteoblastů), avšak nepredikuje nízkou kostní denzitu. Vysvětlení dosud chybí. Zvažuje se, že korelace může být dána celkově větším počtem osteocytů v kosti s vyšší hodnotou BMD (vyšší počet osteocytů znamená více buněk, které produkují sklerostin). Riziko fraktury je pak zřejmě podmíněno nikoliv nižší kostní denzitou (která je ukazatelem kvantity kostního minerálu), ale abnormální mikroarchitekturou kosti neboli poruchou kostní kvality. Tento předpoklad však zpochybňuje studie Garnera et al. [24], podle níž není mezi hladinou sklerostinu a rizikem fraktury pozitivní asociace. Jedním z možných vysvětlení je použití různých esejí ke stanovení sklerostinu. Celkově zůstává mnoho otázek k řešení.

Studie zabývající se asociací mezi sérovou koncentrací sklerostinu, kostními denzitometrickými nálezy a laboratorními ukazateli kostního metabolismu a kostního obratu při selhání ledvin, resp. u hemodialyzovaných (HD) pacientů, jsou dosud jen ojedinělé. Ve studii Ishimury et al. byl zkoumán vztah mezi sérovou koncentrací

sklerostinu, kostních markerů a parametrů BMD u HD pacientů [25]. Byla zjištěna negativní korelace mezi sklerostinem a kostním izoenzymem alkalické fosfatázy (BAP; indikátor kostní formace) i tartarát-rezistentní kyselou fosfatázou (TRAP; marker kostní resorpce), což je v souladu s očekávaným vlivem sklerostinu na kostní obrat (inhibice kostní formace). Neočekávaně však bylo zjištěno pozitivní spojení mezi hladinou sklerostinu a kostní denzitou v oblasti ultradistálního radia. K podobnému zjištění dospěl i Cejka et al. při měření BMD v oblasti bederní páteře, femuru a radia u dialyzovaných pacientů [32]. Tyto nálezy tedy ukazují, že sklerostin není asociován s nízkou kostní denzitou, ba dokonce že může být asociován s vyššími hodnotami kostní denzity, a to jak u osob s normální funkcí ledvin, tak při jejich onemocnění a selhání.

Dynamické vztahu mezi sklerostinem a kostní denzitou u hemodialyzovaných pacientů v čase se věnoval ve své studii Malluche et al. [13]. Sledoval prospektivně po dobu jednoho roku 81 klinicky stabilních HD pacientů, u kterých současně měřil BMD v oblasti kyčle a páteře a stanovil opakovaně (vstupně a po jednom roce) sérové koncentrace vybraných laboratorních parametrů kostního obratu, včetně PTH a sklerostinu. Vstupní průměrná koncentrace sklerostinu v séru byla $56,48 \pm 30,66$ pmol/l, po roce sledování se zvýšila na $60,62 \pm 28,19$ pmol/l, rozdíl byl statisticky signifikantní. To znamená, že samotné dialyzační léčení koncentrace sklerostinu nesnižovalo, spíše naopak, s pokračujícím dialyzačním léčením koncentrace sklerostinu stouply. Vstupní hodnota BMD v oblasti kyčle byla $0,959 \pm 0,198$ g/cm², v oblasti páteře $1,22 \pm 0,206$ g/cm². Při kontrolním vyšetření kostní denzity po jednom roce byly zaznamenány změny, a to jak ve směru poklesu, tak zvýšení. V oblasti kyčle došlo k poklesu BMD o více než 2 % u 38,5 % pacientů, naopak k nárůstu BMD o více než 2 % u 23,1 % pacientů. V oblasti páteře poklesla BMD u 38,3 %, a naopak vzrostla u 30,8 % pacientů. Změny kostní denzity byly tedy v obou vyšetřovaných oblastech časté, avšak byly značně heterogenní (nárůst i pokles).



Obr. 1: Sklerostin, jeho produkce v kostních buňkách (osteocytech), základní regulační mechanismy produkce sklerostinu a základní fyziologická role sklerostinu

Podle: Wikipedia; Druke T, Clin J Am Soc Nephrol 2011 [42]

Důležitým zjištěním studie bylo, že pokles BMD byl více vyjádřen u pacientů s vyšší vstupní koncentrací sklerostinu v séru. Sklerostin byl tedy v této práci indikátorem budoucího poklesu BMD.

Souvislostmi mezi sklerostinem a kostní chorobou pacientů léčených peritoneální dialýzou (PD) se dosud zabývalo velmi málo prací. Oliveira et al. zkoumal roli sklerostinu ve vztahu ke kostní histomorfometrii (tj. bioptickým kostním nálezům) u pacientů léčených peritoneální dialýzou [33]. Nejčastějším typem kostní renální nemoci u tohoto souboru byla adynamická kostní choroba (ABD), tj. metabolická osteopatie s patologicky sníženým kostním obratem. Tito pacienti měli nejnižší koncentrace parathormonu v séru (což koresponduje s definicí adynamické kostní nemoci), avšak současně vyšší koncentrace sklerostinu a vyšší expresi sklerostinu v kostní tkáni. Tento nálezný jev však potvrdil, že inverzní korelace mezi parathormonem a sklerostinem zůstává zachována i u peritoneální dialýzy, a dále dokumentoval, že koncentrace sklerostinu v krvi reflektuje kostní expresi sklerostinu. Zdá se tedy, že vysoká hladina sklerostinu může být ukazatelem adynamické kostní choroby spojené s hypoparathyreózou a dokonce se zvažuje, že sklerostin může být novým patogenetickým faktorem podmiňujícím rozvoj adynamické kostní nemoci [33].

SKLEROSTIN A CÉVNÍ STĚNA

Z dosavadních studií vyplývá, že aktivace Wnt dráhy může stát nejen za nízkou kostní novotvorbou, ale může se podílet i na kalcifikaci stěny středních arterií a aortální chlopně [3]. In vitro bylo dokázáno, že buňky hladké svaloviny cév (vascular smooth muscle cells, VSMC) se při aktivaci Wnt dráhy transformují na buňky podobné osteocytům, které produkují sklerostin [34]. Ten je schopen inhibovat další přeměnu VSMC prostřednictvím inhibice alkalické kostní fosfatázy (BAP).

Při zkoumání patogeneze kostní nemoci a cévních kalcifikací u renálního selhání bylo na CKD zvířecích modelech doloženo, že urémie vede ke zvýšení exprese alkalické kostní fosfatázy (BAP), která inaktivuje anorganický pyrofosfát (Ppi). Ten je hlavním inhibítozem tvorby hydroxyapatitu a zároveň inhibuje kalcifikační proces v cévách [35]. Při zvýšení BAP se prostřednictvím negativní zpětné vazby zvýší produkce sklerostinu, čímž je brzděna další mineralizace jak cévní stěny, tak i kostní tkáně.

Sklerostin tedy pravděpodobně hraje roli v komunikaci mezi kostí i cévou a může být chybějícím článkem mezi kostní nemocí a kardiovaskulárními komplikacemi u CKD pacientů. Toto propojení se nazývá kalcifikační paradox, kdy dochází k „měknutí“ kosti a „tuhnutí“ cévních stěn [3].

Brandenburg et al. [4] prokázal vyšší expresi sklerostinu v kalcifikovaných chlopních HD pacientů, zatímco v nekalcifikovaných chlopních kontrol nebyla exprese sklerostinu detekovatelná. Souvislost mezi hladinou sklerostinu a kalcifikací koronárních tepen prokázána nebyla. Další studie zkoumající vliv sklerostinu na intimo-mediální tloušťku karotid (CIMT) došla opět k závěru,

že vyšší hladina sklerostinu je pozitivně asociována s CIMT [5]. Zcela recentní originální studie Quereshi et al. [36] dokumentovala u pacientů se selháním ledvin asociaci mezi sérovou koncentrací sklerostinu, koronárním kalcifikačním skóre a kalcifikací stěny epigastrické arterie (jednalo se o pacienty přicházející k transplantaci, kdy vzorek tepny byl odebrán perioperačně). V kalcifikovaných arteriích však nebyla prokázána exprese sklerostinu (negativní mRNA pro sklerostin). To sice znamená, že cévní stěna není zdrojem pro systémovou hladinu sklerostinu, na druhou stranu spojitost mezi cirkulující hladinou sklerostinu a intenzitou kalcifikací cév je nepochybná. V této práci byly dále studovány vztahy mezi sérovou koncentrací sklerostinu a mnoha dalšími laboratorními ukazateli. K těm, které se systémovou hladinou sklerostinu nijak nesouvisely, patří kalcidiol i kalcitriol, CRP, IL-6, fosfor, magnezium, troponin-T, triacylglyceroly, cholesterol a řada dalších, včetně klotho. Na rozdíl od dřívějších prací nebyl v této studii doložen vztah mezi sklerostinem a kostní denzitometrií; inverzní vztah k sérové koncentraci PTH však byl potvrzen i zde.

Dosavadní poznatky jsou však nekompletní a v kontextu vztahu sklerostinu k ose céva-kost jsou nepochybně nutné další studie.

MAJÍ SÉROVÉ KONCENTRACE SKLEROSTINU U HEMODIALYZOVANÝCH PACIENTŮ PROGNOSTICKÝ VÝZNAM?

V současné době existuje několik studií zabývajících se prognostickým významem sklerostinu u HD pacientů. V dostupné literatuře jsme našli tři práce, které zjistily příznivý prognostický vliv sérových koncentrací sklerostinu, a naopak dvě jiné práce, které toto nepotvrdily, resp. jejich nálezy jsou opačné.

Post-hoc analýza, sledující prospektivně po 2 roky 100 prevalentních HD pacientů, vedla k závěru, že vyšší hladiny sérového sklerostinu jsou spojeny s lepší prognózou těchto pacientů [37]. Vysvětlením této skutečnosti je podle autorů to, že zvýšená exprese sklerostinu v cévní stěně brání dalšímu deponování sloučenin kalcia do cévní stěny, a tím chrání cévní stěnu nejen před morfologickým, ale i funkčním poškozením. Je totiž dobře známo, že dialyzovaní pacienti jsou ve velkém kalcifikačním riziku a že kalcifikované cévní stěny ztrácejí pružnost, nastává jejich ztuhnutí (stiffening), které nejen snižuje orgánovou perfuzi, ale podmiňuje i práci srdce proti odporu a přispívá k srdečnímu selhání a k vyšší mortalitě [38].

Rozsáhlá studie založená na prospektivním sběru dat databáze NECOSAD sledovala pacienty nově vstupující do dialyzačního programu (incidentní pacienti) [28]. Primárním cílem bylo zhodnocení možné souvislosti sérové koncentrace sklerostinu s krátkodobou a dlouhodobou kardiovaskulární (KV) mortalitou i mortalitou z jiných příčin (nekardiovaskulárních). Doba vyhodnocení byla po 18 měsících a 4 letech od zahájení dialýzy a pacienti byli podle hladiny sklerostinu rozděleni do tří tertilů (hranice mezi nejnižším a středním tertilem byla 41,85 a mezi středním a nejvyšším tertilem byla 60,35 pmol/l).

Za referenční skupinu byli zvoleni pacienti v 1. tertilu (hazard ratio, HR = 1). Relativní riziko kardiovaskulární mortality po 18 měsících bylo u pacientů ve 3. tertilu 0,30 (neboli více než třikrát nižší) a po 4 letech 0,60 (tj. stále významně nižší, než u pacientů s nízkou sérovou koncentrací sklerostinu). I mortalita z jiných (nekardiovaskulárních) příčin byla u pacientů s nejvyšší koncentrací sklerostinu v séru (3. tertíl) nižší než v referenční skupině (HR po 18 měsících 0,65 a po 4 letech 0,64, neboli o 35 %, resp. 36 % nižší). Studie tedy ukázala výrazně nižší mortalitu, zejména v krátkodobém sledování a z kardiovaskulárních příčin, při vyšších vstupních sérových koncentracích sklerostinu. U dlouhodobé kardiovaskulární mortality byl tento vztah vyjádřen méně.

I další studie [27] potvrdila lepší KV prognózu při dvouletém sledování u HD pacientů s vyšší sérovou koncentrací sklerostinu. Ve skupině s vyšší koncentrací sklerostinu (nad 67,8 pmol/l, median) proběhlo ve sledovaném období méně KV příhod ($p = 0,001$). Zároveň tato studie zjistila negativní asociaci mezi hladinou sklerostinu a tíží kalcifikace aorty (což však je v kontrastu s jinými studiemi [36]). Pacienti bez viditelných kalcifikací (hodnoceno z laterálního nativního rtg snímku aorty) měli průměrnou koncentraci sklerostinu $81,7 \pm 52,2$ pmol/l, naopak pacienti s těžce kalcifikovanou aortou měli průměrnou koncentraci $59,9 \pm 34,9$ pmol/l, tj. signifikantně nižší. Dalším důležitým zjištěním této studie byla zachovaná inverzní korelace mezi sérovou koncentrací sklerostinu a koncentrací parathormonu v séru. Při vysvětlení rozporných nálezů mezi sérovou koncentrací sklerostinu a kalcifikační zátěží je třeba zohlednit metodu, kterou byly kalcifikace detekovány (podstatně přesnější detekce ve studii Qureshi et al. [36]).

V kontrastu se třemi studiemi, které ukazují na možný příznivý prognostický význam sklerostinu u dialyzovaných pacientů, stojí studie Goncalvesa et al. [39], v níž naopak vychází vyšší koncentrace sklerostinu jako nezávislý rizikový ukazatel vyšší mortality. Ve studii bylo po dobu deseti let prospektivně sledováno 91 hemodialyzovaných pacientů. Pomocí regresních modelů byla prokázána pozitivní asociace mezi vyšší mortalitou a vyšší hladinou sklerostinu (HR = 2,2). Ani studie Nowaka et al. [29] sledující dialyzované pacienty prospektivně po 4 roky nepotvrdila prognostický význam sklerostinu v predikci KV mortality.

PROTILÁTKA PROTI SKLEROSTINU V LÉČBĚ OSTEOPORÓZY; JEJÍ MOŽNÉ TERAPEUTICKÉ VYUŽITÍ U PACIENTŮ SE SELHÁNÍM LEDVIN

Vzhledem k výše uvedeným poznatkům o roli sklerostinu v inhibici kostní formace je logická snaha vyvinout protilátku proti sklerostinu, která by se primárně užívala v léčbě osteoporózy. První klinickou studií s protilátkou proti sklerostinu (Scl-Ab) s přípravkem AMG 785 (romosozumab) provedl Desmond et al. [40]. Primárním cílem studie byla bezpečnost a tolerance Scl-Ab. Jako sekundární cíl byly stanoveny jednak farmakokinetika protilátky a jednak dynamika markerů kostního obratu a změny BMD. Do dvojité zaslepené a placebem

kontrolované studie bylo zařazeno 72 zdravých mužů a postmenopauzálních žen, kterým byla jednorázově podána Scl-Ab buď subkutánně (s. c.), nebo intravenózně (i. v.), a to v několika různých gramážích. Dle závěrů autorů bylo její podání bezpečné a pacienti protilátku obecně dobře tolerovali. Farmakokinetika byla nelineárně závislá na dávce, shodně jako většina léčiv. Markery kostní novotvorby (N-terminální propeptid prokolagenu I, P1NP, kostní isoforma alkalické fosfatázy, BAP a osteokalcin) se zvyšovaly lineárně s dávkou, a to nejvíce při podání dávky 10 mg/kg s. c., kdy došlo k navýšení o 184 %, 126 % a o 176 %, resp. při dávce 5 mg/kg i. v. o 167 %, 125 % a 143 %. Ukazatel kostní resorpce C-terminální telopeptid kolagenu I (sCTX) se s dávkou 10 mg/kg s. c. naopak snížil, a to o – 54 %, resp. s dávkou 5 mg/kg i. v. o – 49 %. Dále byl zjištěn významný vzestup BMD v bederní páteři a v oblasti kyčle, a to lineárně s podanou dávkou. Nejvýraznější nárůst BMD nastal 85. den po subkutánním podání 10 mg/kg Scl-Ab, a to o 5,3 % v oblasti bederní páteře a o 1,1 % v oblasti kyčelního kloubu. Při použití Scl-Ab tedy dochází k oddělení kostní novotvorby od kostní resorpce (zvyšuje se selektivně novotvorba), což se jeví jako unikátní vlastnost této látky.

Význam Scl-Ab v nefrologii, resp. v léčbě CKD-MBD (a zejména její kostní komponentě) je zatím nejasný. Studie na zvířecích modelech s CKD s nízkým kostním obratem prokazují zvýšenou tvorbu trabekulární kosti a zlepšení mineralizace po podání Scl-Ab (Moe et al. [41]). Klinické studie zatím nebyly provedeny.

SHRNUTÍ A ZÁVĚR

Sklerostin patří mezi důležité inhibitory Wnt signální dráhy. Je exprimován téměř výhradně v osteocytech a lokálně působí útlum kostní novotvorby.

Hladina sklerostinu pozitivně koreluje s věkem, fyzickou inaktivitou a BMI, potažmo procentem tukové tkáně. Vyšší hladiny sklerostinu u mužů v porovnání se ženami se po přepočtu na BMC, věk, BMI, fyzickou aktivitu a renální funkci téměř vyrovnají. U pacientů s renálním onemocněním se hladina sklerostinu zvyšuje s poklesem glomerulární filtrace a s věkem. U HD pacientů dochází v čase k dalšímu nárůstu sklerostinu. Hladina PTH je negativně asociována s hladinou sklerostinu, neboť PTH potlačuje expresi sklerostinu. Tento vztah byl prokázán na pacientech s onemocněním příštítných tělísek. Vysoké hladiny sklerostinu jsou možná v příčinné souvislosti s rozvojem adynamické kostní choroby u pacientů s CKD.

Při sledování vlivu sklerostinu na kostní tkáň bylo zjištěno, že sklerostin je v pozitivní korelaci s BMD a abnormální mikroarchitekturou kostí, a to jak u nedialyzovaných, tak dialyzovaných pacientů. Zároveň je vyšší hladina sklerostinu spojena s vyšším rizikem fraktury.

Wnt dráha se u pacientů s CKD účastní procesu kalcifikace cév, neboť podporuje transformaci VSMC na osteocytům podobné buňky. Tento efekt je nejspíše blokovan sklerostinem, jehož vysoké hladiny u CKD pacientů mohou značit lepší životní prognózu.

V osteologii jsou velké naděje vkládány do využití Scl-Ab v léčbě osteoporózy. V nefrologii je využití této protilátky zatím nejasné.

V oblasti výzkumu sklerostinu jsou stále nejasnosti. Dosud nebyla standardizována metoda jeho měření, není jasný vliv biologické variability na jeho hladinu a nebyl dostatečně prozkoumán způsob jeho vylučování z organismu. Fyziologické meze sklerostinu se tedy v různých studiích liší a v důsledku toho jsou jejich výsledky špatně srovnatelné. Ačkoliv se zatím zdá, že sklerostin hraje roli i v procesu kalcifikace cév u CKD pacientů, k rutinnímu užití vyšetřování sérových koncentrací sklerostinu v klinické praxi je ještě dlouhá cesta. Naproti tomu využití Scl-Ab v osteologii může být otázkou blízké budoucnosti, pro nefrologii by se hypoteticky mohlo jevit slibné v některých případech adynamické osteopatie spojené s nízkou koncentrací parathormonu.

Podpořeno grantovými projekty: MZ CR CZ – RVO UHHK 00179906; PRVOUK – P37/11; MZ CR – RVO VFN 64165 a PRVOUK – P25/LF1/2.

LITERATURA

- Moester MJC, Papapoulos SE, Lowik CWG et al. Sclerostin: current knowledge and future perspectives. *Calcif Tissue Int* 2010;87:99–107.
- van Bezooijen RL, ten Dijke P, Papapoulos SE et al. SOST/sclerostin, an osteocyte-derived negative regulator of bone formation. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005;16:319–327.
- Pelletier S, Confavreux CB, Haesebaert J, Guebre-Egziabher F, Bacchetta J, Carlier C, Chardon L, Laville M, Chapurlat R, London GM, Lafage-Proust MH, Fouque D. Serum sclerostin: the missing link in the bone-vessel cross-talk in haemodialysis patients? *Osteoporosis Int* 2015;26:2165–2174.
- Brandenburg VM, Kramann R, Koos R, Krüger T, Schurgers L, Mühlenbruch G, Hübner S, Gladziwa U, Drechsler Ch, Ketteler M. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrol* 2013;14:219.
- Kirkpantur A, Balci M, Turkvatan A, Afsar B. Independent association between serum sclerostin levels and carotid artery atherosclerosis in prevalent haemodialysis patients. *Clin Kidney J* 2015;8(6):737–743.
- McNulty M, Singh RJ, Li X, Bergstralh EJ, Kumar R. Determination of serum and plasma sclerostin concentrations by enzyme-linked immunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:E1159–1162.
- Amrein K, Drexler C, Dimai HP, Dobnig H, Pfeifer K, Tomaschitz A, Pieber Tr, Fahrleitner-Pammer A. Sclerostin and its association with physical activity, age, gender, body composition, and bone mineral content in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(1):148–154.
- Battaglino RA, Sudhakar S, Lazzari AA, Garshick E, Zafonte R, Morse LR. Circulating sclerostin is elevated in short-term and reduced in long-term SCI. *Bone* 2012;52:600–605.
- Urano T, Shiraki M, Ouchi Y, Inoue S. Association of circulating sclerostin levels with fat mass and metabolic disease-related markers in Japanese postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(8):E1473–1477.
- Modder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach S, Riggs BL et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res* 2011;26:373–379.
- Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH. Determinant of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2011;97:148–154.
- Modder UI, Clowes JA, Hoey K, Peterson JM, McCready, Oursler MJ et al. Regulation of circulating sclerostin levels by sex steroids in women and in men. *J Bone Miner Res* 2011;26:27–34.
- Malluche HH, Davenport DL, Cantor T, Monier-Faugere MC. Bone mineral density and serum biochemical predictors of bone loss in patients with CKD on dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014; 9:1254–1262.
- Pelletier S, Dubourg L, Carlier MC, Hadj-Aissa A, Fouque D. The relation between renal function and serum sclerostin in adult patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2013;8:819–823.
- Bonani M, Rodriguez D, Fehr T, Mohebbi N, Brockmann J, Blum M, Graf N, Fry D, Wüthrich RP. Sclerostin blood levels before and after kidney transplantation. *Kidney Blood Press Res* 2014;39:230–239.
- Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH. Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434–1441.
- Yu EW, Kumbhani R, Siwila-Sackman E, Leder BZ. Acute Decline in Serum Sclerostin in Response to PTH Infusion in Healthy Men. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(11):E1848–E1851.
- Belido T, Ali AA, Gubrij I, Plotkin LI, Fu Q, O'Brien CA, Manolagas SC, Jilka RL. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis. *Endocrinology* 2005;146:4577–4583.
- Silvestrini G, Ballanti P, Leopizzi M, Sebastiani M, Berni S, Di Vito M, Bonucci E. Effects of intermittent parathyroid hormone (PTH) administration on SOST mRNA and protein in rat bone. *J Mol Histol* 2007;38:261–269.
- Drake MT, Srinivasan B, Modder UI, Peterson JM, McCready LK, Riggs BL et al. Effects of parathyroid hormone treatment on circulating sclerostin levels in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:5056–5062.
- van Lierop AH, Witteveen JE, Hamdy NA, Papapoulos SE. Patients with primary hyperparathyroidism have lower circulating sclerostin levels than euparathyroid controls. *Eur J Endocrinol* 2010;163:833–837.
- Ardawi MS, AJ-Sibiany AM, Bakhsh TM, Rouzi AA, Qari MH. Decreased serum sclerostin levels in patients with primary hyperparathyroidism: a cross-sectional and a longitudinal study. *Osteoporosis Int* 2012;23:1789–1797.
- Costa AG, Cremers S, Rubin MR, McMahon DJ, Sliney Jr. J, Lazaretti-Castro M et al. Circulating sclerostin in disorders of parathyroid gland function. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:3804–3810.
- Garnero P, Somay-Rendu E, Munoz F, Borel O, Chapurlat RD. Association of serum sclerostin with bone mineral density, bone turnover, steroid and parathyroid hormones, and fracture risk in postmenopausal women: the OFFELY study. *Osteoporosis Int* 2013;24:489–494.
- Ishimura E, Okuno S, Ichii M, Norimine K, Yamakawa T, Shoji S, Nishizawa Y, Inaba M. Relationship between serum sclerostin, bone metabolism markers, and bone mineral density in maintenance hemodialysis patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:4315–4320.
- Cejka D, Herberth J, Branscum AJ, Fardo DW, Monier-Faugere MC, Diarra D, Haas M, Malluche HH. Sclerostin and Dickkopf-1 in renal osteodystrophy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:877–882.

27. Yang CY, Chang ZF, Chau YP, Chen A, Yang WC, Yang AH, Lee OK. Circulating Wnt/b-catenin signalling inhibitors and uraemic vascular calcifications. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:1356–1363.
28. Drechsler Ch, Evenepoel P, Vervloet M, Wanner Ch, Kettler M, Marx N, Floege J, Dekker FW, Brandenburg VM. High levels of circulating sclerostin are associated with better cardiovascular survival in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:288–293.
29. Nowak A, Artunc F, Serra AL, Pollock E, Krayenbühl PA, Müller Ch, Friedrich B. Sclerostin Quo Vadis? – is this a useful long-term mortality parameter in prevalent hemodialysis patients? *Kidney Blood Press Res* 2015;40:266–276.
30. Arasu A, Cawthon PM, Lui LY, Do TP, Arora PS, Cauley JA et al. Serum sclerostin and risk of hip fracture in older Caucasian women. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:2027–2032.
31. Ardawi MS, Rouzi AA, Al-Sibiani SA, Al-Senani NS, Qari MH, Mousa SA. High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: the Center of Excellence for Osteoporosis Research Study. *J Bone Miner Res* 2012;27:2592–2602.
32. Cejka D, Jäger-Lansky A, Kiewig H et al. Sclerostin serum levels correlate positively with bone mineral density and microarchitecture in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:226–230.
33. de Oliveira RA, Barreto FC, Mendes M, dos Reis LM, Castro JH, Britto ZML, Marques IDB, Carvalho AB, Moysés RM, Jorgetti V. Peritoneal dialysis per se is a risk factor for sclerostin-associated adynamic bone disease. *Kidney Int* 2015; 87:1039–1045.
34. Yhu D, Mackenyie NC, Millan JL, Farquharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS One* 2011;6:e19595.
35. Moss DW, Eaton RH, Smith JK, Whitby LG. Association of inorganic pyrophosphatase activity with human alkaline phosphatase preparations. *Biochem J* 1967;102:53–57.
36. Qureshi AR, Olauson H, Witasp A, Haarhaus M, Brandenburg V, Wernerson A, Lindholm B, Soderberg M, Wennberg L, Nordfors L, Ripsweden J, Barany P, Stenvinkel P. Increased circulating sclerostin levels in end-stage renal disease predict biopsy-verified vascular medial calcification and coronary artery calcification. *Kidney Int* 2015;88:1356–1364.
37. Viaene L, Behets GJ, Claes, Meijers B, Blocki F, Brandenburg V, Evenepoel P, D'Haese PC. Sclerostin: another bone-related protein related to all-cause mortality in haemodialysis? *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:3024–3030.
38. Moe S, Drueke T, Cunningham J et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcome (KDIGO). *Kidney Int* 2006;69:1945–1953.
39. Goncalves FLC, Elias RM, dos Reis LM, Gracioli FG, Zampieri FG, Oliveira RB, Jorgetti V, Moysés RMA. Serum sclerostin is an independent predictor of mortality in hemodialysis patients. *BMC Nephrol* 2014;15:190.
40. Desmond P, Jang G, Stouch B, Fang L, Posvar E. Single-dose, placebo-controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J Bone Miner Res* 2011;26:19–26.
41. Moe SM, Chen NX, Nexman CL, Organ JM, Kneissel M, Kramer I, Gattone VH, Allen MR. Anti-sclerostin antipody treatment in a rat model of progressive renal osteodystrophy. *J Bone Miner Res* 2015;30:499–509.
42. Drueke TB, Lafage-Proust MH: Sclerostin: just one more player in renal bone disease? *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:700–703.

Článek vyšel v časopise *Osteologický Bulletin* 2016; 21/1/: 10-17

MUDr. Eva Vykoukalová
Centrum interních oborů
Krajská nemocnice Liberec, a. s.
Luční 1077/1
460 01 Liberec 1
e-mail: e.vykoukalova@gmail.com

Příloha č. 11

Malá, A., Šafránek, R., Sedlák, V., Kudela, O., Moučka, P., Dusilová Sulková, S. Methods of assessment of volume status in hemodialysis patients [Metody k posouzení hydratace hemodialyzovaného pacienta] *Aktuality v nefrologii* 2016; 22 (2): 57-62.

METODY K POSOUZENÍ HYDRATACE HEMODIALYZOVANÉHO PACIENTA

METHODS OF ASSESSMENT OF VOLUME STATUS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

ALENA MALÁ¹, ROMAN ŠAFRÁNEK^{1,2}, VRATISLAV SEDLÁK³, ONDŘEJ KUDELA³,
PETR MOUČKA¹, SYLVIE DUSILOVÁ SULKOVÁ^{1,2}

¹Hemodialyzační středisko, Fakultní nemocnice Hradec Králové

²Katedra interních oborů, Lékařská fakulta UK, Hradec Králové

³Plicní klinika Fakultní nemocnice Hradec Králové

ABSTRAKT

Pro prognózu chronicky hemodialyzovaných pacientů je dnes určující výskyt a závažnost kardiovaskulárních onemocnění. Ke snížení morbidity a letality na tyto komplikace může přispět udržování optimální hydratace. Ta je v každodenní praxi klinicky hodnocena na základě fyzikálního vyšetření, monitorování změn krevního tlaku a pulzu a zohlednění subjektivních obtíží pacienta. Ke správnému posouzení hydratace je však zapotřebí kombinovat toto běžné vyšetření s dalšími objektivními metodami. V současné době máme k dispozici měření centrálního žilního tlaku, prostý předozadní rtg snímek plic, ultrazvukové vyšetření dolní duté žíly, resp. její kolapsibility, bioimpedanční spektroskopii, laboratorní vyšetření natriuretických peptidů a hodnocení změn při ultrafiltraci včetně monitorace relativních změn krevního objemu při hemodialýze. K novým metodám patří i ultrazvukové vyšetření plicní tkáně. Jednoznačná doporučení ohledně volby metody k posuzování hydratace vzhledem ke komplexnosti problematiky dosud neexistují a postupy mezi jednotlivými pracovišti se liší.

Klíčová slova: hydratace, hemodialýza, bioimpedance, ultrazvuk, natriuretické peptidy

ABSTRACT

The prognosis of haemodialysed patients is determined by the presence of cardiovascular diseases. A key factor that can contribute to the decreasing of morbidity and death rates associated with them is optimal hydration. In everyday practice, it is assessed by physical examination, monitoring blood pressure and heart rate changes and also by taking into account patients' subjective symptoms. To assess optimal hydration more accurately, more objective methods are needed, such as central venous pressure monitoring, plain chest radiograph, ultrasound measurement of inferior vena cava diameter, bioimpedance spectroscopy, laboratory assessment of brain natriuretic peptide and assessing the changes in ultrafiltration including measurements of the relative blood volume changes during haemodialysis. A new method that may be used in haemodialysis patients is the lung ultrasound with B-line detection. There are no clear recommendations when selecting the accurate method of fluid assessment because of the complexity of this topic and the procedures vary between individual workplaces.

Key words: haemodialysis, overhydration, intravascular blood volume changes, colapsibility of vena cava inferior, biospectroscopic impedometry, lung tissue ultrasound

ÚVOD

Objem celkové vody v organismu odpovídá přibližně 60 % tělesné hmotnosti. Je tvořen tekutinou intracelulární a extracelulární. Množství extracelulární tekutiny (20 % tělesné hmotnosti) je dáno součtem intersticiální

(15 % tělesné hmotnosti) a intravaskulární tekutiny (5 % tělesné hmotnosti). U pacientů s onemocněním ledvin je rovnováha systému porušena, a to jak o se týká množství celkové tělesné vody, tak rozložení do jednotlivých kompartmentů. Až u 25 % hemodialyzovaných nemocných je před dialyzační procedurou, tj.

v období nejvyšší retence tekutin, zjišťováno převodnění o více než 2,5 litru (Machek et al., 2010). Dlouhodobá hyperhydratace způsobuje objemové a následně tlakové přetížení oběhového systému. Nejprve vede k arteriální hypertenzi a hypertrofií levé komory. Po selhání tohoto kompenzačního mechanismu se srdce postupně dilatuje a dochází k srdečnímu selhání. Naopak hypohydratace je spojena s hypotenzí, tkáňovou ischemií a vyšším výskytem tachyarytmií. Snížené prokrvení orgánů při hemodialyzační léčbě vede k jejich opakovanému poškození. Hypoperfuze ledvin může mimo jiné urychlit ztrátu reziduální diurézy.

Pro prognózu hemodialyzovaných pacientů je určující výskyt kardiovaskulárních onemocnění. Ke snížení morbidity a letality na tyto komplikace může přispět udržování optimální hydratace. K hodnocení optimální hydratace je možno využít některou z řady metod (viz tab. 1). Neexistují jednoznačná doporučení ohledně algoritmu posuzování hydratace, proto se tento postup mezi jednotlivými pracovišti liší. Běžné fyzikální vyšetření s hodnocením krevního tlaku a jeho změn při hemodialýze často není dostatečné a je zapotřebí ho kombinovat s dalšími objektivními metodami. Jejich výhody a nevýhody budou popsány v tomto článku.

KREVNÍ TLAK, PULZ, SUBJEKTIVNÍ POTÍŽE

Fyzikální vyšetření, monitorování krevního tlaku, pulzu a jejich změn při hemodialýze je a vždy zůstane základní pomůckou při hodnocení hydratace, stejně jako subjektivní obtíže pacienta (křeče a slabosti během ultrafiltrace, námahová dušnost, tolerance horizontály apod.). Při hodnocení krevního tlaku je nutno zohlednit užívanou antihypertenzní medikaci.

REFERENČNÍ METODY (DILUCE IZOTOPŮ)

Ideální metoda k posouzení hydratace by měla být neinvazivní, levná, dostupná, rychlá, jednoduše a opakovaně proveditelná a současně lehce reprodukovatelná. Každá metoda má svá teoretická a praktická omezení a je do jisté míry nepřesná. Referenční metody stanovují objem tělesné vody výpočtem z koncentrace izotopu látky rozptýlené v určitém kompartmentu. Celkové množství vody v organismu se získá stanovením koncentrace izotopu deuteria. Ke změření objemu vody v intracelulárním kompartmentu se využívá diluce draslíku, k výpočtu množství extracelulární tekutiny diluce bromidu (Woodrow et al., 2004).

CENTRÁLNÍ ŽILNÍ TLAK

Centrální žilní tlak (CVT) je definován jako tlak působící na stěnu horní duté žíly po vstupu do pravé síně. Jedná se o objektivní statický parametr označovaný jako tzv. preload. Normální rozmezí hodnot centrálního žilního tlaku je 2–11 cm H₂O. Nízkou hodnotu CVT nacházíme

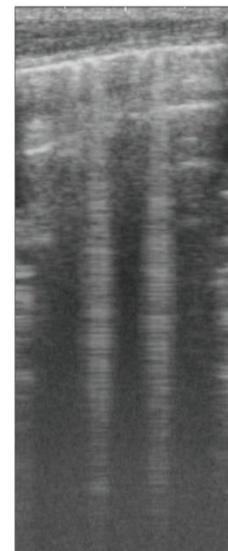
nejen u normovolemických, ale i u hypovolemických pacientů. Citlivost tohoto parametru pro detekci hypohydratace je tedy nízká. Naopak ke zvýšení CVT dochází nejen u hypervolémie, ale i u celé řady dalších patologických stavů (podrobně viz tab. 2).

Řada studií z oblasti intenzivní péče se věnuje významu měření CVT ve vedení tekutinové terapie u kriticky nemocných. Podle metaanalýzy (Marik et al., 2008) neexistují data podporující rozšířenou praxi vedení tekutinové terapie podle CVT. Na druhé straně však cílové rozmezí CVT zůstává v doporučeních pro léčbu těžké sepsy (Dellinger et al., 2013). U pacientů se srdečním selháním byl vysoký CVT v kombinaci s nízkým systolickým krevním tlakem predispozicí nízké glomerulární filtrace. Nízký CVT byl spojen s krátkodobým zhoršením renální funkce (Uthoff et al., 2011). Při posuzování hydratace pomocí CVT je nutno brát v úvahu trend hodnot v čase.

ULTRAZVUKOVÉ VYŠETŘENÍ DOLNÍ DUTÉ ŽÍLY

K neinvazivnímu odhadu centrálního žilního tlaku a hydratace se využívá ultrazvukové měření průměru dolní duté žíly, hodnocení jeho respiračního kolísání a výpočet indexu kolapsibility. Stanovení se provádí v subkostální projekci v dvourozměrném zobrazení, respirační kolísání lze hodnotit v M-modu. Snížené respirační kolísání o zvýšeném tlaku v pravé síni (viz tab. 3). Index kolapsibility (CI) můžeme vypočítat podle vzorce: $CI (\%) = IVC_{exp} - IVC_{insp} / IVC_{exp} \times 100$, kde IVC_{exp} je největší průměr DDŽ změřený v maximálním expiriu a IVC_{insp} je minimální průměr DDŽ v maximálním inspiriu. Hodnoty indexu kolapsibility v rozpětí 40–75 % odpovídají normohydrataci. Měření může být pro svou technickou jednoduchost prováděno i lékaři, kteří mají jen minimální zkušenosti s ultrazvukovým vyšetřováním (Brennan, 2006).

Během dialýzy s ultrafiltrací dochází ke změně rozměru dolní duté žíly. Tento rozměr v reálném čase koreluje s poklesem krevního objemu (Katzarski et al., 1997). Při interpretaci je vždy nutné mít na paměti, že toto vyšetření reflektuje především stupeň intravaskulární náplně, mnohem méně je ovlivněno celkovým množstvím extracelulární tekutiny (Agarwal et al., 2011). Vzhledem k tomu, že nastolení rovnováhy mezi intersticiální a intravaskulární tekutinou trvá 2 až 3 hodiny po ukončení ultrafiltrace, vedlo by



Obr. 1: Ultrazvukový obraz hyperhydratace plicní tkáně s typickými vertikálními B-linemi („kometry“), které vycházejí z horizontální pleurální linie.
Poznámka: Aktuální stav hydratace této pacientky podle BCM vyšetření: hyperhydratace plus 10 litrů tekutiny.

měření krátce po dialýze k falešnému podhodnocení hydratace. Ultrazvukové vyšetření dolní duté žíly tedy pomůže posoudit, zda je pacient hypovolemický, normohydratovaný či hyperhydratovaný, ale má jen malou senzitivitu k průkazu změn hydratace po dialýze, nelze jej použít ke zhodnocení účinku proběhlé ultrafiltrace (Brennan, 2006). Podle studie (Agarwal et al., 2011) navíc nebyla prokázána závislost změny rozměru dolní duté žíly se změnami krevního tlaku při dialýze. U stejných pacientů stav hydratace lépe odráželo měření změn relativního objemu při dialýze.

Echokardiografické metody (vyšetření dolní duté žíly, rozměr levé síně, Dopplerovo vyšetření jaterních žil) nebyly shledány vhodným nástrojem k určování optimální dialyzační hmotnosti (Agarwal et al., 2011).

NOVÁ METODA DETEKCE HYDRATACE – ULTRA-ZVUK PLICNÍHO PARENCHYMU

Ultrazvuk (UZ) byl donedávna považován za nástroj nevhodný k vyšetřování plic, protože vzdušnou tkáň nelze pomocí ultrazvukového vyšetření zobrazit. V 90. letech minulého století byly profesorem Danielem Lichtensteinem vyzorovány typické statické a dynamické UZ obrazy při určitých plicních onemocněních. Vytvořil nomenklaturu těchto nálezů a vypracoval protokol použitelný k diagnostice onemocnění plic a hrudní stěny pomocí ultrazvuku. Jeho poznatky jsou v současné době požívány mnohými světovými pneumology a intenzivisty. Všechny UZ plicní známky jsou tvořeny artefakty vznikajícími při průchodu UZ vlny akustickými rozhraními hrudníku.

Vyšetřování se provádí v přední, laterální i zadní části hrudníku. Ultrazvukový nález mezi pravou a levou stranou hrudníku je porovnáván podobně jako při auskultaci. Přiložením sondy na mezižeberní prostor v sagitální rovině získáme typický obraz hrudní stěny a pleury ohraničené dvěma akustickými stíny žeber.

Odras pleury se ve zdravé plicní tkáni zrcadlí v pravidelných vzdálenostech za vzniku jemných horizontálních stínů – tzv. A-linií, které jsou obrazem zdravé plíce (Lichtenstein et al., 2009). Při patologických změnách plicního intersticia (nejčastěji při městnání v plicním oběhu) se normální vzhled plíce mění do obrazu převládajících B-linií. Jde o vertikální linie, které vyzařují z oblasti pleury do periferie ultrazvukového obrazu jako laserové paprsky nebo chvost komety (v anglosaské literatuře označované jako „comet sign“). Jedná se o korelát Kerleyových linií na rentgenovém snímku plic (Lichtenstein et al., 1997). Přítomnost ojedinělých B-linií (do 3) je považována za normální nález v dorzobazálních partiích hrudníku. Pokud se však objevují s větší četností a v jiných lokalizacích, jedná se o patologii (Sedlák, 2016). Zvýšený počet B-linií koreluje se stupněm plicního městnání (Agricola et al., 2005). Podle studie u hemodialyzovaných pacientů (Siriopol et al., 2013) byl zvýšený počet „komet“ ve srovnání s bioimpedanční spektroskopií a echokardiografickými parametry tím nejlepším prediktorem mortality.

Tab. 1: Metody k hodnocení hydratace

Statické metody
centrální žilní tlak
prostý snímek plic
ultrazvuk dolní duté žíly – rozměr dolní duté žíly, jeho respirační variace, index kolapsibility
ultrazvuk plicního parenchymu – četnost B-linií
bioimpedanční spektroskopie
natriuretické peptidy – BNP, NT-proBNP
Hodnocení odpovědi na ultrafiltraci
změny krevního tlaku a pulzu
subjektivní obtíže – slabost, křeče
měření změn relativního krevního objemu – BVM, Crit-line, Hemoscan

BNP – brain natriuretic peptide; NT-proBNP – N-terminal fragment of pro-brain natriuretic peptide, BVM – Blood Volume Monitor

Využití jednoduché ultrazvukové diagnostiky plicní kongesce hodnotí i řada studií z oblasti dialyzační medicíny. Ukázalo se, že ultrazvuk plicního parenchymu lze s výhodou použít při hodnocení hyperhydratace hemodialyzovaných pacientů. B-linie bývají detekovány i u nemocných asymptomatických stran dušnosti a jejich četnost se mění během ultrafiltrace (Vitturi et al., 2014; Donadio et al., 2015).

Ultrazvukové vyšetření plic neposkytuje informaci o hypohydrataci! Avšak s poměrně vysokou citlivostí zobrazuje hyperhydrataci plicní tkáň. Na obrázku 1 jsou patrné známky převodnění při ultrazvukovém vyšetření naší pacientky, kdy souběžně vyšetření modulem BCM ukázalo převodnění o 10 litrů.

Hyperhydratace detekovaná plicním ultrazvukovým vyšetřením může být podmíněna při celotělové hyperhydrataci, ale také při srdečním selhání. Nutno poznamenat také to, že B-linie nejsou specifickou známkou plicní kongesce, ale obrazem alveolo-intersticiálního syndromu (AIS). V klinické praxi se nejčastěji setkáváme s AIS u plicního edému, ale i u intersticiálních plicních procesů, pneumonií a ARDS. V těchto případech se na obrazu B-linií podílí přítomnost zánětlivého infiltrátu v intersticiu a alveolech. Izolovaný nález B-linií odpovídá lokální patologii při pneumonii (Sedlák a Vaník, 2016).

Ultrazvuk plicního parenchymu je novou, prověřenou metodou, která má naději na uplatnění v péči o hemodialyzované pacienty, je však třeba s touto metodou získat postupně větší a dlouhodobější zkušenosti.

BIOIMPEDANČNÍ SPEKTROSKOPIE

Díky vývoji přístroje Body Composition Monitor™ (Fresenius, Německo) s jednoduchou obsluhou a dobrou reprodukovatelností výsledků se v posledních 10 letech rozšířilo využití bioimpedanční spektroskopie do každodenní péče o dialyzované pacienty. Zařízení využívá

Přehledný článek

Tab. 2: Fyziologie centrálního žilního tlaku (Turek, 2014)

Faktory zvyšující centrální žilní tlak	Mechanismus	Změna compliance (C) Změna volumu (V)
zvýšení objemu cirkulující krve	aktivace RAAS, renální selhání, volumoterapie	V
pokles srdečního výdeje	srdeční selhání	V
venokonstrikce	katecholaminy, angiotensin II	C
hydrostatické síly	gravitace	C, V
elevace dolních končetin, ze stoje do lehu	redistribuce	V
změny nitrohruďního tlaku, Valsalvův manévr	UPV, PEEP	C
kontrakce končetinových a břišních svalů	komprese mimohrudních cév, redistribuce	C, V

RAAS – Renin-angiotenzin-aldosteronový systém; UPV – umělá plicní ventilace; PEEP – Positive end-expiratory pressure

Tab. 3: Odhad centrálního žilního tlaku vyšetřením dolní duté žíly (Sedlák, 2016)

Rozměr DDŽ (mm)	Respirační variabilita rozměru DDŽ (%)	Odhadovaný CVT (mmHg)
15 – 20	> 50	5 – 10
15 – 20	< 50	10 – 15
> 20	0	> 15
< 15	>> 50 (100)	< 5

DDŽ – dolní dutá žíla; CVT – centrální žilní tlak

ke stanovení obsahu tělesné vody měření odporu tkání při průchodu elektrického proudu nízké intenzity. Určení obsahu vody v jednotlivých kompartmentech se dosahuje použitím střídavého proudu o různých frekvencích. Nízkofrekvenční proud neproniká buněčnou membránou a proudí pouze extracelulárním prostorem, zatímco vysokofrekvenční proud proniká i do intracelulárního prostoru. Takto je kromě množství celkové tělesné vody (TBW) možno určit množství intracelulární i extracelulární tekutiny (ICW, ECW). Na základě rozdílného zastoupení vody v jednotlivých tkáních lze pak určit velikost tukové a svalové tkáně a nadbytek či deficit extracelulární tekutiny v litrech. Přístroj nám tedy navrhne hodnotu optimální hmotnosti pro vyšetřovaného pacienta. Velmi užitečnou aplikací je počítačové zpracování hodnot získaných opakovanými měřeními do grafu zobrazujícího vývoj složení pacientova těla. Longitudinální měření u nemocných léčených hemodialýzou a peritoneální dialýzou umožňuje například zobrazení ztráty svalové hmoty v čase. Tato změna se projeví jako pokles ICW a tím zvýšení poměru ECW/TBW. Zvýšení tohoto poměru je spojeno s horší prognózou pacientů (Davies a Davenport, 2014).

Bioimpedanční spektroskopie je při porovnání s referenčními metodami přesné a spolehlivé vyšetření, ale existují faktory, které výsledek měření ovlivňují, např. příjem tekutin před vyšetřením, přítomnost výpotků, ascitu, polycystických ledvin, změny prokrvení končetin (při infekci, pohybu před vyšetřením), menstruace. Limitací pro provedení vyšetření je přítomnost kovu v těle. Omezením zůstává i přítomnost pacemakeru či implantabilního kardioverter-defibrilátoru. V budoucnu tento problém bude vyřešen se zavedením nové generace implantabilních zařízení, jejichž výbava již bude kompatibilní s impedančním měřením.

NATRIURETICKÉ PEPTIDY

Při tlakovém či objemovém přetížení myokardu je svalovinou síní a komor produkován atrální natriuretický peptid (ANP) a mozkový natriuretický peptid (BNP) včetně hormonálně neaktivní molekuly NT-proBNP. Jejich syntéza je za normálních okolností velmi malá. Sérové koncentrace NP mají poměrně vysokou senzitivitu, avšak nižší specifitu pro srdeční selhávání. Jejich zvýšená produkce je přirozenou odpovědí organismu na zvýšenou aktivitu sympatického nervového systému a RAAS v průběhu srdečního selhání. Mezi jejich hlavní účinky patří zvýšení diurézy a natriurézy a relaxace hladké cévní svaloviny. Ke zvýšení produkce NP může dojít také i u stavů, které jsou provázeny objemovým či tlakovým přetížením při převodnění, arteriální hypertenzi a dalších stavech (Pudil a Tichý, 2010). S ohledem na biologický poločas těchto molekul se pro laboratorní vyšetřování používá BNP a NT-proBNP.

U dialyzovaných pacientů je hladina NP trvale zvýšená následkem snížené clearance a častého poškození myokardu. Výrazná elevace tohoto parametru poukazuje na kardiální patologii nebo hyperhydrataci. Referenční rozmezí pro pacienty na dialýze však není stanoveno. Některé práce zabývající se problematikou měření hladin NP u nemocných na hemodialýze našly spojitost hladiny NP se stavem hydratace, jiné pozorovaly korelaci mezi změnami mezi ECW a BNP. Bylo zjištěno, že hladina NT-proBNP se mění v průběhu dialyzačního týdne, nejvyšší je po nejdelším mezidialyzačním intervalu a po dialýze klesá. Změny v koncentraci NT-proBNP jsou způsobeny spíše odstraněním při dialýze než změnou hydratace. Závisí i na dialyzačních

parametrech. K většímu odstraňování dochází při hemodiafiltraci a použití high-flux dialyzátoru (Davies a Davenport, 2014). Z těchto důvodů je praktická využitelnost laboratorního vyšetření natriuretických peptidů ke stanovování optimální hmotnosti dialyzovaných pacientů velmi omezená (Agarwal, 2013).

MĚŘENÍ INTRAVASKULÁRNÍCH OBJEMOVÝCH ZMĚN V ODPOVĚDI NA ULTRAFILTRACI

K prevenci intradialyzační hypovolémie způsobené neadekvátní rychlostí ultrafiltrace byla vyvinuta zařízení schopná detekovat relativní změnu krevního objemu (relative blood volume, RBV) v průběhu hemodialýzy (přehledně např. Lopot, 2007). Tyto přístroje měří zvýšení hematokritu a odpovídající snížení cirkulujícího krevního objemu v procentech zobrazují v grafu. V současné době je na českých hemodialyzačních odděleních k dispozici modul dialyzačních monitorů BVM (Blood Volume Monitor, Fresenius, Německo), který k měření změn koncentrace hematokritu využívá rychlost šíření ultrazvuku v zahušťované krvi. Obdobně použitelný přístroj Crit-line™ (On-line Diagnostics, USA) monitorující změnu hematokritu optickou metodou v současné době není v České republice k dispozici.

Výsledná křivka změny krevního objemu je odrazem vztahu mezi úbytkem tekutin z intravaskulárního prostoru a zpětným doplňováním z intersticia (tzv. refill). Plochý průběh křivky grafu lze interpretovat tak, že rychlost přesunu mezi intravaskulárním kompartmentem a intersticiem je rovna rychlosti ultrafiltrace. Pokles krevního objemu o více než 8 % za hodinu predikuje riziko hypovolémie. Přítomnost „refillu“ je důsledkem hyperhydratace (Rodriguez et al., 2005). U některých hemodialyzačních monitorů lze využít aktivní řízení ultrafiltrace, při které přístroj po stanovení kritické hodnoty ve změně RBV sám předchází nežádoucím příhodám při ultrafiltraci. Metoda nevyhodnotí, zda je pokles křivky dán vysokou ultrafiltrací, či neadekvátní rychlostí ultrafiltrace. V kombinaci s posouzením změn krevního tlaku a přítomnosti subjektivních symptomů (křeče, slabosti) je měření změn RBV užitečnou pomůckou v hodnocení hydratace stanovování optimální dialyzační hmotnosti.

ZÁVĚR

Pečlivé klinické vyšetření, hodnocení změn krevního tlaku se znalostí antihypertenzní léčby a výskyt subjektivních potíží (dušnost, křeče, slabost) je a zůstane nezbytným základem posuzování hydratace našich pacientů. Ke snížení kardiovaskulární morbidita a mortality je však zapotřebí zpřesnění stanovení hydratace současným použitím objektivních metod. Pomocí prostého snímku plic lze diagnostikovat jen hrubší hyperhydrataci, nelze jej často opakovat kvůli radiační zátěži, a není proto běžnou součástí algoritmů pro hodnocení hydratace. Měření centrálního žilního tlaku má mnoho nevýhod, proto ho k posouzení hydratace u chronicky dialyzovaných pacientů

běžně nepoužíváme. Pracoviště, která disponují ultrazvukovým přístrojem, mohou provádět ultrazvukové vyšetření dolní duté žíly a hrudníku. Ke správnému provádění a interpretaci nálezů je vhodné školení pod dohledem zkušeného lékaře. Pomocí ultrazvukového měření průměru dolní duté žíly a výpočtu indexu jeho kolapsibility lze usuzovat na hypohydrataci či hyperhydrataci. Toto vyšetření však poskytuje informaci především o stupni intravaskulární náplně, proto je nelze použít k hodnocení hydratace bezprostředně po dialýze, kdy není nastolena rovnováha mezi intersticiem a intravaskulárním kompartmentem (Basso et al., 2013). Velmi přínosnou metodou, která pomáhá určovat ultrafiltrační strategii a optimální hydrataci, je kontinuální měření hematokritu při hemodialýze vyjádřené jako změny krevního objemu. B-linie zjištěné při UZ vyšetření plic odpovídají množství extravaskulární tekutiny v plicním intersticiu. V reálném čase zobrazují plicní kongesci, která přetrvává po dialýze jen u menšiny pacientů (Basso et al., 2013). Ultrazvuk plicního parenchymu s detekcí B-liní by mohl být užitečným nástrojem k detekci a řízení léčby hyperhydratace, nepomůže však v diagnostice hypovolémie. Natriuretické peptidy jsou ukazatelem hemodynamického převodnění a myokardiálního stresu, ke stanovení optimální dialyzační hmotnosti mohou přispět jen málo. Pomocí bioimpedanční spektroskopie lze diagnostikovat jak hyper-, tak hypohydrataci. Jde o dostatečně citlivou metodu, která navíc jako jediná nabízí konkrétní návrh cílové optimální hmotnosti. Další výhodou je, že umožňuje přehledné zobrazení při pravidelném opakování i včasnou detekci změn tělesného složení.

Ze současné literatury vyplývá, že je zapotřebí více klinických studií hodnotících konkrétní uplatnění jednotlivých metod v péči o hemodialyzované pacienty. Posouzení optimální hydratace a stanovení optimální dialyzační hmotnosti nadále zůstává v rukou lékaře, který ověřuje a zpřesňuje závěry svého klinického vyšetření objektivními metodami a jejich volbu individualizuje pro každého pacienta.

LITERATURA

1. Agarwal R. B-type natriuretic peptide is not a volume marker among patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(12): 3082–3089.
2. Agarwal R, Bouldin JM, Light RP, Garg A. Inferior Vena Cava Diameter and Left Atrial Diameter Measure Volume but Not Dry Weight. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6(5):1066–1072.
3. Agricola E, Bove T, Oppizzi M, Marino G, Zangrillo A, Margonato A, et al. "Ultrasound Comet-Tail Images": A Marker Of Pulmonary Edema. *Chest* 2005; 127(5): 1690–1695.
4. Basso F, Milan Manani S, Cruz DN, Teixeira C, Brendolan A, Nalesso F, et al. Comparison and Reproducibility of Techniques for Fluid Status Assessment in Chronic Hemodialysis Patients. *Cardiorenal Med* 2013; 3(2): 104–112.
5. Brennan JM. Handcarried Ultrasound Measurement of the Inferior Vena Cava for Assessment of Intravascular Volume Status in the Outpatient Hemodialysis Clinic. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1(4): 749–753.
6. Davies SJ, Davenport A. The role of bioimpedance and

- biomarkers in helping to aid clinical decision-making of volume assessments in dialysis patients. *Kidney Int* 2014; 86(3): 489–496.
7. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, et al. Surviving Sepsis Campaign. *Crit Care Med* 2013; 41(2): 580–637.
 8. Donadio C, Bozzoli L, Colombini E, Pisanu G, Ricchiuti G, Picano E, et al. Effective and Timely Evaluation of Pulmonary Congestion. *Medicine (Baltimore)* 2015; 4(6): e473.
 9. Katzarski KS, Nisell J, Randmaa I, Danielsson A, Freyschuss U, Bergström J. A critical evaluation of ultrasound measurement of inferior vena cava diameter in assessing dry weight in normotensive and hypertensive hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 30(4): 459–465.
 10. Lichtenstein D, Meziere G, Biderman P, Gepner A, Barre O. The comet-tail artefact: an ultrasound sign of alveolar-interstitial syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1640–1646.
 11. Lichtenstein DA, Meziere GA, Lagoueyte J-F, Biderman P, Goldstein I, Gepner A. A-Lines and B-Lines. *Chest* 2009; 136(4): 1014–1020.
 12. Lopot F, Nyiomnaitham V, Svárová, Polakovic V, Svára F, Sulková S: Continuous blood volume monitoring nad „dry weight“ assessment. *J Ren Care* 2007; 33(2): 52–58 (Review).
 13. Macheck P, Jirka T, Moissl U, Chamney P, Wabel P. Guided optimization of fluid status in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(2): 538–544.
 14. Marik PE, Baram M, Vahid B. Does Central Venous Pressure Predict Fluid Responsiveness?: A Systematic Review of the Literature and the Tale of Seven Mares. *Chest* 2008; 134(1): 172–178.
 15. Pudil R, Tichý M. Natriuretické peptidy a srdeční selhání – současný pohled. *Klin Biochem Metab* 2010; 18(4): 190–195.
 16. Rodriguez HJ, Domenici R, Diroll A, Goykhman I. Assessment of dry weight by monitoring changes in blood volume during hemodialysis using Crit-Line. *Kidney Int* 2005; 68(2): 854–861.
 17. Sedlák V, Vaník P. *Ultrazvuk hrudníku v klinické praxi*. Praha: Maxdorf; 2016.
 18. Siroopol D, Hogas S, Voroneanu L, Onofriescu M, Apetrii M, Oleniuc M, et al. Predicting mortality in haemodialysis patients: A comparison between lung ultrasonography, bioimpedance data and echocardiography parameters. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(11): 2851–2859.
 19. Uthoff H, Breidhardt T, Klima T, Aschwanden M, Arenja N, Socrates T, et al. Central venous pressure and impaired renal function in patients with acute heart failure. *Eur J Heart Fail* 2011; 13(4): 432–439.
 21. Vitturi N, Dugo M, Soattin M, Simoni F, Maresca L, Zagatti R, et al. Lung ultrasound during hemodialysis: The role in the assessment of volume status. *Int Uro. Nephro.* 2014; 46(1): 169–174.
 22. Woodrow G, Oldroyd B, Wright A, Coward WA, Turney JH, Brownjohn AM, et al. Abnormalities of body composition in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 2004; 24(2): 169–175.

MUDr. Alena Malá
Hemodialyzační středisko FN Hradec Králové
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: alena.mala@fnhk.cz