Lékařská fakulta Univerzity Karlovy Hradec Králové

Dětská klinika Lékařské fakulty a Fakultní nemocnice

DENZITA KOSTNÍHO MINERÁLU U PACIENTŮ S CYSTICKOU FIBRÓZOU

MUDr. Erika Očenášková

Disertační práce

v doktorském studijním programu pediatrie

Hradec Králové

Leden 2007

OBSAH

Str.

Seznam zkratek 5

I. Úvod 8

II. Současný stav problematiky 9

II.A.Definice problému 9

II.A.1 Postnatální somatický růst a nárůst kostní hmoty 9

II.A.2 Vliv mechanického zatížení na stavbu kosti 13

II.A.3 Vliv výživy na stavbu kosti 17

II.A.3.1 Vápník 17

II.A.3.2 Fosfor 19

II.A.3.3 Vitamín K 19

II.A.3.4 Vitamín C 20

II.A.3.5. Sodík 20

II.A.3.6. Hořčík 20

II.A.4 Humorální regulace kostního metabolismu 22

II.A.4.1 Parathormon 22

II.A.4.2 Kalcitonin 23

II.A.4.3 Vitamín D 24

II.A.4.4 Růstové faktory 25

II.A.4.5 Systémově podávané kortikoidy 25

II.A.4.6 Zánět 26

II.A.5 Metabolické osteopatie 28

II.A.5.1 Definice pojmů 28

II.A.5.2 Prevence a léčba metabolických osteopatií 32

II.B Přehled vyšetřovacích metod kostního metabolismu a složení těla 34

II.B.1 Přehled metod měření denzity kostního minerálu 34

II.B.1.1 Metody využívající ionizující záření 34

II.B.1.1.1 Fotonová absorpciometrie 34

II.B.1.1.2 Konvenční RTG snímky 34

II.B.1.1.3 Digitální radiogrammetrie 34

II.B.1.1.4 Rentgenová absorpciometrie 35

II.B.1.1.5 Kvantitativní počítačová tomografie 36

II.B.1.1.6 Neutronová aktivační analýza 36
II.B.1.2 Metody využívající ultrazvuk 36
II.B.1.2.1 Ultrasonometrie 36
II.B.1.3 Další metody 37
II.B.1.3.2 Kvantitativní magnetická rezonance 37
II.B.1.4 Radiační zátěž 37
II.B.1.5 Přesnost měření 39
II.B.2 Klinické využití kostní denzitometrie 41
II.B.3 Kostní denzitometrie u dětí 44
II.B.3.1 Metody a lokalizace 44
II.B.3.2 Hodnocení 45
II.B.4 Biochemické markery kostního obratu..... 48
II.B.5 BMD a posouzení rizika fraktury..... 49
II.B.6 Přehled metod vyšetření složení těla 50
II.B.6.1 Modely složení těla 50
II.B.6.2 Metody ke zjištění složení těla 51
II.B.6.2.1 Klinické metody 51
II.B.6.2.1.1 Body mass index 51
II.B.6.2.1.2 Antropometrie 51
II.B.6.2.1.3 Bioelektrická impedanční analýza 51
II.B.6.2.1.4 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 54
II.B.6.2.2 Výzkumné metody 54
II.B.6.2.2.1 Kvantitativní výpočetní tomografie 54
II.B.6.2.2.2 Magnetic rezonance 54
II.B.6.2.2.3 Pletysmografie 55
II.B.6.2.2.4 Diluční metody 55
II.B.6.2.2.5 Detekce celotělového draslíku 55
II.B.6.2.2.6 In vivo neutronová aktivační analýza 55
II.B.6.2.2.7 Hydrodenzitometrie 55
II.B.6.2.2.8 Celotělová elektrická vodivost (total body electrical conductivity - TOBEC) 55
II.C Cystická fibróza 56
II.C.1 Cystická fibróza jako klinická jednotka 56
II.C.2 Faktory ovlivňující kostní metabolismus u cystické fibrózy 58
II.C.3 Kostní histomorfometrie u cystické fibrózy 61

II.C.4 Důsledky kostního postižení u cystické fibrózy 62
II.C.5 Kostní denzitometrie u cystické fibrózy 62
II.C.6 Prevence a léčba kostní nemoci u cystické fibrózy 63
II.C.6.1 Medikamentózní léčba 64
II.C.6.1.1 Hormonální léčba 64
II.C.6.1.2 Antiresorptivní léky 64
II.C.6.2 Mezinárodní doporučení pro prevenci a léčbu kostního postižení u cystické fibrózy 65
III. Cíle práce 73
IV. Soubor pacientů a metody 74
IV. A Soubor pacientů 74
IV.A.1 Pacienti s cystickou fibrózou Tübingen 74
IV.A.1.1 Vstupní kritéria 74
IV.A.1.2 Vylučovací kritéria 74
IV.A.1.3 Mutace CFTR, pankreatická suficience 74
IV.A.1.4 Antropometrie 75
IV.A.1.5 Biochemické charakteristiky 75
IV.A.2.6 Plicní funkce 76
IV.A.1.7 Vyšetření složení těla 76
IV.A.1.7.1 Bioelektrická impedanční analýza 76
IV.A.1.7.2 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 76
IV.A.1.8 Vyšetření denzity kostního minerálu 77
IV.A.1.8.1 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 77
IV.A.1.8.2 Periferní kvantitativní výpočetní tomografie 79
IV.A.1.9 Radiační riziko pro pacienty 81
IV.A.2 Pacienti s cystickou fibrózou Hradec Králové 81
IV.A.2.1 Vstupní kritéria 81
IV.A.2.2 Vylučovací kritéria 81
IV.A.2.3 Mutace CFTR, pankreatická suficience, CF-hepatopatie, mikrobiální osídlení 82
IV.A.2.4 Antropometrie 82
IV.A.2.5 Biochemické charakteristiky 83
IV.A.2.6 Plicní funkce 83
IV.A.2.8 Vyšetření denzity kostního minerálu 84
IV.A.2.8.1 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 84

IV.A.2.8.1.1 Korekce výsledků dle hmotnosti a výšky 85
IV.A.2.8.4 Druhé vyšetření 85
IV.A.2.8.4 Intervenční studie s kalciem a vitamínem D 85
IV.A.2.9 Radiační riziko pro pacienty.....85
IV.B Statistické vyhodnocení 86
V. Výsledky 87
V. A pacienti s cystickou fibrózou Tübingen 87
V.A.1 Mutace CFTR, pankreatická suficience 87
V.A.2 Antropometrické, spirometrické a biochemické charakteristiky 87
V.A.3 Bioelektrická impedanční analýza 89
V.A.4 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 90
V.A.5 Periferní kvantitativní výpočetní tomografie 93
V.B pacienti centra pro cystickou fibrózu Hradec Králové 100
V.B.1 Mutace CFTR, pankreatická suficience, CF-hepatopatie, bakteriální kolonizace, léčba steroidy 100
V.B.2 Antropometrická, biochemická, spirometrická a denzitometrická vyšetření 100
V.B.2.1 CF-HK – 1. vyšetření 100
V.B.2.2 CF-HK – 2.vyšetření 106
V.B.2.3 CF-HK -skupina pacientů do 15 let věku 111
V.B.2.3.1 Antropometrické, biochemické a spirometrické parametry 111
V.B.2.3.2 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 112
VI. Diskuse 117
VI.1 Mutace 117
VI.2 Zevně sekretorická funkce pankreatu, CF-hepatopatie, mikrobiální osídlení 117
VI.3 Antropometrická a anamnestická data 118
VI.4 Bioelektrická impedanční analýza 119
VI.5 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie 120
VI.5.1 Celotělové DXA vyšetření 120
VI.5.2 DXA lumbální páteře 121
VI.6 Intervenční studie s kalciem a vitamínem D u CF-HK 127
VI.7. Periferní kvantitativní výpočetní tomografie 127
VII. Závěr a doporučení 131
VII.1 Závěry 131
VII.2 Doporučení pro praxi 132

VIII. Poděkování 133

IX. Seznam vyobrazení a tabulek 134

X. Literatura 137

SEZNAM ZKRATEK

ADP – (air displacement pletysmography) – tělová pletyzmografie

ALP – alkalická fosfatáza

BA – (bone area) – plocha projekce kosti

BIA – (bioelectric impedance analysis) - bioelektrická impedanční analýza

BMC – (bone mineral content (g)) – obsah kostního minerálu

BMD – (bone mineral density (g/cm^2)) – denzita kostního minerálu

BMI – (body mass index (kg/m^2)) – index tělesné hmotnosti, Queteletův index

BMU – (basic multicelular unit) – základní mnohobuněčná kostní jednotka

BUA – (broadband ultrasound attenuation) – širokopásmové oslabení ultrazvuku

BUAI – (broadband ultrasound attenuation imaging) – zobrazení širokopásmového oslabení ultrazvuku

Ca – kalcium

CaSR – (calcium-sensing receptor) – receptor detekující koncentraci ionizovaného vápníku v krvi

CBD – (cortical bone mineral density) - denzita kortikální kosti měřená QCT, resp. pQCT (g/cm^3)

CD – (Crohn's disease) - Crohnova choroba

CF – cystická fibróza

CF-HK – pacienti Centra pro cystickou fibrózu Hradec Králové

CF-Tübingen - pacienti Centra pro cystickou fibrózu Tübingen

CSA – (cross-section area (mm^2)) – plocha průřezu

CSF – (colony stimulating factors) – kolonie stimulující faktory

DXA – (dual-energy X-ray absorptiometry) – dvouenergiová rentgenová absorpciometrie

ELISA – (enzyme-linked immunoanalysis) - enzymoimunoanalýza

FEV1 – (one-second forced expiratory volume (% náležité hodnoty)) – usilovně vydechnutý objem za první vteřinu

FFM – (fat-free mass) – beztuková tělesná hmota

FM – (fat mass) – tělesný tuk

IGF – (insulin-like growth factor) – inzulínu podobný růstový faktor

IgG – imunoglobulin G

IL – interleukin

IRMA – (immunoradiometrical analysis) - imunoradiometrie

ISCD – (The International Society for Clinical Densitometry) – Mezinárodní společnost pro klinickou denzitometrii

LBM – (lean body mass) – štíhlá tělesná hmota, svalstvo, zde LBM = hmotnost – FM - BMC, v některých studiích též LBM = hmotnost – FM

Ntx – N-terminální telopeptid

OPG – osteoprotegerin, osteoklastogenezi inhibující faktor

P - fosfor

pQCT – (peripheral quantitative computed tomography) – periferní kvantitativní výpočetní tomografie

PTH – parathormon

QCT – (quantitative computed tomography) – kvantitativní výpočetní tomografie

QUS – (quantitative ultrasound) – ultrasonometrie

RANK – (receptor activator of NF κB) – receptor pro diferenciaci a aktivaci osteoklastu

RANKL – (receptor activator of NF κB ligand) – ligand receptoru pro diferenciaci a aktivaci osteoklastu

RIA – (radioimmunonalysis) - radioimunoanalýza

SD – (standard deviation) – směrodatná odchylka

SDS – (standard deviation score) – násobek směrodatných odchylek, o který se daná hodnota odlišuje od populačního průměru

SOS – (speed of sound) – rychlost průchodu ultrazvuku kostní tkání

TBD – (trabecular bone mineral density) - denzita trámčité kosti měřená QCT, resp. pQCT (g/cm^3)

TGF – (transforming growth factor) – transformující růstový faktor

TNF – (tumor necrosis factor) – tumor nekrotizující faktor

UC – ulcerózní kolitida, idiopatická proktokolitida

UV – (ultraviolet) - ultrafialový

v-BMD – (volumetric bone mineral density) - objemová denzita kostního minerálu (g/cm^3)

vit.D – vitamín D

vit.K – vitamín K

VOS – velocity of sound – rychlost průchodu ultrazvuku kostní tkání

I. ÚVOD

Dětství a dospívání jsou obdobím růstu těla. Jsou rozhodující pro ukládání kostního minerálu a výstavbu celkové kostní hmoty. Snaha o dosažení maximální odolnosti kostry vůči mechanickým vlivům je tedy i záležitostí dětského lékaře.

I u zdravých dětí je fyziologický vývoj kostry ohrožován civilizačními vlivy. Nedostatek pohybu při sedavém způsobu života v čase počítačů a supermarketů, nevyvážená strava s nedostatkem vápníku a vitamínů i u dětí v rozvinutých zemích mohou vést k nedostatečnému nárůstu kostní hmoty, jehož následkem může být výrazně zvýšené riziko zlomenin ve stáří.

U dětí s chronickým onemocněním může charakter choroby, komplikace a medikamentózní léčba významně zasáhnout do procesu výstavby a mineralizace kostí. Porucha metabolismu kostí při chronickém onemocnění v období růstu může organismus výrazně, až nenapravitelně poškodit.

Tato práce se zabývá problematikou kostního metabolismu u cystické fibrózy. Již více než 20 let je ohrožení kostního zdraví u pacientů trpících cystickou fibrózou mezinárodně uznaným problémem. Komplexní působení řady faktorů – mimo jiné zánět, zvýšená potřeba a snížený přísun energie, bílkovin a vitamínů, omezení pohybu v důsledku těžké choroby – to vše může brzdit růst a vývoj dětského pacienta. Navíc některá léčiva mohou tento negativní efekt potencovat, na prvním místě systémově podávané kortikosteroidy. Dochází k ovlivnění růstu a mineralizace kostí, které se může později projevit zvýšenou náchylností ke zlomeninám, podílet se na vysoké morbiditě těchto pacientů a negativně ovlivňovat kvalitu jejich života.

Cílem práce je u pacientů s CF zjistit stav denzity kostního minerálu, pokusit se u nich identifikovat rizikové faktory, které ji ovlivňují, a naznačit možnosti intervence.

II. SOUČASNÝ STAV PROBLEMATIKY

II.A DEFINICE PROBLÉMU

II.A.1 POSTNATÁLNÍ SOMATICKÝ RŮST A NÁRŮST KOSTNÍ HMOTY

Dítě se rodí již s částečně osifikovanými kostmi. Tento základ je výrazem bazálních podmínek a mechanického působení svalstva a gravitace již prenatálně.

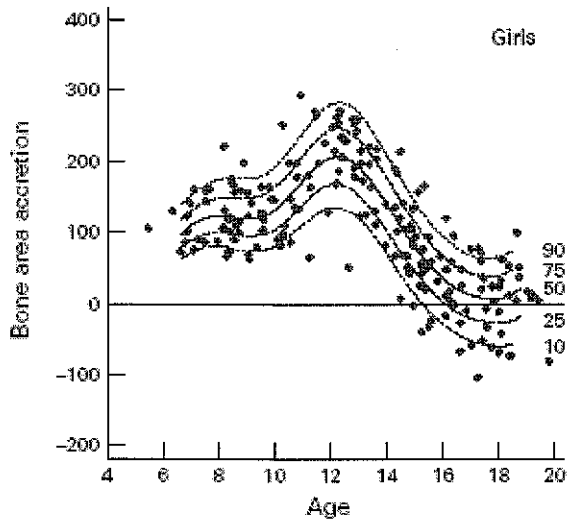
Kostní hmota narůstá během dětství, 30% od narození do 3 let, od 3 let do puberty dalších 20%, v období puberty nastává akcelerace růstu, přibude 30-40% celkové kostní hmoty, po pubertě již jen 15-20% [21]. Mezi 20.a 30. rokem života je dosahováno maxima kostní hmoty. Hmotnost celkového skeletálního kalcia se tak zvýší z 25g při narození na průměrně 900g u žen a 1200g u mužů v dospělosti [19].

V prvních 3 letech věku rostou rychleji končetiny než axiální skelet, v pubertě se zrychluje tempo růstu páteře. Přírůstky apendikulárního skeletu dominují před pubertou, zatímco růst páteře se zvyšuje během puberty pod vlivem pohlavních steroidů. Růst končetin je dokončen před dokončením růstu axiálního skeletu [19].

Whiting et al. [252] zjistili maximální přírůstky kostního minerálu u dětí kavkazské rasy v longitudinální Saskatchewanské studii zhruba v době následující za 6 měsíců po maximálním výškovém přírůstku, průměrně v 12,5 letech u dívek a 14 letech u chlapců. Během 2 let maximální růstové rychlosti se akumuluje cca 25% dospělé kostní hmoty. McKay et al. v longitudinální studii zahrnující perimenarcheální dívky zjistili maximální přírůstky kostního minerálu v období menarché, zhruba za 1 rok po maximální růstové rychlosti. U dříve dospívajících dívek byl zaznamenán vyšší přírůstek kostního minerálu a vyšší maximální růstová rychlost [148].

Byla publikována řada studií na téma přírůstku kostního minerálu, denzity kostního minerálu a plochy projekce kostí. Např. Molgaard et al.jako základ pro svou trojstupňovou metodu hodnocení kostní minerální denzity vytvořili referenční data pro denzitometry Hologic s vějířovitým chodem paprsků. Rychlost nárůstu plochy projekce kosti a nárůstu kostního minerálu ukazují **Obr.č.1 a 2** [převzato ze 151 a 152]. Z grafů jasně vyplývá opožďování rychlosti přírůstku BMC za přírůstkem BMA, výraznější u chlapců.

Obr.č. 1 Přírůstek plochy projekce kosti a nárůst kostního minerálu [151]



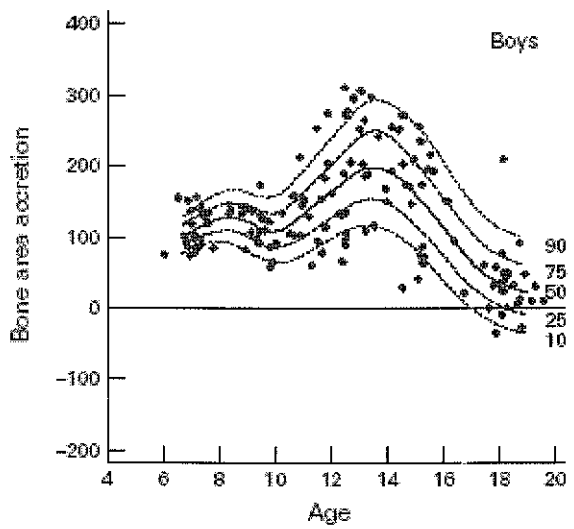
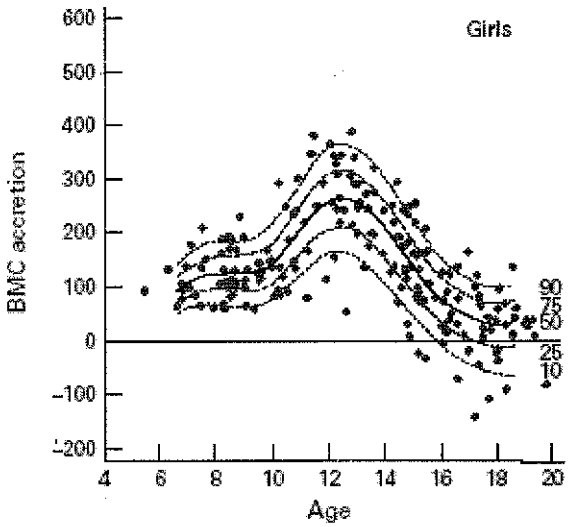


Figure 1 Centile curves for annual whole body bone area accretion (cm²/year) according to sex and age (years).



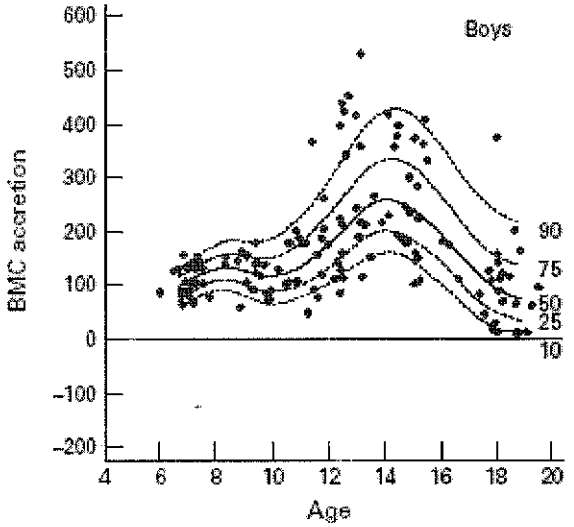


Figure 2 Centile curves for annual whole body bone mineral content (BMC) accretion (g/year) according to sex and age (years).

Vysvětlivky: Horní křivky jsou výsledky vyšetření dívek, dolní křivky jsou výsledky vyšetřeníchlapců. Na levé straně obrázku jsou percentilové křivky meziročního přírůstku plochy projekce kosti při celotělovém vyšetření (cm2/rok). Na pravé straně obrázku jsou percentilové křivky meziročního přírůstku kostního minerálu při celotělovém vyšetření (g/rok).

Obr.č. 2 Nárůst BMC v závislosti na věku a plocha projekce kostí v závislosti na výšce [152]

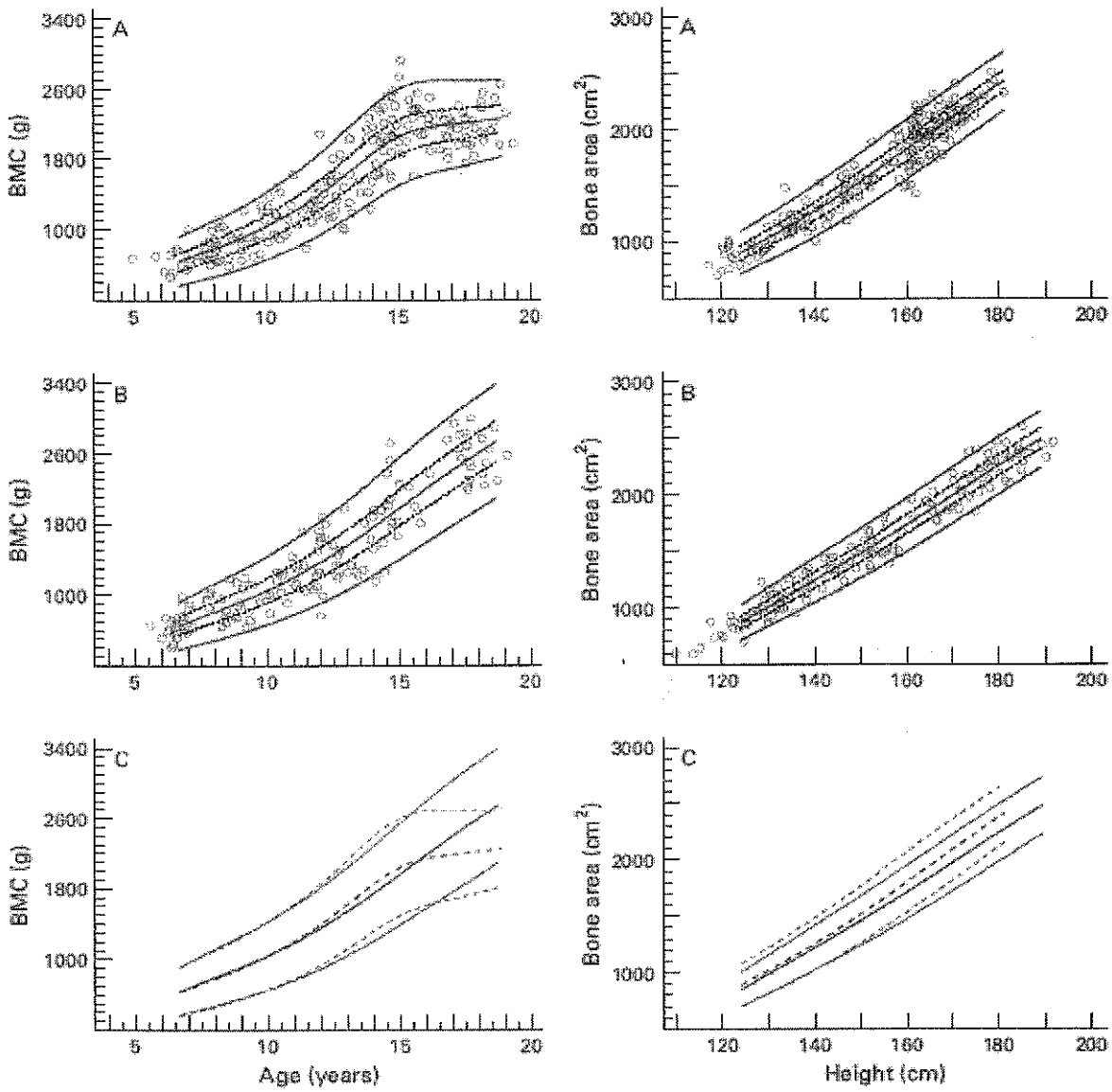


Figure 2 Centile curves for whole body BMC according to age in girls (A) and boys (B). The solid curves are the median and the 3rd and 97th centiles of the normal distribution with mean and SD as shown in table 3. The dotted lines show the interquartile ranges. The median and outer centiles for girls (dashed lines) and boys (solid lines) are shown together in (C).

Figure 3 Centile curves for whole body bone area according to height in girls (A) and boys (B). The solid curves are the median and the 3rd and 97th centiles of the normal distribution with mean and SD as shown in table 4. The dotted lines show the interquartile ranges. The median and outer centiles for girls (dashed lines) and boys (solid lines) are shown together in (C).

Vysvětlivky: Křivky na levé straně obrázku jsou percentilové křivky celotělového BMC uspořádané dle věku (roky). Křivka A znázorňuje výsledky vyšetření dívek, křivka B chlapců. Nepřerušované čáry v grafu A i B jsou medián, 3. a 97. percentil. Tečkované linie znázorňují 25. a 75. percentil. Křivka C ukazuje společně mediány a 3. a 97. percentil celotělového BMC pro dívky (přerušovaná linie) a chlapce (nepřerušovaná linie).

Křivky na pravé části obrázku jsou percentilové grafy plochy projekce kosti při celotělovém vyšetření, uspořádané dle výšky(cm). U dívek (křivka A) a chlapců (křivka B). Nepřerušované čáry v grafu A i B jsou medián, 3. a 97. percentil. Tečkované linie znázorňují 25. a 75. percentil. Křivka C ukazuje společně mediány a 3 a 97. percentil celotělového BMC pro dívky (přerušovaná linie) a chlapce (nepřerušovaná linie).

Během puberty je růst těla natolik rychlý, že se nárůst kostní hmoty a její mineralizace opožďuje, což vede k přechodnému zvýšení fragility kostí. Navíc mladí lidé v tomto období mají tendenci k rizikovému chování, včetně rizikových sportů. V době vrcholu růstové rychlosti jak chlapci, tak dívky dosahují 90% své budoucí dospělé výšky, ale pouze 57% budoucího dospělého BMC [19]. QCT studií lumbálních obratlů Mora et al. zjistili u dívek postupné zvyšování volumetrické denzity kostního minerálu kortikální kosti s věkem, zatímco denzita trabekulární kosti se zvyšovala pouze v pozdějších stadiích puberty, což by ukazovalo na významný vliv pohlavních hormonů [153]. Byl studován vliv pohlaví na přírůstky kostního minerálu během růstu [24], byl zjištěn rozdíl mezi pohlavími. Tento rozdíl byl ale po vyrovnání vzhledem k věku, tělesné výšce a složení těla menší než chyba měření, tedy statisticky nesignifikantní.

Proces nárůstu kostní hmoty není homogenní v rámci celého organismu. Proximální femur a trabekulární kost obratlů dosahují maxima kolem 18. roku, na předloktí dochází ke kontinuální apozici až do vyššího středního věku.

Muži dosahují maxima kostní hmoty později než ženy. U obou pohlaví po dosažení maxima kostní hmoty nastává po cca desetiletém plateau pomalý pokles po celý zbytek života, 0,3 – 0,5% ročně [221, str.34]. Po menopauze u žen dochází k akceleraci ztrát kostní hmoty, během prvních 5 let 5-15%, zejména trámčité kosti, pravděpodobně v důsledku snížení produkce endogenních estrogenů. Poté pokračuje tempem cca 0,5 – 1% ročně.

U zdravých lidí ovlivňují maximální dosaženou kostní hmotu zejména genetické faktory (ze studií na dvojčatech až z 85%) [138], výživa, tělesná aktivita, hmotnost, hormonální rovnováha a etnický původ.

Byla zjištěna vyšší kostní denzita u černochů (což bývá připisováno větší svalové hmotě - [260]). Tento rozdíl přetrvává i po korekci vzhledem k velikosti těla. Pomocí QCT byla zjištěna vyšší denzita trabekularis [19]. Větší rozměry kostí a vyšší volumetrická kostní denzita se odrážejí i v nižší prevalenci osteoporózy u této etnické skupiny.

II.A.2. VLIV MECHANICKÉHO ZATÍŽENÍ NA STAVBU KOSTI

Kost vytváří mechanickou oporu, která za fyziologických podmínek dosahuje optimálního výsledku za použití nejmenšího možného množství materiálu, vhodně rozloženého v prostoru. Organismus se přizpůsobuje typickým mechanickým podnětům, které na něj působí, a poskytuje vyšší odolnost kostí vůči mechanickým vlivům, než je nezbytně nutné, ponechává si určitou rezervu [75]. Mechanické zatížení způsobuje deformaci kosti včetně buněk a změnu napětí. Teorie kostního mechanostatu [75, 76] vysvětluje proces ovlivnění remodelace mechanickými podněty. Předpokládá se, že osteocyty jsou hlavními buňkami, které registrují mechanické signály. Informace si pak mohou předávat prostřednictvím spojení svých výběžků [167]. Mechanické zatížení způsobuje vznik elektrického proudu, pravděpodobně změnou koncentrace iontů v extracelulární kostní tekutině způsobenou otevřením mechanosenzitivních kanálů (kalciové, draslíkové a sodíkové). Velikost proudu je závislá na dávce zatížení. Dochází též k proudění kostní extracelulární tekutiny. Osteocyty se aktivně podílejí na změnách elektrického napětí a udržují koncentraci iontů v této tekutině odlišnou od koncentrace iontů v systémové a perivaskulární extracelulární tekutině [191].Uvažuje se o existenci stupňovitě uspořádaných „hranic zatížení". Frost [72, 75] udává mechanickou deformaci kosti působením vnější síly v jednotkách, které nazývá „strain", tedy „deformace, napětí". 10 000 microstrains způsobí zkrácení kosti o 0,1%.

Tabulka č 1. Hranice typů kostní remodelace [podle 75]

HRANICE TYPŮ KOSTNÍ REMODELACE A MECHANICKÉ ODOLNOSTI KOSTI
* Hranice pro převažující odbourávání: 50-100 microstrain; ~1-2 mpa, nebo ~0.1 kg/mm^2 (eventuálně až ~400 microstrain).
* Hranice zvýšené kostní novotvorby: 1000-1500 microstrain; ~20 mpa, nebo ~2 kg/mm^2
* Hranice kumulace mikrofraktur, začíná tvorba vláknité kosti, která nahrazuje kost lamelární: ~3000 microstrain; ~60 mpa, nebo ~6 kg/mm^2.
* Hranice mechanické odolnosti kosti: ~25,000 microstrain u mladých dospělých savců (více během růstu, méně u stárnoucích dospělých); ~120 mpa nebo ~12 kg/mm^2 u kortikální kosti zdravých mladých dospělých savců.

Pokud se frekvence a intenzita zatížení pohybují pod nejnižší hranicí, převažuje odbourávání nad novotvorbou. Pokud intenzita a frekvence zatížení překročí tuto první hranici, vyrovnávají se oba procesy, je udržováno stabilní množství kostní hmoty. Překročení další hranice je nutné k převážení procesu novotvorby. Intenzivní mechanické podněty způsobují mikrofraktury ve struktuře kosti. Předpokládá se existence hranice, za kterou již není kost schopna tyto kumulující se zlomy reparovat a může dojít ke vzniku únavové zlomeniny (např. tzv. „pochodové zlomeniny" v oblasti metatarzů). Poslední hranicí je hranice prosté mechanické odolnosti kosti, při jejím překročení se kost láme [75, 76]. Tyto hranice jsou pravděpodobně ovlivňovány jak genetickými faktory, tak působením celkových a lokálních vlivů, např. hormonů, které posunují citlivost homeostatického mechanismu. K projevu dlouhodobých účinků mechanických podnětů o vyšší intenzitě stačí nízká frekvence. Naopak mechanické podněty o nižší intenzitě musí být častější, experimentálně bylo užito dokonce ultrazvuku. Rozhodující je i směr působení zátěže, kterému se přizpůsobuje směr trámčiny, nepotřebná trámčina je postupně odbourána. Patrně proto diafýza dlouhých kostí obsahuje trámčiny jen minimum. V kosti nezatěžované mechanickými podněty masivně ubývá kostní hmoty, ztenčuje se kortikalis, ztenčují se a ubývají kostní trámce (plegické končetiny, kosmonauti...). Úbytek kostní hmoty může být výrazný, k úplnému zániku kostní tkáně však nikdy nedojde. U pacientů s dětskou mozkovou obrnou je popisována nízká denzita kostního minerálu. Hmotnost bývá u nich uváděna jako nejlepším předpovědní faktor kostní denzity [105, 106, 253]. Bylo zaznamenáno další snižování denzity kostního minerálu u takto postižených pacientů s rostoucím věkem a postižením. U těchto dětí dále negativně ovlivňuje denzitu kostního minerálu antikonvulzivní léčba.

Naopak dlouhodobá nadměrná zátěž vytrvalostního typu ve spojení s nedostatečnou výživou může vést k úbytku kostní hmoty a poklesu denzity kostního minerálu zejména v oblasti páteře („female athlete triad").

Nejvýraznější stimulační účinek na kostní novotvorbu by měly mít **sporty** s rychle se střídajícím krátkodobým vysokým zatížením, působícím také antigravitačně, jako basketbal, tenis, fotbal, vzpírání („high-impact"sporty). Takovéto sporty zvyšují pevnost kostí. Sporty s nízkým zatížením provozovaným do vyčerpání pevnost kostí nezvýší, např. plavání, vytrvalostní běh [19, 72] nebo jízda na kole. U cyklistů byl zaznamenán dokonce pokles denzity obratlů, patrně v důsledku rozložení zátěže též na horní končetiny. Rozdíl zátěže horních končetin se projeví i na denzitě kostního minerálu, kdy zatížená horní končetina má vyšší denzitu kostního minerálu (např. u tenistů, [19]). Existuje ale též rozdíl v efektu cvičení mezi dětmi a starými lidmi. U dětí je možná kostní novotvorba v rámci růstu. U starých lidí

již tento mechanismus nefunguje ve stejné míře, proto dochází jen k malým změnám denzity kostního minerálu i při výrazném zatížení, pravděpodobně v důsledku poklesu svalové síly a množství svalů. U starých lidí však může cvičení udržet stávající stav a zabránit excesivnímu odbourávání kostní hmoty [73].

Efekt mechanické zátěže se uplatňuje již prenatálně. Plod, jehož intrauterinní vývoj není alterován, se v děloze čile pohybuje. To u kongenitálních poruch kostní výstavby může vést k frakturám již intrauterinně, například u osteogenesis imperfecta. Vrozené neuromuskulární defekty vedou ke snížené denzitě kostního minerálu již perinatálně.

Vzhledem k tomu, že maximum sil působících na skelet je produkováno vedle gravitace zejména působením kosterního svalstva [72], měly by kostní parametry být přizpůsobeny množství svalové hmoty. Svalstvo dokonce působí většími silami na kosti než gravitace. Velmi názorně byl tento vztah demonstrován ve článcích autorů C.M.Neu, F.Rauch (Kinderklinik des Klinikums der Universität zu Köln, Německo), F.Man a E.Schönau (Forschungsinstitut für Kinderernährung, Dortmund, Německo), které představují výsledky studie DONALD (Dortmund Nutritional and Anthropometric Longitudinally Designed). Jedná se o dlouhodobou longitudinální studii, probíhající v německém Dortmundu již od roku 1985. Celá studie se týká zdravotního stavu, antropometrie, složení těla, biochemických parametrů, životního stylu a výživových zvyklostí zdravých německých dětí z cca 500 rodin a taktéž jejich rodičů. Autoři vyšetřili v rámci studie DONALD pomocí pQCT celkem 273 osob ženského pohlaví a 196 osob mužského pohlaví ve věkovém rozmezí 6-40 let. Použili stejný druh přístroje, software a místa měření, při stejných hraničních hodnotách pro rozlišení jednotlivých tkání jako bylo použito i v této disertační práci [160-162, 210-213]. Proto lze srovnat naše výsledky s výsledky studie DONALD.V pQCT studiích proximálního předloktí nalezli utoři studie DONALD významnou závislost mezi plochou průřezu svalovinou předloktí a plochou průřezu kortikalis u dětí a adolescentů. Poměr obou ploch byl relativně fixním poměrem, v malé míře se měnil během puberty [160-162, 211-214]. Dále navrhli postup hodnocení, který vychází z předpokladu, že svalovina by měla být přizpůsobena výšce těla a následně kostní hmota svalovině. V souhlasu s touto teorií je nález závislosti BMD na lean body mass (LBM) jak u premenarcheálních dívek, tak u postmenopauzálních žen.

U postmenopauzálních žen byly změny BMD ve studii van Langendocka et al. závislé na množství tělesného tuku [244]. Tuk je mimo jiné zdrojem estrogenů, které u postmenopauzálních žen s vyšším podílem tělesného tuku udržely větší množství kostní hmoty. Je třeba také uvést, že tělesný tuk je zdrojem dalších působků.

Závislost BMD na (LBM) u dětí 8-16-letých byla nalezena při průřezové studii již z roku 1993 [64]. Další proměnné – věk a výška - se podílely na predikčním modelu již pouze dalšími několika procenty. Hmotnost a FM v této studii již koeficient determinace nezvýšily. Kost se přizpůsobuje mechanickým nárokům daného konkrétního člověka, které mohou být výrazně odlišné od populace považované za referenční. Z teorie mechanostatu vyplývá také fakt, že kosti uzpůsobené velikosti těla budou u malých lidí malé a u vysokých a mohutných taktéž velké a mohutné, a to i v období růstu. Proto při vztažení aktuálně naměřených hodnot k referenčním můžeme dojít k arteficielně patologickému výsledku, který je však pouze technický a nepopisuje skutečný stav věci.

Mohou tedy obecně nastat celkem 3 stavy s nízkou denzitou kostního minerálu [72]:

1. **fyziologicky nízká denzita kostního minerálu** u chronické svalové slabosti a/nebo imobilizace z různých důvodů – postižení svalů s paralýzou, svalovou slabostí, poruchy neuromuskulární, chronická onemocnění poutající pacienta na lůžko… V důsledku nedostatku podnětů převáží odbourávání nad novotvorbou kosti. Při takovýchto stavech pouze trauma způsobuje frakturu, zpravidla jde o pády.
2. **skutečný nedostatek kostního minerálu – patologicky nízká denzita kostního minerálu** – s rozpojením odbourávání a novotvorby. Dochází k excesivním mikrofrakturám a zlomeninám zejména hrudních a bederních obratlů, které doprovázejí nejen pády, ale i běžné aktivity. S tímto typem se můžeme setkat například u idiopatické juvenilní osteoporózy, hypofosfatázie, osteogenesis imperfecta.
3. **„smíšený typ“**

Bylo by tedy vhodné při hodnocení denzity kostního minerálu brát v úvahu výšku pacienta, množství svalové hmoty, hmotnost, svalovou sílu, u dětí také nejlépe kostní věk a pubertální stadium, vzhledem k výrazným změnám během růstu a pubertálního zrání. Pouhé měření BMD nedokáže odlišit jednotlivé typy „osteopenií“.

II.A.3 VLIV VÝŽIVY NA STAVBU KOSTI

Organismus musí mít dostatek energie a materiálu k výstavbě, nezbytný je přísun dostatečného množství **bílkovin, vápníku, vitamínů (C, D, K). Vitamín D** je tvořen u zdravých lidí z větší části endogenně v kůži (podrobněji viz další kapitola). Metabolismus **vápníku a fosforu** jsou vzájemně neoddělitelně spjaty. Skelet je zásobárnou obou těchto prvků.

II.A.3.1 Vápník

99% množství kalcia v organismu je uloženo v kostech a zubech a jen 1% v tělních tekutinách, extracelulárně v 1000x vyšší koncentraci než intracelulárně. 1% skeletálního vápníku je volně směnitelné s extracelulární tekutinou. V séru je 50% ionizováno, 10% je ve formě anorganických komplexů a 40% kalcia je vázáno na proteiny, zejména albumin [25]. Tato vazba je karboxylová, citlivá na pH, takže při acidóze dochází ke vzestupu hladiny ionizovaného vápníku. V organismu má vápník úlohu v procesu změn polarizace membrány a jako druhý posel při uvolňování sekrečních produktů, včetně neurotransmiterů. Dále se účastní procesů hemokoagulace. Stabilní hladina vápníku v tělních tekutinách je tedy klíčová pro funkci organismu.

Z potravy je vápník vstřebáván v tenkém střevě a céku následujícími způsoby:

1) aktivně transepiteliálně skrz enterocyty. Projde nejdříve apikální membránou specifickým kalciovým kanálem. V cytoplazmě se naváže na kalbindin (protein závislý na vitamínu D). Bazolaterální membránou prochází za pomoci ATP-dependentní pumpy. Tento mechanismus se uplatňuje zejména v duodenu a horní části jejuna, je saturabilní.

2) nesaturovatelným procesem difúze paracelulárně.

Vstřebávání ve střevě podporuje pouze kalcitriol. S věkem klesá schopnost střevní sliznice vstřebávat vápník.

Vápník je vylučován ledvinami. 98% filtrovaného kalcia se v tubulech vstřebává zpět paracelulárně a transcelulárně dle koncentračního a chemického gradientu, aktivně Mg-dependentní ATP-ázou. V Henleově kličce vstřebávání závisí též na napětí generovaném Na-K-2Cl pumpou [25].

Vstřebávání zvyšuje parathormon ve fyziologických sérových koncentracích, kalcitonin ve fyziologických sérových koncentracích, vzestup hladiny fosfátů v krvi, thiazidová diuretika (díky hyperpolarizaci buněčné membrány v distálním kanálku při potlačení transportu Na-

Cl). Vstřebávání vápníku snižuje nedostatek kalcitriolu, nadbytek fosforu, hyperkalcemie, suprafyziologické dávky kalcitoninu, glukokortikoidy, saluretika, zvýšený přísun proteinů, zejména bohatých na sirné aminokyseliny cystein a methionin [25].

Některé epidemiologické studie zjistily vyšší prevalenci osteoporózy v oblastech s extrémně nízkým obsahem kalcia v dietě. Postmenopauzální kostní denzita korelovala v jedné studii s množstvím mléka konzumovaného v dětství a adolescenci. Přírůstky BMD ve třetí dekádě byly nízké až negativní u subjektů s velmi nízkým denním příjmem vápníku a vysoké (až +16%) u pacientů s vysokým příjmem Ca 2100mg/den [19, 180]. Zda efekt krátkodobého vyššího příjmu vápníku na eventuální vyšší kostní denzitu přetrvává i po vysazení suplementace, není zcela jasné. Efekt příjmu vápníku pravděpodobně není stejný na všechny části skeletu. Wang et al. [250] popisují nejsilnější asociaci s denzitou celotělovou a denzitou páteře a největší efekt v období střední puberty. Množství vápníku dostupného pro využití v kostním metabolismu závisí nejen na jeho příjmu, ale i vstřebávání a exkreci. Na každých 2300mg vyloučeného sodíku je obligátní ztráta cca 80mg kalcia. Proto potraviny s vysokou náloží sodíku mohou mít nepříznivý vliv na kostní metabolismus [19].

Tabulka č.2 Denní potřeba vápníku [podle 25 – str.42 a 235 – str.84]

KATEGORIE	MNOŽSTVÍ VÁPNÍKU (mg/den)
Kojenec – prvních 6 měsíců	400
Kojenec – 7.-12.měsíc	600
Batolata a předškoláci	800
Mladší školní věk	800-1200
Starší školní věk a adolescenti	1200-1500
Ženy 25 roků – menopauza, na hormonální substituci po menopauze Muži 25 – 65 roků	1000
Ženy těhotné a kojící	1200-1500
Ženy po menopauze bez hormonální substituce, muži a ženy nad 65 roků	1500

II.A.4.2. Fosfor

85 % fosforu je uloženo ve skeletu. Plazmatický fosfor je z 55% ionizovaný, ze 35% v komplexech, 10% vázán na proteiny [25]. Rozdíl mezi intra- a extracelulární koncentrací není tak markantní jako u vápníku, intracelulárně je koncentrace poloviční než extracelulárně. Přestup přes membrány se děje pasivně, v závislosti na pohybech kationtů. Fosfor se uplatňuje ve stavbě membrán (fosfolipidy), nukleových kyselin, v kofaktorech enzymů, v energeticky bohatých sloučeninách (ATP), v nárazníkových systémech. Je také zapojen do procesů regulace genů, řízení aktivity enzymů a regulace genové exprese. Účastní se udržování acidobazické rovnováhy. Z potravy se vstřebává jednak pasivně difúzí, jednak aktivně Na-dependentním kontransportem, který stimuluje kalcitriol. Bohaté na fosfor jsou zejména mléčné výrobky, obilniny a maso. Vylučován je ledvinami, 80-90% profiltrovaného fosforu se vstřebá saturabilním Na-dependentním kontransportem vyžadujícím energii, protože probíhá proti elektrochemickému gradientu. Zpětné vstřebávání zvyšuje hypofosfatémie, hypokalcémie, akutní metabolická alkalóza a chronická metabolická acidóza. Naopak reabsorpci snižuje vysoký příjem fosforu a jeho vysoká sérová hladina, PTH a PTHrP, fosfatoniny, thiazidová diureika i saluretika.

Vysoký příjem fosforu s nízkým příjmem vápníku vede ke stimulaci tvorby parathormonu (dochází pravděpodobně k tvorbě komplexů s ionizovaným Ca v séru, následný pokles Ca vede ke stimulaci tvorby parathormonu [60]). Při vyváženém poměru příjmu Ca a P (1,5:1) nedochází ke zvýšení kostní resorpce [25].

Z hormonů tedy ovlivňuje sérovou koncentraci fosfátu parathormon, kalcitriol a také skupina faktorů, označovaných jako **fosfatoniny**. Patří mezi ně mimo jiné například fibroblastový růstový faktor 23 (fibroblast growth factor 23 = FGF23). Uplatňují se u hypofosfatemických onemocnění jako tumorem indukovaná osteomalacie a X-vázaná nebo autosomálně dominantně dědičná křivice, ale i za naprosto fyziologických podmínek. Snižují koncentrace fosfátu v extracelulární tekutině přímým snížením reabsorpce fosfátu v ledvinách a snížením produkce kalcitriolu z kalcidiolu inhibicí 1-alfa-hydroxylázy. Role fosfatoninů za normálních a patologických podmínek ale dosud není zcela jasná a je předmětem výzkumu [205, 65].

II.A.3.3. Vitamín K

Vitamín K je kofaktorem gama-karboxylázy, je tedy nezbytný pro karboxylaci některých proteinů organické kostní matrix, zejména osteokalcinu. Zvyšuje pravděpodobně akumulaci osteokalcinu v extracelulární matrix in vitro. Není zcela jasná role osteokalcinu, patrně reguluje růst hydroxyapatitových krystalů. Hydroxylovaný osteokalcin váže ionty kalcia

v molekule hydroxyapatitu [251]. Vitamín K inhibuje diferenciaci osteoklastů, funkci tartarát rezistenstní kyselé fosfatázy a indukuje apoptózu osteoklastů in vitro [116]. Stimuluje tak pravděpodobně kostní formaci a inhibuje kostní resorpci. Ve studii srovnávající biochemické markery kostního metabolismu u premenopauzálních a postmenopauzálních žen vykazovala hladina vitamínu K nejvyšší sensitivitu (64%) a specificitu (82%) při detekci postmenopauzálních žen s osteoporózou a také nejvyšší odds ratio (16,7%) [104]. U dětí dlouhodobě léčených kumarinovými deriváty byla zjištěna nižší denzita kostního minerálu než u zdravých dětí [22]. Podání vitamínu K2 zabránilo poklesu denzity kostního minerálu u pacientů s chronickou glomerulonefritidou léčenou kortikoidy [198].

II.A.3.4. Vitamín C

Vitamín C je nezbytný pro hydroxylaci lysinu a prolinu a tvorbu kolagenních vláken, která jsou složkou organické kostní matrix. U kurdějí byly zjištěny strukturální změny kolagenu, defektní tvorba osteoidu a zvýšená resorpce kosti. RTG zobrazovací vyšetření mohou u kurdějí odhalit například i ložiska osteolýzy a osteonekrózy. Je častá osteoporóza se ztrátou kortikální i trabekulární kosti [62]. U postmenopauzálních žen s vyšším příjmem kalcia byla zjištěna signifikantní závislost mezi příjmem vitamínu C a denzitou kostního minerálu [87].

II.A.3.5. Sodík

Vysoký příjem sodíku a následně jeho zvýšené vylučování vede také ke zvýšenému vylučování vápníku močí, což se v dlouhodobém efektu může negativně projevit na kostním zdraví [144].

II.A.3.6. Hořčík

Hořčík hraje významnou roli v řadě enzymatických systémů. Aktivací ATPázy s následnou hydrolýzou ATP ovlivňuje vlastnosti buněčných membrán. Působí na transport iontů. Kompetitivní inhibicí vstupu kalcia do presynaptické části neuronu ovlivňuje uvolňování neurotransmiterů na nervosvalové ploténce. Rychlý pokles magnezémie vede k vzestupu sérového parathormonu. Vzestup hladiny hořčíku vede ke snížení hladiny parathormonu, účinek je však nižší než účinek kalcemie. Při dlouhodobém deficitu (více než 3 týdny) však dochází ke snížení tvorby adenylátcyklázy (hořčík je jejím kofaktorem). Tím dojde ke snížení produkce parathormonu a vzniká rezistence kostních tkání a ledvinných tubulů na parathormon, což vede k hypokalcemii a hypofosfatemii. Hořčík má přes parathormon

pravděpodobně nepřímo vliv na hydroxylaci vitamínu D, snad i přímo přes 1-alfa-hydroxylázu. Při depleci hořčíku tak může být snížena renální syntéza kalcitriolu [194].

Nízký dlouhodobý příjem hořčíku je pravděpodobně asociován se zvýšeným rizikem osteoporózy [193]. Příjem hořčíku je pozitivně asociován s vyšší denzitou kostního minerálu u 6- a 8-letých dětí [37].

Zdrojem hořčíku je mléko (kravské mléko 12mg/100g, mateřské mléko 4mg/100g), listová zelenina, ořechy, mák, a živočišné bílkoviny. Doporučená dávka je 10mg/kg/den u dětí a 5 mg/kg/den u dospělých. [25, 169]. 30-50% podaného hořčíku je absorbováno v jejunu a ileu aktivně i pasivní difúzí, vstřebávání podporuje vitamín D, zhoršuje vysoká koncentrace vápníku, vysoký podíl bílkovin ve stravě, dále fytáty, oxaláty a fosfáty, které s hořčíkem tvoří nevstřebatelné komplexy. Hořčík je vylučován ledvinami, jeho reabsorbci renálními tubuly snižuje vysoká koncentrace Na, Ca a nízká koncentrace fosfátů v extracelulární tekutině a také kofein, alkohol, některá diuretika, antibiotika a cytostatika [25, 194].

II.A.4 HUMORÁLNÍ REGULACE KOSTNÍHO METABOLISMU

Metabolismus kosti je ovlivňován systémovými a lokálními působky.

Z **hormonů** stojí na prvním místě **růstový hormon**, působící prostřednictvím IGF-I. Lokálně podporuje diferenciaci osteoblastů, urychluje syntézu kolagenu a zpomaluje jeho degradaci. Podporuje proliferaci tkáně v oblasti růstové ploténky bez maturace a v důsledku toho lineární růst postavy. Je nutná permisivní přítomnost **hormonů štítné žlázy**. Růstový hormon podporuje též rozvoj svalové hmoty, která opět vyvíjí síly podporující nárůst kostní hmoty [179]. U obou pohlaví se podílejí na růstu a zrání kostní tkáně **estrogeny**, ve fyziologických koncentracích stimulují proliferaci chondroblastů, při nadměrné hladině ji tlumí. Zvýšené hladiny estrogenů stimulují vyzrávání chrupavky. Estrogeny dále podporují endostální apozici kostní hmoty a pravděpodobně v nižších koncentracích i periostální apozici. Oproti tomu **testosteron** podporuje spíše periostální apozici. Působení je smíšené, aromatázou dochází k přeměně androgenů na estrogeny. U pacientů s rezistencí na estrogeny nebo deficitem aromatázy byla zjištěna nižší kostní denzita [19]. Samotné androgeny nedokáží zajistit pubertální periostální expanzi typickou pro mužský kostní fenotyp, je třeba přítomnosti estrogenů. Ve vysoké koncentraci pravděpodobně vedou estrogeny ke snížení periostální apozice [35].U žen nárůst kostního minerálu endostálně (tedy mechanicky ne optimálně uloženého) vytváří zásobárnu pro období těhotenství a laktace. Uvažuje se o působení estrogenů na řídící mechanismus kostní výstavby a přestavby – „mechanostat" ve smyslu snížení prahu pro apozici kostní hmoty na endostálním povrchu. Během intrauterinního života je plod vystaven vysoké hladině estrogenů, proto jsou endostální povrchy velmi citlivé, plod má úzké dřeňové dutiny. Pokles hladiny estrogenů postnatálně se podílí na fyziologickém úbytku kostní hmoty z endostálního povrchu, ta je nyní považována „mechanostatem" za nadbytečnou, zvětšují se dřeňové dutiny. V prvních 6 měsících dochází k úbytku cca 30% kostní denzity. Současně dochází k rychlému růstu kostí do délky a k mechanicky výhodné apozici v oblasti periostální [179].

II.A.4.1 Parathormon (PTH)

Parathormon je polypeptid tvořený 84 aminokyselinami, vyrábějí ho chromofobní buňky příštitných tělísek, jeho prekurzorem je preparathormon (115 aminokyselin) a proparathormon (90 aminokyselin). Dlouhodobě urychluje kostní resorpci, mobilizuje kalcium a fosfát z kostí. Účinek na osteoklasty je nepřímý, přes osteoblasty na RANKL (viz níže). Intermitentní

podávání malých množství exogenního PTH naopak kostní formaci stimuluje. V ledvinách zvyšuje tubulární reabsorpci vápníku, snižuje renální reabsorpci fosfátů a zvyšuje renální syntézu kacitriolu [25].

Hlavním regulačním mechanismem syntézy a sekrece PTH je plazmatická koncentrace vápníku. Calcium-sensing receptor (CaSR) je velký protein (je složen z 1073 aminokyselin) lokalizovaný v buněčné membráně hlavních buněk příštítných tělísek, zaznamenává koncentraci ionizovaného vápníku v krvi. Její snížení vede k promptní aktivaci signalizační kaskády, vedoucí k uvolnění PTH. Naopak zvýšení koncentrace ionizovaného vápníku rychle tlumí výdej PTH do krevního oběhu. CaSR se uplatňuje i v regulaci syntézy PTH a proliferaci buněk příštítných tělísek [113]. Pokud je hypokalcémie dlouhodobá, tak vede i ke snížení nitrobuněčné degradace PTH, zvýšení exprese genu pro něj a k proliferaci příštitných tělísek. Hyperkalcémie snižuje syntézu a sekreci PTH. Obdobně jako kalcémie působí i hladina kalcitriolu. Vzestup fosfatémie stimuluje expresi genu pro PTH, sekreci PTH a proliferaci buněk příštitných tělísek, ale méně než změny kalcemie.

Intermitentně podávaný parathormon se využívá při léčbě postmenopauzální osteoporózy. Pravděpodobně v tomto režimu inhibuje apoptózu osteoblastů a zvyšuje produkci IGF-I.

Protein příbuzný parathormonu (PTHrP) je produkovaný v řadě tkání fetálních i postnatálně (srdce, kostní dřeň, GIT, ovaria, nadledviny, hypofýza, kůže, svaly, fetální játra, štítná žláza) a také při neoplaziích. Působí na stejné receptory jako parathormon, mimo hypotalamického, s obdobnými účinky, během těhotenství zajišťuje přívod kalcia z těla matky do plodu [25].

II.A.4.2 Kalcitonin

Jedná se o peptid o 32 aminokyselinách, vzniká z prekurzoru o 141 aminokyselinách, je produkován C-buňkami štítné žlázy, v malé míře též pituitárními a neuroendokrinními buňkami. Inhibuje činnost, proliferaci a diferenciaci osteoklastů. Nemění novotvorbu kosti. Snižuje reabsorpci kalcia, fosforu a natria v renálních tubulech, snižuje pankreatickou a žaludeční sekreci. Při vysokém kostním obratu tak může způsobit hypokalcemii a hypofosfatemii. Působí v CNS analgeticky, také vzestupem tvorby beta-endorfinů, poklesem prostaglandinu E a změnami průchodu kalcia membránou neuronů. Jeho poločas je řádově v minutách, je inaktivován v ledvinách, kostní tkáni, játrech a štítné žláze. V malé míře je též vylučován močí [25].

II.A.5.3 Vitamín D

Vitamín D patří mezi vitamíny rozpustné v tucích. Má 2 základní formy – **vitamín D3 - cholekalciferol**, tvořený ze 7-dehydrocholesterolu v epidermis po expozici UV – záření, a **vitamín D2 - ergokalciferol** – ten vzniká UV ozářením z ergosterolu. Maximálního účinku dosáhne UV záření (290-315 nm vlnové délky) u lidí kavkazské populace za 20 minut, kdy dojde k rovnovážnému stavu s rozkladem na neaktivní sloučeniny. Melanin v kůži působí jako přírodní filtr, který soupeří se 7-dehydrocholesterolem o fotony UV záření a prodlužuje dobu do dosažení rovnovážného stavu. Množství 7-dehydrocholesterolu v kůži klesá s věkem. Z kůže se vzniklý vitamin D3 transportuje navázán na plazmatické proteiny do jater, kde je hydroxylován na **25(OH)vitamín D – kalcidiol**. V ledvině pak dochází k další hydroxylaci na **1,25(OH)$_2$ vitamín D – kalcitriol,** tato reakce je regulována parathormonem v závislosti na hladině kalcia v séru [232]. Kalcitriol je degradován v cílových orgánech, zpětnovazebně omezuje svoji produkci. Při perorálním příjmu je z lumen střeva vitamín D transportován pomocí chylomikronů do jater, kde je hydroxylázou přeměňován na 25(OH)vitamín D, v ledvině také dochází k další hydroxylaci na 1,25(OH)$_2$ vitamín D [183]. Mezi významné potravinové zdroje vitamínu D patří rybí tuk, vaječný žloutek, získat jej lze i z některých hub [25]. Normální hladiny 25(OH) vitamínu D se udávají v rozmezí 20-75 ng/ml, přičemž ovšem již při 30-40 ng/ml může dojít k vzestupu sérové koncentrace parathormonu jako příznaku sekundární hyperparathyreózy. Normální hladiny 1,25(OH)$_2$ vitamínu D se pohybují v rozmezí 15-60 pg/ml, tedy tisíckrát nižším, tento produkt je vysoce lipofilní a nestabilní [25, 130].

Postupná přeměna vitamínu D a jeho působení přímo v buňce na transkripci DNA, po navázání na intranukleární receptor, odpovídá steroidním hormonům. Vitamín D snižuje proliferaci a stimuluje diferenciaci buněk, má mírnou imunosupresivní aktivitu. Stimuluje absorpci kalcia a fosforu z potravy v tenkém střevě. Kalcium je resorbováno především v duodenu, fosfor v jejunu a ileu. Data o přímém vlivu kalcitriolu na reabsorpci či exkreci vápníku a fosforu v ledvinných tubulech jsou sporná. Při nedostatečném příjmu kalcia mobilizuje kalcitriol vápník ze skeletu, čehož dosahuje podporou diferenciace kmenových buněk kostní dřeně na osteoklasty [123]. Na zralé osteoklasty pak může působit již jen nepřímo přes působky osteoblastů [130].

Nedostatek vitamínu D vzniká při poklesu syntézy v kůži v důsledku nedostatečného ozáření, při malabsorpci tuků, při antiepileptické terapii (indukce katabolismu), při hyperfosfatemii a hypoparatyreóze, při deficitu enzymů, které jej zpracovávají v organismu (např. 1-alfa-hydroxylázy), zdánlivě při deficitu receptorů. Často se nedostatečný příjem

kombinuje i s nedostatečným příjmem kalcia. Ke klinickým projevům vedle typických změn skeletu při hypomineralizaci - křivice u dětí, osteomalacie u dospělých - patří dráždivost, poruchy spánku, zvýšené pocení, u kojence letargie, stridor, apnoické pauzy, tetanie až křeče, arytmie s prodloužením QT intervalu.

Nadbytek vitamínu D vede k hyperkalcemii, hyperfosfatemii, hyperkalciurii [25]. Vzniká v důsledku intoxikace nebo při granulomatózním onemocnění (podkožní tuková nekróza u novorozence, tuberkulóza, sarkoidóza – aktivované makrofágy mohou nekontrolovaně konvertovat 25(OH) vitamín D na kalcitriol).

II.A.4.4 Růstové faktory

Inzulinu podobné růstové faktory – insulin-like growth factors (IGF) I a II – působí na systémové i lokální úrovni.

IGF-I je produkován systémově (v závislosti na růstovém hormonu) i lokálně (v závislosti na parathormonu a glukokortikoidech). Produkce **IGF-II** je méně závislá na hladině růstového hormonu. Jeho lokální produkce je regulována kostními morfogenetickými proteiny. IGF-I i IGF-II stimulují diferenciaci, proliferaci a aktivitu osteoblastů a tedy i kostní novotvorbu. Inhibují též degradaci kolagenu. Jejich aktivita je ovlivňována jejich vazebnými proteiny. IGF jsou na nich deponovány, přenášeny a tímto způsobem může být prodloužen i jejich biologický poločas [25, 103].

TGF–β, kostní morfogenetické proteiny, fibroblastové růstové faktory – stimulují kostní novotvorbu.

Destičkový růstový faktor – stimuluje proliferaci osteoblastů, ale zároveň snižuje produkci IGF a zvyšuje kostní resorpci.

Kolonie stimulující faktory (CSF) – zvyšují kostní resorpci stimulací tvorby osteoklastů [25].

II.A.4.5 Systémově podávané kortikoidy

Systémově podávané kortikosteroidy postihují funkci osteoblastů. Interferují s působením $1,25(OH)_2$ – vitamínu D, což vede ke snížení střevní absorpce kalcia. Zvyšují renální exkreci kalcia. Indukují sekundární hyperparathyreoidismus. Zvyšují resorpci kosti činností osteoklastů (produkce interleukinu 1) [25]. Indukují hypogonadismus [171]. Působení kortikoidů vede k nízkému obratu s redukcí kostní novotvorby a tloušťky kostních trámců. Největší efekt je během prvních měsíců léčby, zejména na těla obratlů, kde převažuje trámčitá kost, rychle reagující vzhledem k obrovskému aktivnímu povrchu. Verdi et al. [248]

publikovali histomorfometrickou studii kortikalis hřebene kyčelní kosti od pacientů s různými chorobami léčených systémově podávanými kortikosteroidy. Zjistili zvýšenou porozitu kortikalis a vyšší počet Haverských kanálků, i když tyto nebyly širší než u kontrol. Dále zaznamenali zpomalenou kostní novotvorbu, zpomalené ukládání kostního minerálu, tenčí stěnu osteonu a tendenci k nižšímu počtu Haverských kanálků s erodovaným povrchem. Nebyla zaznamenána tenčí kortikalis. Tyto nálezy svědčí pro zpomalenou kostní remodelaci při dlouhodobém systémovém podávání kortikosteroidů.

Efekt je závislý na dávce, riziko kortikoidy indukované osteoporózy se zvyšuje dle některých autorů po překročení dávky např. prednisonu 7,5mg/den a celoživotní dávky 5g, nebo délky podávání 12 měsíců u dětí a mladých dospělých [198]. Foster et al. [70] zjistili v průřezové studii s 52 dětmi a adolescenty užívajícími systémové kortikoidy (vs.259 kontrol) obezitu v 41% a relativně nízkou apendikulární LBM. Výška byla normální (pravděpodobně v důsledku efektu zvýšeného BMI, který vyvažoval kortikoidy indukovanou růstovou retardaci).

Pacienti léčení systémově kortikosteroidy mají vyšší riziko osteoporotických fraktur. Novější pozorování potvrdila zvýšenou incidenci fraktur u pacientů léčených systémově podávanými kortikosteroidy, zejména v oblasti páteře (až 5x vyšší riziko), u 30-50% dospělých pacientů rychlý pokles denzity kostního minerálu během několika měsíců po započetí terapie.

Efekt inhalačních kortikosteroidů není zcela jasný, zdá se, že v nízkých dávkách nemají žádný efekt na kostní denzitu a kostní obrat, ve středních a vysokých dávkách mohou mít negativní efekt na kostní denzitu [156]. Proto jsou u pacientů užívajících střední a vyšší dávky inhalačních kortikosteroidů vhodná preventivní opatření. Mezi tato opatření patří i suplementace Ca a vit.D. Při vysokém dávkování celkově podávaných kortikoidů lze doporučit DXA vyšetření. Výsledek pomůže v rozhodování, zda jsou vhodná agresivnější opatření k ochraně kostního zdraví [223].

II.A.4.6 Zánět:

Zánětlivé cytokiny – zejména IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-11, IL-17, TNF- α a β, TGF- α (transforming growth factor), epidermální růstový faktor, prostaglandin E2 - působí na kost **jak místně, tak celkově**. Lokálně mohou přispívat například k periartikulární osteopenii u revmatoidní arthritidy. Místní nebo celková ztráta kostní hmoty je popisována u chronických infekcí, leukémie, autoimunitních a alergických onemocnění, u zánětlivého postižení kloubů.

Zásadním poznatkem je objevení interakce mezi osteoblasty, osteoklasty a imunitním systémem. Osteoblasty exprimují povrchovou ligandu **RANKL** (receptor activator of NF κB

ligand), patřící do rodiny TNF receptorů, která se může vázat k prekurzorům osteoklastů **RANK** (receptor activator of NF κB) nebo k solubilnímu receptoru nazvanému **osteoprotegerin** (OPG)[197]. Spojení RANK a RANKL indukuje kaskádu, která vede k diferenciaci a zrání osteoklastů. OPG blokuje tuto interakci a tím i tvorbu osteoklastů. RANKL je též regulátorem interakce T-lymfocytů a dendritických buněk a je klíčovým faktorem v časném vývoji lymfocytů a organogenezi lymfatických uzlin. Myši s defektem RANKL genu nejsou schopny podporovat diferenciaci osteoklastů, proto se u nich vyvíjí těžká osteopetróza, nedochází u nich k remodelaci kostí a nevyvíjejí se lymfatické uzliny. Tato liganda se zdá být nezbytná pro vývoj osteoklastů, protože u myší s tímto defektem se nachází dostatek prekurzorů osteoklastů. Naopak u myší s deficiencí OPG se vyvíjí těžká časná osteoporóza s vysokou frekvencí fraktur, včetně fraktur obratlových těl.Vyvíjí se u nich též časná kalcifikace aorty a renálních arterií. RANKL-OPG systém může být výslednou společnou cestou pro řadu agens ovlivňujících kostní metabolismus. Například 17β-estradiol zvyšuje OPG a inhibuje RANKL, tudíž vede ke sníženému doplňování osteoklastů, zatímco dexametazon, PTH, PGE2 a 1α,25-$(OH)_2$D3 stimulují expresi RANKL, ale inhibují produkci OPG, což vede ke zvýšení funkce osteoklastů. Aktivované T-lymfocyty přímo spouštějí osteoklastogenezi přes RANKL, což vede ke ztrátě kostní hmoty [13]. Tento systém může být významným spojením mezi systémovým či slizničním zánětem a alterovaným kostním metabolismem.

II.A.5 METABOLICKÉ OSTEOPATIE

II.A.5.1 Definice pojmů

Základní determinantou pevnosti kostí je množství kostní hmoty. Ke snížení původně normálního množství kostní hmoty může dojít při **nízkém obratu**, kdy je normální stupeň resorpce provázen sníženou formací, nebo při **vysokém obratu**, kdy je zvýšené odbourávání provázeno nedostatečně kompenzatorně zvýšenou novotvorbou. Postmenopauzálně se uplatňuje zpravidla vzorec s vysokým obratem, kortikoidy indukují zpravidla proces s nízkým obratem.

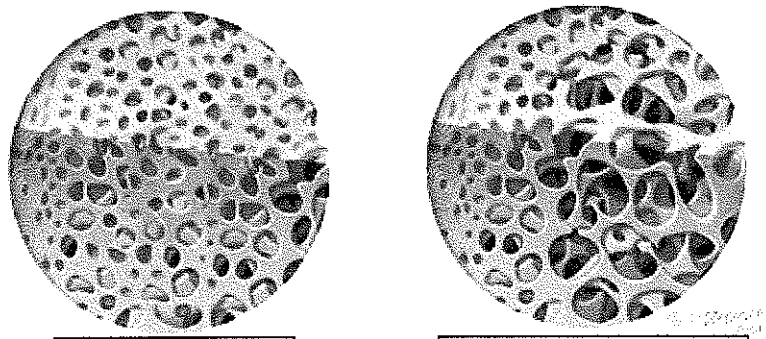
Definice osteoporózy dle WHO: Osteoporóza je systémové onemocnění skeletu charakterizované nízkým množstvím kostní hmoty a změnami mikroarchitektury kostní tkáně, s následným zvýšením kostní fragility a náchylností ke zlomeninám.

Osteopenii lze definovat obecně v širším slova smyslu jako nízkou kostní denzitu obecně, tedy nadřazenou pojmu osteoporóza. V užším slova smyslu jde o nízkou kostní denzitu, která ještě nedosahuje diagnostických kritérií pro osteoporózu. U postmenopauzálních žen se pojem osteopenie běžně užívá. International Society for Clinical Densitometry (ISCD) se v současné době odklání od používání tohoto pojmu v dětském věku a preferuje „below expected range for age (nižší než očekávaná vzhledem k věku)" a „within the expected range for age (v rozmezí hodnot očekávaných vzhledem k věku)" [I-2] .

Osteoporózu provázejí změny mikroarchitektury a zpravidla také snížení kostní denzity. Mikroarchitekturu je obtížné posoudit neinvazivně. Nejpřesnější je kostní biopsie. Při osteoporóze dochází typicky k zúžení kostních trámečků a snížení jejich počtu, to vede ke ztrátě propojení, jež je pravděpodobně ireverzibilní. Dále se ztenčuje kortikalis. Změny mikroarchitektury ale nemusejí vést k redukci kostní denzity. Nemusejí také postihovat rovnoměrně celý skelet, takže biopsie z různých oblastí skeletu se mohou lišit [I-1, I-4, I-6].

V dětském věku se nepoužívá pojmů osteopenie a osteoporóza. Nelze aplikovat WHO denzitometrickou klasifikaci. ISCD doporučuje u dětí pojmy „below expected range for age (nižší než očekávaná vzhledem k věku)" při Z-skóre –2,0 a méně a „within the expected range for age (v rozmezí hodnot očekávaných vzhledem k věku)" při Z-skóre nad –2,0. [I-2]

Obrázek č.3 Schéma rozdílu stavby normální a osteoporotické trabekulární kosti [I-3]



Normální kost | Osteoporotická kost

Podle příčiny lze neadekvátně nízkou denzitu kostního minerálu u dětí rozdělit na **primární a sekundární (Tabulka č.3).**

Primární osteoporóza je u dětí extrémně vzácná záležitost – **idiopatická juvenilní osteoporóza**. Jde o přechodnou poruchu vývoje skeletu nejasného původu, s poklesem počtu remodelačních jednotek a sníženou výstavbou kosti, dochází k prořídnutí kostní trámčiny, s normální tloušťkou kortikalis. Vznikají komprese obratlů a deformity dlouhých kostí, fraktury kostí dolních končetin v oblasti metafýz. Biochemické nálezy jsou necharakteristické, lze nalézt zvýšené odpady pyridinolinu, deoxypyridinolinu a kalcia do moči, klesá sekrece parathormonu. Specifická terapie neexistuje, i když byly zkoušeny např. bisfosfonáty. Vhodné je užití ortopedických pomůcek. Prognóza je zpravidla dobrá, spontánně choroba odeznívá koncem puberty [25].

Většina stavů s nepřiměřeně nízkou denzitou kostního minerálu u dětí je **sekundárních**. Uplatňovat se může řada vlivů. Při léčbě je třeba především odstranit příčinu.

Osteoporóza je pojmem odlišným od **osteomalacie**, která se vyznačuje defektem mineralizace již vytvořeného osteoidu. Postihuje skelet po ukončení růstu a uzavření růstových plotének, **tedy až u dospělého**.

Oba stavy nelze odlišit měřením kostní denzity. Zatímco radiologicky lze detekovat u osteoporózy ztenčení kortikalis a prořídnutí kostní trámčiny, u osteomalacie Looserovy zóny přestavby (pseudofraktury) = radiolucentní proužky kolmé na osu dlouhé kosti, zpravidla v místě vstupu arteria nutricia. Biochemicky jsou v séru u osteoporózy koncentrace Ca, fosfátu, ALP a 25(OH) vitamínu D normální, u osteomalacie jsou sérové koncentrace vit. D zpravidla nízké, koncentrace Ca normální nebo nízké, koncentrace fosfátu nízké a

koncentrace ALP normální nebo zvýšené. Spolehlivé rozlišení poskytuje kostní biopsie. Někdy mohou být přítomny oba stavy najednou. Stejný mechanismus jako u osteomalacie se uplatňuje i u křivice [I-6].

Tabulka č.3 Rozdělení stavů s nepřiměřeně nízkou denzitou kostního minerálu u dětí (podle 25)

I. PRIMÁRNÍ	
Idiopatická juvenilní osteoporóza	
II. SEKUNDÁRNÍ	
Nutriční karence a onemocnění gastrointestinálního traktu	Malabsorpce (včetně léčené celiakie) Idiopatické střevní záněty Cystická fibróza Mentální anorexie Hepatobiliární onemocnění Dlouhodobá totální parenterální výživa
Genetické příčiny	Osteogenesis imperfecta Osteoporóza s pseudogliomem Mukopolysacharidózy Glykogenózy Lipidózy Poruchy metabolismu aminokyselin Hypofosfatázie Marfanův syndrom Ehlers-Danlosův syndrom
Endokrinopatie	Diabetes mellitus I.typu Hypogonadismus Poruchy funkce thyroidey Hyperparathyreóza Deficit růstového hormonu Hypopituitarismus Morbus Cushing
Renální onemocnění	Chronické renální selhání Renální tubulární acidóza

Tumory a hematopoetické poruchy	Leukemie a lymfomy Srpkovitá anémie a thalassemia minor
Účinky farmak	Kortikoidy Antikonvulziva Imunosupresiva
Nepřiměřená mechanická zátěž	Imobilizace Extrémní fyzická zátěž
Smíšené	Juvenilní chronická arthritida

Tabulka č.4 (podle 27)

FAKTORY ZPŮSOBUJÍCÍ SEKUNDÁRNÍ ZTRÁTU KOSTNÍ HMOTY	
Genetické faktory	Defekty v syntéze kolagenu nebo jeho struktuře Idiopatická hyperkalciurie
Nutriční	Nízký příjem kalcia Deficience vitamínu D Malabsorpce
Léky	Systémová terapie glukokortikoidy Antikonvulziva Heparin
Životní styl	Imobilizace Kouření Alkohol
Endokrinní/metabolické	Hypogonadismus Časná menopauza nebo prolongovaný hypoestrogenismus Exces kortikoidů Hyperparathyreóza Hyperthyreóza Diabetes mellitus Renální insuficience
Jiné	Myelom, malignita

Další skupinu metabolických onemocnění skeletu představuje křivice.

Křivice (rachitida) je generalizované onemocnění skeletu s nedostatečnou mineralizací kostí, vedoucí k hromadění nemineralizované osteoidní tkáně. Postihuje rostoucí skelet, projevuje se tedy i postižením růstové ploténky. Z typických klinických příznaků je popisováno mimo jiné zduření kostochondrálních spojení, prominence sterna, vpáčení dolních žeber při úponu bránice, kyfoskolióza, bolesti dolních končetin, zakřivení a deformace dlouhých kostí, opožděná dentice s nekvalitní sklovinou, u kojenců i tetanie s křečemi, apnoickými pauzami a stridorem. Z laboratorních nálezů může být přítomna hypokalcemie, zvýšená aktivita alkalické fosfatázy, pokles fosfatemie v důsledku sekundární hyperparathyreózy. Typické RTG změny (konvenčně snímek levého zápěstí) zahrnují nepravidelnou osifikaci, prořídlou trámčinu, rachitické pohárky v oblasti zón provizorního zvápenatění. Existuje řada typů získaných a vrozených rachitid. Základní dělení z biochemického hlediska je na **hypokalcemické** a **hypofosfatemické**, z genetického hlediska na **vrozené** a **získané** [25].

II.A.5.2 Prevence a léčba metabolických osteopatií

Obecná opatření - výživa, dostatek energie, bílkovin, vápníku a dalších minerálů v určitém poměru, dostatek vitamínů (C, D, K) a pohyb - jsou obecně aplikovatelné terapeuticky i preventivně. Nejen u nemocných, ale i u zdravých by měla být samozřejmostí.

Pro léčbu dospělých pacientů standardně nebo experimentálně existuje celá škála přípravků pro léčbu osteoporózy (**Tabulka č.6**). Velkou část z nich však není vůbec možno použít u dětí (teriparatide, estrogeny, androgeny, anabolické steroidy, selektivní modulátory estrogenových a androgenových receptorů, stroncium), nebo v dětském věku nejsou standardní léčbou (bisfosfonáty), nebo nízká BMD není indikací k jejich podání, používají se v jiných indikacích (diuretika, růstový hormon, natrium fluorid).

Tabulka č.6 Přípravky pro prevenci a léčbu metabolických osteopatií

Skupina přípravků	
Vitamín D	Vitamín D3 – cholekalciferol, vitamín - D2 – ergokalciferol, 1-alfa-hydroxyvitamín D3 – alfakalcidiol, 1,25(OH)2 vitamín D3 – kalcitriol, dihydrotachysterol
Hormony	Růstový hormon Kalcitonin Rekombinantní lidský parathormon – teriparatide Anabolické steroidy Estrogeny Androgeny Selektivní modulátory estrogenových a androgenových receptorů
Antiresorptivní léky	Natrium fluorid Stroncium Bisfosfonáty
Diuretika	Furosemid, hydrochlorothiazid
Výzkumné	Denosumab (protilátka proti RANKL) Transplantace kostní dřeně, tkáňově specifická genová terapie…

II.B PŘEHLED VYŠETŘOVACÍCH METOD KOSTNÍHO METABOLISMU A SLOŽENÍ TĚLA

II.B.1 PŘEHLED METOD MĚŘENÍ DENZITY KOSTNÍHO MINERÁLU

Diagnóza osteopenie či osteoporózy se v praxi opírá o měření kostní denzity.

Techniky měření kostní denzity jsou založeny na schopnosti kosti blokovat přenos energie. V kostní denzitometrii se používají zejména 2 fyzikální formy energie: ionizující záření a ultrazvuk. Jiné metody využívají například magnetické pole.

II.B.1.1 Metody využívající ionizující záření

II.B.1.1.1 Fotonová absorpciometrie je založena na zjištění úbytku fotonů po průchodu tkání a poskytuje obdobně jako konvenční RTG snímek projekci do plochy. Fotony, které prošly tkání, jsou detekovány. Tkáň o vyšším obsahu minerálů a tedy i vyšší denzitě zachytí více fotonů [25].

a) SPA = single photon absorptiometry je založena na absorpci fotonů o jedné energetické hladině. Používala radionuklidový zdroj (jód-125), ale vyžadovala pravidelnou výměnu zdroje a některé přístroje i ponoření části těla do vody. Byla využívána k periferním měřením, udávala množství minerálu na jednotku délky kosti (g/cm) nebo plochy projekce (g/cm^2).

b) DPA = dual-photon absorptiometry – založená na absorpci fotonů o dvou energiích zdrojem záření bylo gadolinium-153, zdroj bylo nutno měnit, poskytovala nízké rozlišení a reproducibilitu obrazu. Udávala celkový obsah minerálu v g, obsah minerálu na délku měřené kosti (g/cm) nebo na plochu, do které se promítá (g/cm^2). Byla nahrazena DXA.

SPA i DPA jsou nyní již obsolentní metody.

II.B.1.1.2 Konvenční RTG snímky jsou málo citlivé ke změnám kostní denzity. Jsou však důležité k identifikaci fraktur, zejména osteoporotických fraktur obratlových těl a při stanovení kostního věku (distální část levého předloktí a ruka).

II.B.1.1.3 Digitální radiogrammetrie (DXR) – používá snímek nedominantního zápěstí a ruky, který je digitálně vyhodnocen. Vypočítává se kostní denzita trabekulárních kompartmentů proximálního radia, ulny a 2.-4. metakarpu. Efektivní dávka je nízká, jen na oblast periferního skeletu. Ten samý snímek, který je využit ke zjištění kostního věku, může

být pak podkladem pro DXR. V porovnání s DXA je vyšetření pro pacienta krátké, v menší míře zatíženo pohybovými artefakty a tloušťkou měkkých tkání. Tato metoda je zatím málo rozšířena. Jejím předchůdcem je **radiogrammetrie** s manuálním měřením tloušťky kortikalis na RTG snímku ruky pomocí kaliperu.

II.B.1.1.4 Rentgenová absorpciometrie – je založena na měření absorpce X - paprsků po průchodu tkání, s projekcí do plochy. Je opět v podstatě vytvořen jakoby RTG obraz buď celého těla nebo jeho části.

a) SXA – single-energy X-ray absorptiometry - rentgenová absorpciometrie využívající RTG záření o jedné energetické hladině – používala se k měření periferního skeletu. **Nyní je již obsolentní.**

b) DXA = dual-energy X-ray absorptiometry - dvouenergiová rentgenová absorpciometrie – ISCD doporučuje pro sjednocení nomenklatury zkratku DXA [23], v našich podmínkách byla více rozšířena zkratka DEXA. Produkuje RTG záření o 2 různých energiích.(40 a 70 kV). Kost oslabuje rentgenové paprsky více než měkké tkáně a fotony o nižší energii jsou pohlcovány více než fotony o vyšší energii. Detektor zaznamená oslabení obou záření a spočítá množství měkké tkáně a kostního kalcia v cestě paprsku. Je vytvořen obraz objektu, množství kostního minerálu je vyjádřeno v gramech kalcia. Software identifikuje okraje kostí a vydělením obsahu kostního minerálu (g) plochou (cm^2) získává kostní denzitu v **g/cm^2**. Starší přístroje využívají paprsky generované do tvaru kuželu („pencil beam"). Novější přístroje vytvářejí paprsky vějířovité („fan beam"), a využívají vysoce výkonné elektronky, což zkracuje dobu potřebnou ke zobrazení vybrané oblasti (páteř, kyčel, předloktí i celé tělo). DXA je možno využít též ke zjištění složení těla podle 3-kompartmentového modelu (kost, tuk a měkké tkáně). **DXA je v současnosti zlatým standardem pro měření kostní hmoty.** Radiační zátěž je zlomkem zátěže získané z přirozeného pozadí. Celotělové vyšetření dospělého člověka novějším rychlejším přístrojem trvá cca 5 minut. Pacient však musí setrvat bez pohnutí, malé děti musí být zklidněny. Velké přístroje o rozměrech lůžka s pohyblivým ramenem se využívají k vyšetření páteře, kyčle, celotělovému. Menší, přenosné přístroje byly vyvinuty k měření periferních částí skeletu (předloktí, kalkaneus, články prstů), které však nejsou reprezentativní pro celé tělo. Výsledek měření může být ovlivněn polohováním pacienta, přítomností degenerativních změn, kompresivních fraktur, vaskulárními kalcifikacemi, denzními artefakty (kloubní implantáty, kardiostimulátor, knoflíky, svorky, kontrastní materiál, nerozpuštěné tablety kalcia). Nevýhodou je také obtížnost srovnání výsledků měření mezi různými přístroji. Pacient by měl být opakovaně vyšetřován vždy na tomtéž přístroji.

II.B.1.1.5 QCT = kvantitativní výpočetní tomografie – opět používá RTG záření, celý měřený objekt je rozdělen na malé hranoly (pixel, voxel), každému je přiřazena určitá hustota. Na základě hustoty pak dokáže rozlišit tuk, sval, kost kortikální i trabekulární, určit i plochy průřezu. Unikátní předností je vyjádření skutečné volumetrické kostní denzity - vztažené na objem (**g/cm³** nebo **mg/cm³**). Vyšetření axiálního skeletu je však spojeno s vysokou radiační zátěží pacienta. Byly vyvinuty méně rozměrné přístroje, kterými lze provádět měření na končetinách – **periferní výpočetní tomografie (pQCT)**, čímž se minimalizuje radiační zátěž a zkracuje doba vyšetření. pQCT umožňuje i určení některých mechanických charakteristik kostí, jako **CSMI** (cross-sectional moment of inertia, vyjádřeno v mm^4, $CSMI=\Sigma(P_I-C_I)^2x$ plocha pixelu, kde P_I je pozice pixelu I, C_I je pozice centrálního pixelu), **BSI_{CSMI}** (**bone strength index**, BSI_{CSMI} = BMD kortikalis x CSMI) a BSI_{CSA} (bone strength index, BSI_{CSA}= BMD kortikalis x CSA kortikalis) [224], **SSI** (**stress strain index**, SSI= Σ[(plocha voxelu x (vzdálenost od centra)²)(BMD voxelu/fyziologická BMD)]/maximální vzdálenost od centra [134]. Tím přechází od popisu materiálu již i k funkčním charakteristikám. Pro vyšetření bioptických vzorků byla vyvinuta **výpočetní mikrotomografie (microcomputed tomography – µCT)** [249].

Zajímavý je vývoj periferní kvantitativní počítačové tomografie, která nevznikla jako odnož QCT metody vyvinuté Hounsfieldem, ale samostatně jako německá „specialita", jejíž počátky se datují do roku 1969 [208] na univerzitě ve Würzburgu.

II.B.1.1.6 Neutronová aktivační analýza – není rozšířena v běžné praxi, používá se pouze experimentálně. Tělo je bombardováno neutrony, stabilní izotopy kalcia je mohou zachycovat a takto získanou energii opět vyzářit. Vzniká slabá radiace, kterou lze měřit. K vyšetření je potřeba zdroj neutronů a detektor na zachycení záření, mohou mít až rozměry menšího pokoje. Mimo kostní denzity, která je vyjádřena množstvím kalcia v těle, se tato metoda používá i ke zjištění obsahu jiných prvků v celém těle nebo jeho částech, např. sodík, chlor, dusík, těžké kovy [I-7].

II.B.1.2 Metody využívající ultrazvuk

II.B.1.2.1 Ultrasonometrie – je relativně levná, nezatěžuje pacienta zářením, zařízení jsou přenosná. Ultrazvuk však prochází kostí velmi málo, vyšší frekvence jsou oslabovány více než frekvence nižší. Sondy jsou v kontaktu s povrchem těla pomocí gelu nebo vodní lázně. Zařízení jsou uzpůsobena k periferním měřením – kalkaneus, radius, falangy, tibie, protože ultrazvuk špatně prochází hlubokými strukturami a výsledek je ovlivněn okolními měkkými

tkáněmi. Zatímco techniky založené na X paprscích jsou kalibrovány proti obsahu kalcia, není zcela jasno o fyzikálních vlastnostech, které měří kostní ultrasonografie. Hlavními měřenými parametry jsou rychlost průchodu kostní tkání – „velocity of sound" (VOS) nebo „speed of sound" (SOS) v **m/s** a širokopásmové zeslabení ultrazvuku po průchodu kostí – „broadband ultrasound attenuation" (BUA) vyjádřené v **dB/MHz**. VOS závisí na hutnosti tkáně mikrostruktuře a elastických vlastnostech tkáně → zvuk pomaleji prochází porotickou a méně mineralizovanou tkání. BUA - zeslabení energie procházejícího ultrazvuku tkání - je výraznější ve vyšších frekvencích a při průchodu komplexnější strukturou tkáně. Porotická kost zeslabuje tedy ultrazvuk méně nežli normální kost. Závislost na tloušťce tkáně není lineární. Pro nehomogenitu tkáně je důležitá přesnost umístění elektrod, BUAI („broadband ultrasound attenuation imaging") umožňuje vytvoření scanu celé oblasti (např. kalkaneu) s vyznačením BUA a VOS, lze pak vybrat nejvhodnější místo k měření. Výsledky měření pomocí různých přístrojů lze obtížně srovnávat, vzhledem k použití různých frekvencí, sond a šíře paprsku [25]. Tato metoda je v současnosti nevhodná k diagnostice osteopatií u jednotlivých pacientů. Využívá se pouze v epidemiologických studiích.

II.B.1.3 Další metody

II.B.1.3.2 Kvantitativní magnetická rezonance – využívá působení magnetického pole na vodíkové protony a detekuje zpětný signál z tkáně. Poskytuje jen nepřímou informaci o denzitě kostního minerálu, přináší některé poznatky o struktuře trabekulární kosti. Je drahá, snímání složité, nyní je pro denzitometrické účely pouze experimentální. Poskytuje však neocenitelnou službu v anatomických studiích měkkých tkání a zejména centrální nervové soustavy.

II.B.1.4 Radiační zátěž

Expozice ionizujícímu záření může vést k poškození tkání a následně k negativním účinkům na zdraví pacienta ve smyslu zvýšení rizika vzniku malignity a na zdraví budoucích generací ve smyslu teratogenity.

Existuje několik způsobů vyjádření radiační zátěže pacienta po expozici X-paprskům během vyšetření. Za pomoci ionizační komory lze vyjádřit **expozici**, tedy velikost elektrického náboje uvolněného do daného objemu vzduchu v ionizační komoře, jednotkou je **rentgen (R)**, resp. milirentgen (mR). Důležitým údajem je však množství do tkáně **vstřebaného záření**, které se vyjadřuje v násobcích jednotky **gray (Gy)**, resp. miligray (mGy) nebo mikrogray (μGy), **1Gy = 1 joul/kilogram**. V závislosti na energii záření lze přibližně provést převod **10**

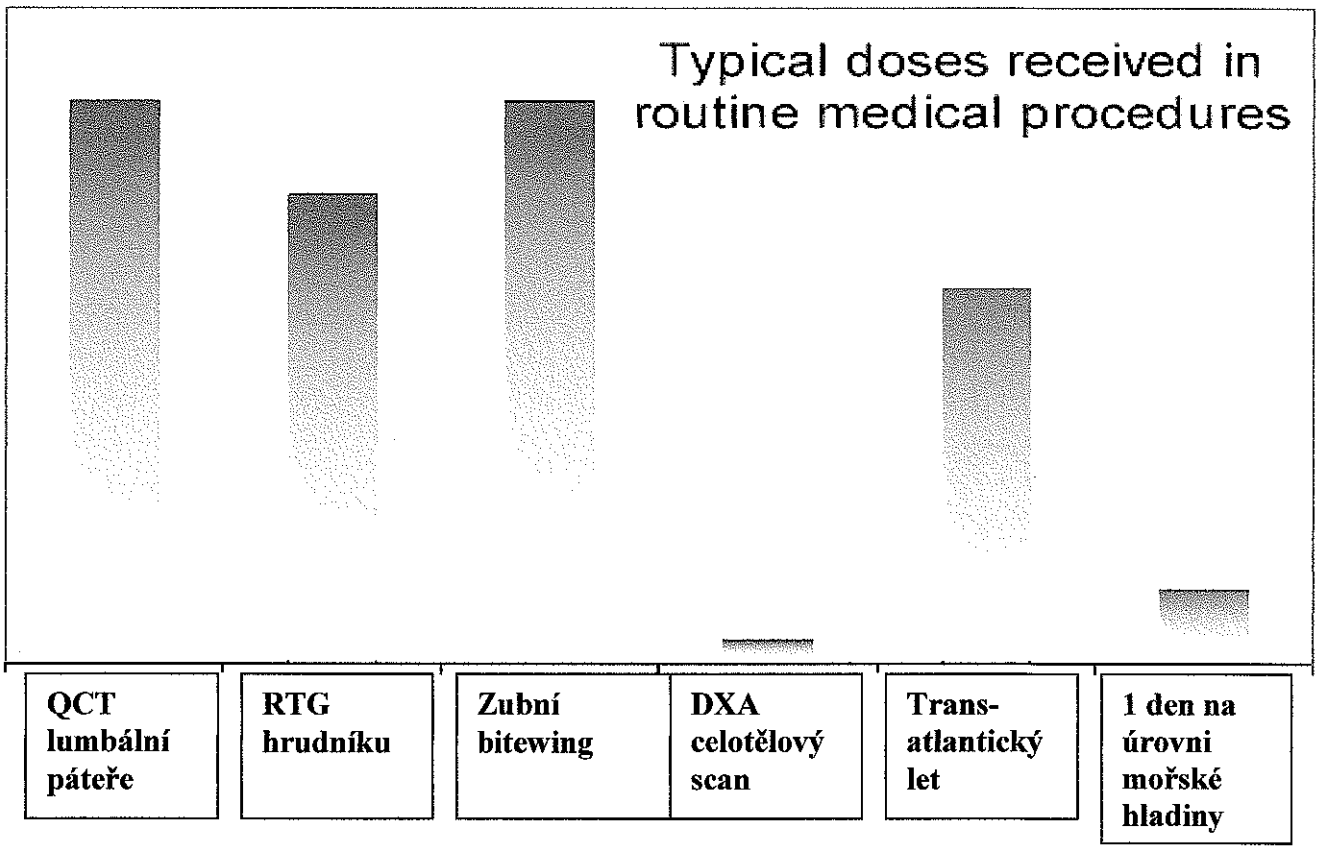
µGy = 1 mR. Nejvyšší je absorbovaná dávka na povrchu a směrem do hloubky klesá, důležitý je přitom faktor kvality záření, tedy jak „pronikavý" je daný typ záření, závisí to na velikosti částic. Biologický efekt absorbované dávky se vyjadřuje jako **dávkový ekvivalent**, kdy se absorbovaná dávka vynásobí faktorem kvality záření, pro X-paprsky = 1. Dávkový ekvivalent se vyjadřuje v **sievertech (Sv)**, respektive v milisievertech (mSv). Pro každý orgán lze zvlášť vypočítat **efektivní dávku**, tu získáme vynásobením dávkového ekvivalentu jakostním faktorem („weighting factor"), který vyjadřuje relativní senzitivitu daného orgánu vůči stochastickým účinkům radiace. Pro celé tělo se suma jakostních faktorů rovná 1. Z toho vyplývá, že efektivní dávka se rovná dávce při celotělovém ozáření, která by přinesla stejné stochastické riziko [31].

Srovnání radiační zátěže z různých, i nemedicínských zdrojů, podávají **Tab.č.6** a **Obr.č.4.** Radiační zátěž při vyšetření DXA a pQCT je velmi nízká, představuje méně než jednu pětinu, respektive méně než jednu pětadvacetinu zátěže RTG snímkem hrudníku v AP projekci.

Tabulka č.6

TYPICKÉ HODNOTY RADIAČNÍ ZÁTĚŽE Z RŮZNÝCH ZDROJŮ [215]	
Zdroj	**Efektivní dávka (µSv)**
Single - Photon Absorptiometry (SPA)	< 1
Dual – Photon Absorptiometry (DPA)	3-5
Dual-energy X-ray Absorptiometry (DXA)	<10
Periferní kvantitativní počítačová tomografie (pQCT)	<2
Kvantitativní počítačová tomografie (QCT)	70-400
Přirozené pozadí za rok	2 400
za den	6,6
RTG bederní páteře	700
RTG hrudníku v AP projekci	50
4- týdenní pobyt ve výšce 2 000m	50
Transatlantický let zpáteční	80

Obrázek č.4 Typické hodnoty radiační zátěže při rutinních vyšetřeních [I-7]



II.B.1.5 Přesnost měření

Přesnost metody měření je determinována srovnáním s hmotností sušiny nebo popela kostních vzorků. Např. pro DXA, dominantní technologii v měření kostní denzity, se udává v poslední době chyba měření 1% [25].

Krátkodobá reproducibilita měření – zjišťuje se na základě opakovaného měření malého vzorku osob v krátkém časovém intervalu. Vyjadřuje se v absolutních (průměr, směrodatná odchylka) nebo relativních hodnotách (variační koeficient). Efektivní hodnoty („root-mean-square") by měly být preferovány před aritmetickým průměrem, aby nebyla podceněna hodnota σ (sigma), vyjadřující chybu Gaussova rozdělení [31].

Dlouhodobá reproducibilita měření – vypočítává se na základě opakovaných měření pacientů v dlouhodobém časovém intervalu, odráží i posuny v hmotnosti pacientů, kalibraci přístroje a technice měření různým personálem. Doporučuje se užití standardní chyby odhadu („standard error of estimation" – SEE), která kvantifikuje variabilitu okolo regresní přímky [31]. Předpokládáme totiž např. u dospělých pacientů pokles kostní minerální denzity v čase, tedy její postupnou změnu.

K hodnocení eventuálních změn v čase je třeba znát chybu přístroje i chybu daného operátora. Doporučuje se výpočet nejmenší významné změny (least significant change = LSC) pro daný přístroj, operátora a dané místo skeletu, zpravidla pro 95% hladinu spolehlivosti.

LSC = 2,77 x chyba měření

Výpočet je založený na opakovaném měření skupiny pacientů, buď 30 pacientů 2x, nebo 15 pacientů 4x [236]. Je doporučeno vyjádřit tuto změnu nikoli v procentech, ale v g/cm². Interval vyšetření je pak vhodné přizpůsobit očekávané změně, aby nebyla menší než LSC.

Khan et al. referují o reproducibilitě 1,8 – 2,3% pro lumbální obratle, 2,3 – 3,6% pro krček femuru a 1,7 – 2,5% pro celou kyčel [121].U QCT bederní páteře se koeficient variance pohybuje okolo 1-4%, u pQCT 1-2%, periferní DXA okolo 1% [236].

Měření může být ovlivněno též polohováním pacienta, přítomností degenerativních změn, kompresivních fraktur, vaskulárními kalcifikacemi, denzními artefakty (knoflíky, svorky, kontrastní materiál, nerozpuštěné tablety kalcia, u pacientů s CF například centrální žilní katétr).

Nevýhodou je také obtížnost srovnání výsledků měření mezi různými přístroji. Pacient by měl být longitudinálně sledován na stále stejném přístroji bez podstatnějších změn hardware a software.

II.B.2 KLINICKÉ VYUŽITÍ KOSTNÍ DENZITOMETRIE

Měření kostní denzity by mělo být prováděno pouze za předpokladu, že ovlivní další terapeutický postup [121].

Mezinárodní společnost pro klinickou denzitometrii doporučuje jako „zlatý standard" pro měření kostní denzity DXA. Z lokalizací je doporučována lumbální páteř v anterioposteriorní projekci, krček femuru, celá kyčel, trochanter nebo oblast 33% délky radia, i když periferní měření by se nemělo používat v klinické praxi, dokud nebudou ustanoveny referenční hodnoty. U premenopauzálních žen a u mužů nelze stanovit diagnózu osteoporózy pouze na základě denzitometrického vyšetření [137].

Kvantitativní CT ve srovnání s předchozí metodou pacienta zatíží značně více ionizujícím zářením. pQCT není běžně dostupné. PQCT byla shledána i sensitivnější metodou k hodnocení variability obsahu kalcia než DXA při pokusech s kadaverózními kostmi [210], poskytovala srovnatelný odhad mechanické odolnosti a rizika fraktury jako DXA [111].

SPA, DPA, SXA jsou zastaralé, nyní již neužívané. Prostý RTG snímek je vhodný spíše k detekci fraktur, je málo citlivý. Neutronová aktivační analýza a MRI pro kostní denzitometrii jsou záležitostí experimentální. Digitální radiogrammetrie je zatím nedostupná, její význam není dosud přesně určen.

Samotná absolutní hodnota kostní denzity nemá velký význam, je třeba získanou hodnotu srovnat s referenční populací. Protože kostní denzita v populaci má Gaussovo rozdělení, výsledek se vyjadřuje jako násobek směrodatných odchylek, o který se odlišuje od průměru.

Z-skóre je srovnáním s populací stejného věku a pohlaví.

Z-skóre = [hodnota naměřená u pacienta – průměr skupiny stejného věku a pohlaví]/směrodatná odchylka

T-skóre je srovnáním s „mladými dospělými" téhož pohlaví – kteří tedy dosáhli maximální kostní hmoty (20-29let).

T-skóre = [hodnota naměřená u pacienta – průměr skupiny mladých dospělých stejného pohlaví]/směrodatná odchylka

Diagnostická kritéria pro osteoporózu WHO definuje na základě T-skóre. Původně byla však míněna pro epidemiologické studie a doporučení se týkala pouze postmenopauzálních žen kavkazské rasy. Proto extrapolace na jiné skupiny není bez rizika.

Existují i rozdíly mezi referenčními populacemi, použitými v softwaru přístrojů různých firem. Toto zjištění vedlo ke snahám o vytvoření nezávislých referenčních souborů, např.pro oblast kyčle byla vytvořena normativní data prostřednictvím National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), nicméně pro jiné oblasti nejsou dosud k dispozici [63]. Místo měření ovlivňuje výsledek, Z-skóre pro apendikulární a axiální skelet spolu mohou korelovat jen málo [203], navíc medikace a onemocnění může v různé míře postihovat složky skeletu a části těla, což zdůrazňují např. Shore et al. ve studii zabývající se kostní denzitou u X-vázané hypofosfatémie [204]. I u celkových stavů jsou axiální a končetinový skelet ovlivněny v různé míře v různém časovém horizontu. Například věkový pokles kostní denzity je nejmarkantnější v oblasti lumbálních obratlů, průměrná žena překračuje hranici QCT T-skóre -2,5 v oblasti lumbálních obratlů v 61 letech, ale při ultrazvuku kalkaneu až v cca 100 letech.

Tabulka č.7

DIAGNOSTICKÉ KATEGORIE DENZITY KOSTNÍHO MINERÁLU DLE WHO	
Normální	Hodnota BMD nebo BMC <1 SD pod průměrnou hodnotu mladých dospělých (T skóre >–1)
Osteopenie (nízká kostní hmota)	Hodnota BMD nebo BMC více než 1 SD pod průměrnou hodnotu u mladých dospělých, ale ne více než 2.5 SD (T skóre –1 až –2.5)
Osteoporóza	Hodnota BMD nebo BMC více než 2.5 SD pod průměrnou hodnotu u mladých dospělých (T skóre <–2.5)
Závažná osteoporóza	Patologické fraktury a hodnota BMD nebo BMC více než 2.5 SD pod průměrnou hodnotu u mladých dospělých (T skóre <–2.5)

Výběr vhodné **referenční populace** je nezbytný. Etnický původ pacienta je důležitým hlediskem, nicméně geografická šířka se nezdá být zásadní. Je popisována vyšší kostní denzita u populace černé pleti než u populace evropského původu, která má mít vyšší denzitu než asijská populace. Tato zjištění jsou přisuzována větší svalové hmotě u černochů [159] a malé výšce postavy u Asiatů.

Denzita kostního minerálu je však pouze jedna z charakteristik kosti jako orgánu. Neméně důležitá je její architektura. Proto někteří autoři navrhují **mechanické modely** k hodnocení mechanické odolnosti kostí z jejich rozměrů [66], které však zatím do klinické praxe nepronikly. Cenným vyšetřením k odhadu mechanických vlastností periferního skeletu je **pQCT**, které pomocí indexů založených na denzitě a plochách průřezu kosti umožňují odhad mechanické odolnosti kosti [134, 224]. Některé ultrasonometrické přístroje pracují s tzv.

„stiffness indexem“jako empirickým měřítkem kostní kvality, který je vypočítán matematicky z BUA a VOS, není biomechanickou veličinou [25].

Pro monitorování účinků léčby je důležitá **změna kostní denzity** v čase, srovnání této změny s očekávanou nejmenší významnou změnou pro daný přístroj a operátora.

II.B.3 KOSTNÍ DENZITOMETRIE U DĚTÍ

II.B.3.1 Metody a lokalizace

U dětí nelze použít T-skóre, neboť by se jednalo o porovnání s dospělými referenčními hodnotami [72, 75, 77, 160 – 162, 178, 211 - 215]. Musí se používat **Z-skóre,** které srovnává pacienta se stejnou skupinou dle věku a pohlaví. Při dynamickém růstu dětského organismu by porovnávání získaných hodnot jinak než s průměrnou zdravou populací téhož věku a pohlaví bylo více než zavádějící. Normální hodnoty Z-skóre, které vycházejí z Gaussovy křivky, se pohybují v rozmezí –2 až +2, i když hodnoty mezi –2 a –1 již by dle stavu pacienta mohly vzbudit pozornost. **V dětském věku není vhodné používat pojmy „osteopenie" a „osteoporóza", které jsou definovány pro postmenopauzální ženy. ISCD doporučuje používat u dětí termíny „low bone density for chronologic age (nízká kostní denzita vzhledem k věku)" nebo „below the expected range for age (nižší než očekávaná vzhledem k věku)",** pokud se Z-skóre pohybuje pod hranicí -2 [I-2]. Hodnoty denzity kostního minerálu u dětí závisí na růstu a sledují růstovou křivku. V období puberty dochází fyziologicky dokonce k natolik zrychlenému růstu organismu, že se opožďuje tvorba kostní hmoty a její mineralizace.

Samotný výsledek jednoho měření však má omezenou vypovídací hodnotu, důležité je sledování **trendu** nárůstu kostního minerálu. Rozhodně je důležitý i trend při opakovaných vyšetřeních, který ukáže, zda míra přibývání kostní hmoty odpovídá očekávání.

Pro zpracování dětských scanů je vhodné používat **software uzpůsobený pro pediatrické pacienty**. Software pro dospělé může podhodnotit plochu kostí u dětí, nadhodnocuje kostní denzitu, LBM, FM, není dostatečně citlivý k relativně malé změně denzity na hranici mezi kostí a měkkou tkání [88]. U vyšetření dětí QCT, resp. pQCT se může projevovat parciální objemový efekt, kdy hraniční, pouze částečně zakryté voxely nejsou ve výsledku zahrnuty do kosti, způsobují tak falešně menší objem malé kosti.

U dětí je nutno přihlížet u techniky DXA k **volumetrickému artefaktu**, kdy skelet menších rozměrů musí mít zákonitě i nižší denzitu. Zejména pro vyšetření u dětí by proto bylo větší rozšíření pQCT v klinické praxi výhodou, i když není ve světovém měřítku standardní metodou, protože umožňuje s minimální radiační zátěží zhodnotit skutečnou kostní denzitu a odhadnout mechanické vlastnosti.

Při hodnocení kostní denzity je důležité brát v úvahu výšku pacienta, množství svalové hmoty, hmotnost, svalovou sílu, kostní věk a pubertální stadium [125], vzhledem k výrazným změnám během růstu a pubertálního zrání. Ke zvýraznění těchto vlivů dochází zejména u

chronicky nemocných dětí, které často zaostávají v růstu a vývoji. Užití **referenčních dat** stejné věkové skupiny a pohlaví není ideální u pacientů, kteří jsou drobnější postavy než průměrné dítě stejného věku a pohlaví a vykazují známky opožděného dozrávání skeletu. V této souvislosti je opět možno zmínit teorii „mechanostatu" a hospodárné využití kostní hmoty v organismu tak, aby odpovídala přesně nárokům daného konkrétního organismu. Drobný člověk nepotřebuje stejně mohutnou kostru jako mohutný člověk.

Pouhé měření kostní minerální denzity nedokáže odlišit jednotlivé typy „osteopenií", ani křivici či osteomalacii.

Z **lokalizací** je Mezinárodní asociací pro klinickou denzitometrii doporučováno celotělové vyšetření nebo anterioposteriorní projekce lumbální páteře, diagnózu osteoporózy u dítěte není možno stanovit pouze na základě denzitometrického vyšetření [137].

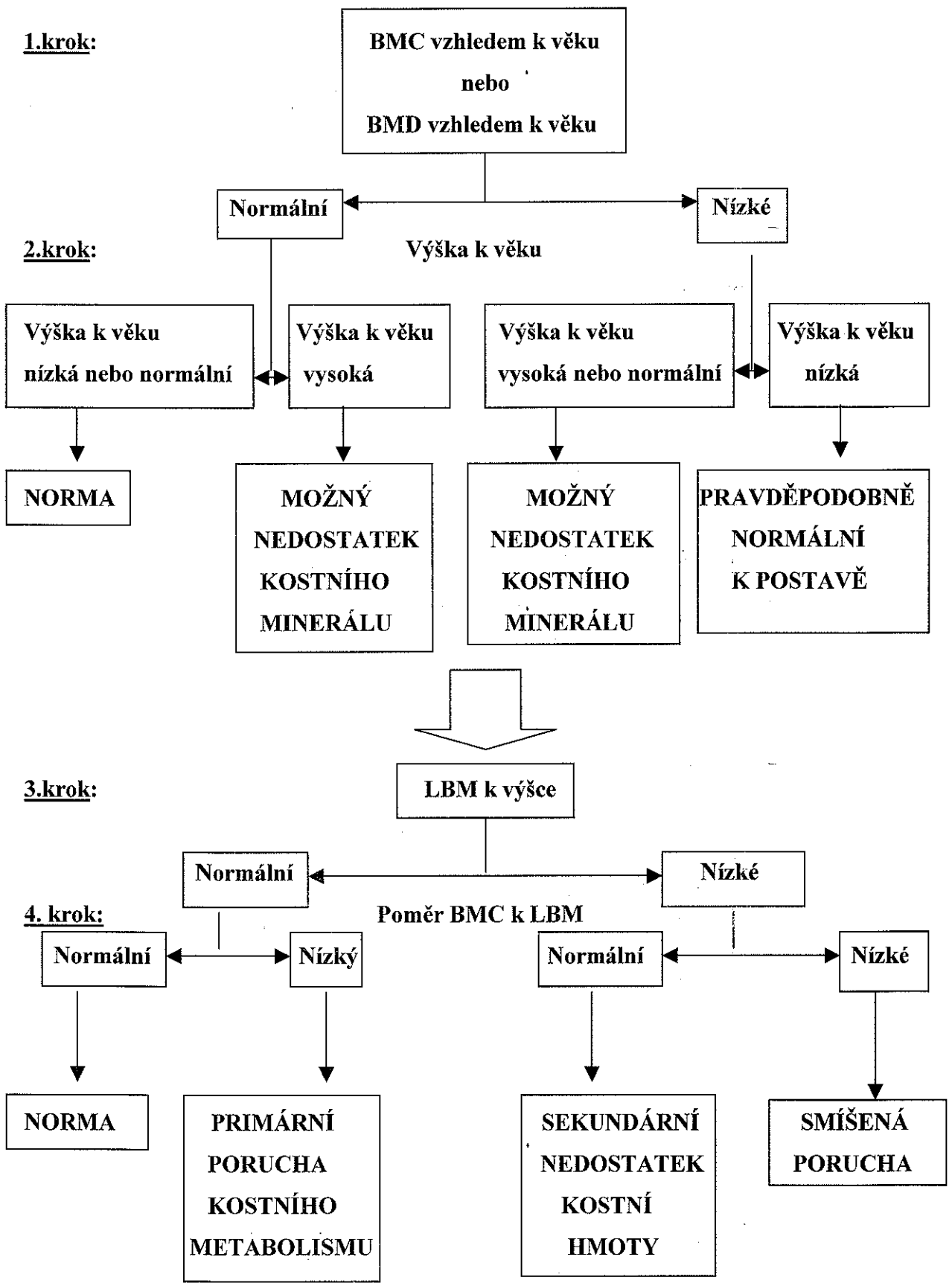
V současné době standardní korekce BMD vůči dalšímu parametru u dětí není stanovena. Pro běžnou praxi se připouští **korekce hodnot vůči výšce postavy, tj. „height to age" nebo „height adjusted Z-score"**.

II.B.3.2 Hodnocení

Vztah mezi výškou a kostní denzitou se snaží řada autorů zahrnout do vzorců hodnocení kostní denzity u dětí.

Molgaard et al [151, 152] vytvořili tabulky referenčních hodnot pro švédské děti 5-19 let při vyšetření DXA, navrhují **stupňovitý hodnotící proces** – nejdříve výška k věku, pak plochu projekce kostí k výšce a nakonec BMC k BMA. Tyto 3 kroky korespondují s předpokládanými 3 příčinami (zdánlivě) redukované kostní hmoty: krátké kosti, úzké kosti, lehké kosti. Högler et al [109] vytvořili obdobné schéma k odlišení „neadekvátně nízké denzity kostního minerálu" u dětí od „fyziologicky nízké denzity kostního minerálu", která je přirozeným adaptačním jevem (**Obrázek č.5**).

Obrázek č.5 Schéma k odlišení odlišení „neadekvátně nízké denzity kostního minerálu“ u dětí od „fyziologicky nízké denzity kostního minerálu“ [109]



pQCT poskytuje odlišný přístup k hodnocení kostní denzity. Je možno posoudit skutečnou volumetrickou denzitu kostního minerálu, a to jak kortikální, tak trabekulární kosti a také vzájemný vztah plochy průřezu svalem, kostí, kostní dření a tukem. Kolektiv autorů Neu, Schönau, Rauch et al. vytvořili v rámci studie DONALD referenční hodnoty pro tyto parametry a pro vzájemný vztah mezi výškou, plochou průřezu svalem a plochou průřezu kortikální kostí nebo BMC [160 – 162, 211 – 214]. I tito autoři navrhují stupňovité hodnocení (**Obrázek č. 6**)

Obrázek č. 6 Stupňovité hodnocení BMC dle Schönau et al. [211]

II.B.4 BIOCHEMICKÉ MARKERY KOSTNÍHO OBRATU

O intenzitě a směru kostního metabolismu vypovídá řada biochemických markerů přítomných v tělních tekutinách. Jejich přehled podává **Tabulka č.8.**
Biochemické markery samotné nestanovují diagnózu metabolického onemocnění skeletu. Vypovídají o tělesném růstu a intenzitě metabolických pochodů. Produkty kostní výstavby a odbourávání lze detekovat v **séru a moči.** Močové markery závisí na glomerulární filtraci. I když jsou vztaženy na vylučování kreatininu, jejich hodnoty mohou být ovlivněny při postižení svalů. Podléhají diurnální variabilitě, maximum vylučování je mezi 4.a 8. hodinou ranní, je tedy nutná standardizace doby odběru. Biochemické markery odráží kostní obrat, ale nejsou vhodné k predikci kostní denzity. Odrážejí však efekt antiresorpční léčby rychleji než kostní denzitometrie. Také pomáhají rozlišit pacienty s nízkým a vysokým obratem a tedy i v rozhodnutí o typu léčby [25]. Velká část těchto markerů se používá pouze experimentálně.

Tabulka č.8 Přehled biochemických markerů kostního metabolismu

Metabolický pochod	tělesný kompartment	ukazatel
Nespecifické ukazatele	Sérum	Koncentrace minerálů v séru Hormony: parathormon, kalcitonin, protein příbuzný parathormonu, vitamín D a jeho metabolity
	Moč	Odpady minerálů do moči/kg/24 hodin
Markery osteoresorpce	Sérum	Tartarát-rezistentní kyselá fosfatáza Experimentálně C- a N-terminální telopeptidy kolagenu
	Moč	Produkty štěpení kolagenu: hydroxyprolin, glykosidy hydroxylyzinu, experimentálně C- a N-terminální telopeptidy, pyridinolin a deoxypyridinolin
Markery kostní novotvorby	Sérum	Alkalická fosfatáza Experimentálně osteokalcin, karboxyterminální a aminoterminální propeptid prokolagenu typu I

II.B.5 BMD A POSOUZENÍ RIZIKA FRAKTURY

Denzita kostního minerálu je nejdůležitějším predikčním faktorem pro riziko vzniku zlomeniny [209], nicméně ne jediným a neexistuje jednoznačná hranice. Posuzování pouze kostní denzity je navíc z biomechanického hlediska výrazným zjednodušením [47, 66].Je možno stanovit **relativní riziko fraktury** (RR), zpravidla na změnu o 1 SD kostní denzity. Vzestup pravděpodobnosti vzniku zlomeniny s klesající kostní denzitou není lineární, ale exponenciální. Obecně je nutno uvažovat také přítomnost **klinických rizikových faktorů** [118]: věk, ženské pohlaví, předchozí fraktura po minimálním působení síly, předčasná menopauza, primární nebo sekundární amenorea, primární nebo sekundární hypogonadismus u muže, rodinná anamnéza zlomeniny v oblasti kyčle, užití systémových kortikosteroidů , porucha vizu, nízká tělesná hmotnost, neuromuskulární choroby, léčba sedativy, kouření, alkoholismus, imobilizace, nedostatek kalcia, nedostatek vitamínu D. Z těchto faktorů nejdůležitější je již přítomná osteoporotická fraktura. Hodnoty relativního rizika byly vypočteny u postmenopauzálních žen, ale u dětí nejsou k dispozici.

Přesnost odhadu rizika zvyšuje také užití **biochemických markerů kostního obratu** [118].

Spíše na experimentální úrovni je používání **matematických modelů** k posouzení biomechanické odolnosti kostí s využitím nejen denzity, ale i rozměrů kosti a jejích komponent. **Periferní kvantitativní výpočetní tomografie** umožňuje odhad mechanických vlastností kosti stanovením různých typů indexů pevnosti za použití kostní denzity a plošného rozložení kostního materiálu [214]. V rámci **kvantitativní ultrasonometrie** se užívá **stiffness index** jako ukazatel nejen kostní denzity, ale i dalších, mechanických vlastností kostní tkáně.

II.B.6 PŘEHLED METOD VYŠETŘENÍ SLOŽENÍ TĚLA

Zjištění složení těla má využití v medicíně z řady důvodů – hodnocení růstu a výživového stavu, včetně hodnocení efektu terapie v longitudinálním sledování, u pacientů v intenzivní péči, hodnocení energetické potřeby, v obezitologii [135, 207]. Ve farmakologii je složení těla důležité pro výzkum farmakokinetiky léčiv. Tuková tkáň není pouze přívažek těla a zásobárna energie na horší časy. Jde o endokrinologicky aktivní tkáň, hraje nezastupitelnou úlohu v období pubertálního zrání. V tukové tkáni produkované hormony – leptin, adiponektin, resistin - jsou spojeny s inzulínovou rezistencí, energetickou potřebou a s rizikem budoucího vývoje kardiovaskulárních chorob. Složení těla v pubertálním a adolescentním období má vysokou prediktivní hodnotu pro složení těla v dospělosti [221].

II.B.6.1 MODELY SLOŽENÍ TĚLA

Tělo je měřeno na základě několika **typů modelů**, které využívají jednu nebo kombinaci více měřicích metod.

A. Model 2-kompartmentový: hmotnost = tuk + beztuková hmota

Pro fat-free mass (FFM) se také někdy používá termín lean body mass (LBM).

Na tomto principu je založena např. hydrodenzitometrie. Relativní stability chemického složení FFM je dosaženo až v dospělosti, během dětství, puberty a adolescence dochází k výrazným změnám. FFM u dětí má nižší hustotu, nižší mineralizaci, vyšší obsah vody a draslíku, což znemožňuje využití dospělých konstant [181]. Postup se zapojením dospělých hodnot by vedl k systematickému přecenění procenta tělesného tuku.

Vícekompartmentové modely jsou přesnější, nicméně zpravidla vyžadují komplikovanější zařízení, z tohoto důvodu jsou nepraktické.

B. Model 3-kompartmentový [58]**: hmotnost = tuk + voda + zbývající pevný materiál**

U pacientů s deplecí tělesných bílkovin nebo kostního minerálu může být stanovení jednotlivých kompartmentů nepřesné, protože využívá jejich konstantní denzitu.

C. Model 4-kompartmentový: hmotnost = tuk + voda + protein + minerály

Vyžaduje změření minerálů (DXA), množství tělesného proteinu (neutronová aktivační analýza, densitometrie – hydrodenzitometrie nebo ADP). Celkovou tělesnou vodu je možno změřit dilučními metodami, některé tyto metody však poskytnou samy dostatečně přesný odhad složení těla, takže užití tohoto modelu by bylo zbytečné.

nebo alternativně: hmotnost = tuk + buněčná masa + extracelulární tekutina + extracelulární pevná část

Ukazatelem masy buněk je celkový tělesný draslík, ke změření extracelulární vody lze užít diluce, ukazatelem množství extracelulárních pevných látek je BMC nebo celkové tělesné kalcium.

D. multikompartmentové modely – jsou založeny na pětiúrovňovém modelu: **struktura atomární, molekulární, celulární, tkáňové systémy** a nakonec **celé tělo.**

II.B.6.2 METODY KE ZJIŠTĚNÍ SLOŽENÍ TĚLA

II.B.6.2.1 Klinické metody

II.B.6.2.1.1 BMI = body mass index (kg/m²)

BMI = hmotnost (kg)/ (výška (m))²

Často užívaný index v klinické praxi, zejména v dospělé obezitologii. U dětí je opět klíčové použití růstových BMI tabulek. Sledování longitudinálních změn poskytuje cenné informace o růstu dítěte. Tzv „adiposity rebound" je důležitým prediktorem nebezpečí eventuální obezity v dospělosti. Jde o bod druhého vzestupu BMI u prepubertálních dětí po předchozím poklesu, nastává mezi 3.-7. rokem. Čím dříve nastane, tím větší je nebezpečí vzniku obezity (jednak identifikuje jedince s již vysokým BMI percentilem, rostoucí podél něj, jednak jedince překračující percentil směrem vzhůru). Pro určení stavby těla je však BMI velmi nespolehlivý, nelze zjistit, jaká část hmotnosti je tvořena jakou tkání [186].

II.B.6.2.1.2 Antropometrie

Zahrnuje měření tloušťky kožní řasy a obvodů trupu a končetin k určení množství tělesného tuku a jeho distribuce. Tloušťka kožní řasy se měří v závislosti na výpočetním modelu kaliperem v oblasti předloktí, nad bicepsem, tricepsem, po lopatkou, v oblasti crista iliaca.. Z obvodů je měřen obvod paže, pasu, boků..

Tloušťku subkutánní tukové tkáně lze měřit i **ultrazvukem**.

II.B.6.2.1.3 BIA = bioelektrická impedanční analýza

Metoda je založena na dobré elektrické vodivosti tkání bohatých na vodu, zatímco tuk, který je relativně chudý na vodu, elektrický proud vede hůře. Výhodou je neinvazivita, nenáročnost, některé aparáty jsou malé a snadno přenosné, relativně levné.

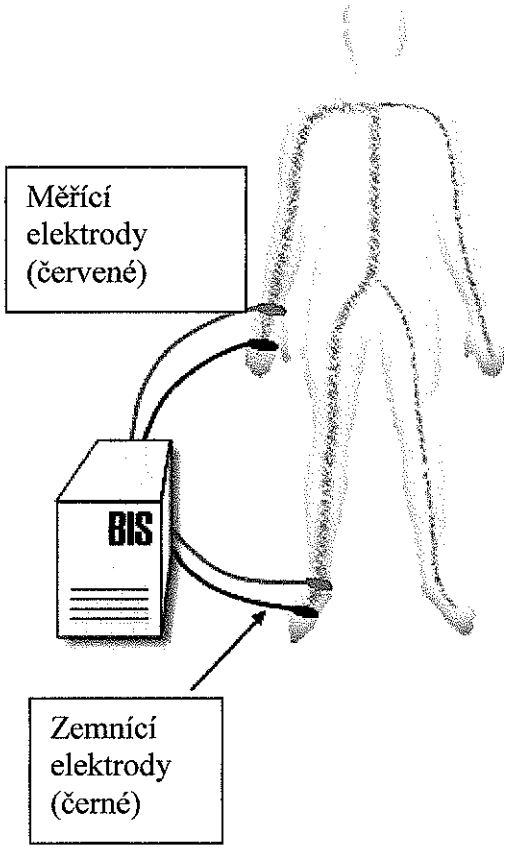
Za použití 4 elektrod umístěných na kotníku, noze, zápěstí a dorzu ruky se pouští do těla slabý proud o frekvenci 50Hz nebo o různých frekvencích (**bioelektrická impedanční spektroskopie**), subjektivně nepozorovatelný, maximálně jako jemné brnění. Vyšetření trvá cca 1-2 minuty. Pacient leží, končetiny se nedotýkají těla. Získáme 2 hodnoty – rezistanci a reaktanci, které jsou dosazeny do vzorce pro výpočet tuku a vody v těle. Lze tak získat informaci o tělesném tuku, beztukové hmotě, procentu buněk v těle a intra – a extracelulární vodě. Méně přesnou alternativou jsou váhy se zabudovanými elektrodami, dostupné i v běžném maloobchodním prodeji. Třetí alternativou umístění elektrod je pravá a levá ruka. Kontraindikací použití této metody je kardiostimulátor (může dojít k poruše funkce kardiostimulátoru s potenciálně fatálními důsledky pro pacienta).

Pichard et al. [173] hodnotí BIA jako relevantní metodu ve srovnání s DXA. Studie byla provedena na 480 zdravých i chronicky nemocných ženách i mužích. Autoři zdůrazňují výběr vhodné výpočetní formule, např. u CF pacientů podle Kotlera et al. Použití BIA u CF hodnotí více studií, shledávají tuto metodu jako vhodnou i v longitudinálním sledování [14, 83, 110, 174, 229], i když nemusí být dostatečně precizní pro krátkodobé změny [128]. Elberg et al. [55] nalezli systematické přeceňování procenta tělesného tuku metodou BIA ve srovnání s DXA.

Parker et al. [168] testovali BIA s využitím dvou typů zapojení elektrod, společně ADP, celkovou tělesnou vodou a tloušťkou kožních řas ze závěrem, že všechny tyto metody jsou málo validní na úrovni jednotlivého pacienta (jednalo se o chlapce 10-14 let).

Obrázek č.7 BIA měření [I-7]

Obrázek č.8 Schéma zapojení bioelektrické impedanční spektroskopie [I-7]



II.B.6.2.1.4 DXA = dual-energy X-ray absorptiometry – dvoufotonová absorpciometrie

Příklad metody s využitím 3-kompartmentového modelu. Koncept této metody byl prvně představen v roce 1981. Je založena na detekci zeslabení proudu fotonů o dvou energiích po průchodu tkání. Lze změřit množství kostního minerálu, lean body mass a množství tuku v celém těle i jeho částech. Obecně velmi ceněná a velmi přesná metoda, za použití vhodného software je možné měření i u kojenců a batolat. Vyhodnocení pomocí software pro dospělé vede u dětí ke zkreslení. Důležitou součástí hodnocení jsou vhodná referenční data. Během měření musí pacient ležet bez hnutí, což může představovat závažný problém u malých dětí, vyšetření je pak třeba provést v sedaci. Před vyšetřením musí pacient sejmout kovové předměty a svrchní oblečení. Radiační zátěž pacienta je nízká, desetina zátěže pocházející ze snímku hrudníku. Nutnost klidu během měření a expozice záření, i když nízká, jsou negativními faktory pro využití u dětí. Obsluhující personál nemusí být chráněn jakýmkoli štítem, vyzařování do okolí je odstíněno. Např. Wong et al. [254] doporučují tuto metodu u dětí a mladých dospělých, i když zjistili chybu v odhadu FM až 28%.

II.B.6.2.2 Výzkumné metody

II.B.6.2.2.1 CT = computed tomography – počítačová tomografie

Metoda založená opět na detekci zeslabení RTG paprsků po průchodu tkání. Získáme prostorový model těla, rozděleného na jednotlivé body – pixely, s informací o jejich denzitě, což umožňuje identifikovat je jako tuk, sval, kůži, viscera nebo kost. Nezbytný je klid pacienta. Vyšetření přináší vysokou radiační zátěž.

II.B.6.2.2.2 MRI = magnetic resonance imaging

Vyšetření je založeno na detekci signálu vysílaného vodíkovými protony po krátkodobém působení magnetického pole. Je to precizní metoda poskytující dokonalé řezy tkáněmi, umožňuje i odlišení viscerálního a subkutánního tuku, je však poměrně zdlouhavá, vyšetření celotělové může trvat cca 30 min, je nezbytný opět naprostý klid a kooperace pacienta, u dětí eventuelně sedace. Velmi vysoká je cena vyšetření. Kontraindikací je přítomnost kardiostimulátoru (možná porucha jeho funkce v magnetickém poli) a kovových materiálů (znehodnocení výsledného obrazu).

Následující metody se používají k měření složení těla pouze experimentálně:

II.B.6.2.2.3 Pletysmografie – „air displacement plethysmography" (ADP)

Pacient je uzavřen v komoře. Pomocí membrány dochází k malým změnám objemu. Senzory registrují změny tlaku způsobené přítomností těla. Zjišťuje se tak objem těla, vydělením objemu a hmotnosti získáme hustotu. Od objemu těla je odečten objem vzduchu v plících, během vyšetření pacient normálně dýchá. Za předpokladu, že hustota tuku a beztukové tkáně je stálá, je možno vypočítat procento tělesného tuku, obdobně jako u hydrodenzitometrie.

II.B.6.2.2.4 Diluční metody

Tyto metody vyžadují odběr vzorku krve a slin nebo moči před podáním radioaktivního nebo neradioaktivního indikátoru a opět odběr jednoho nebo více vzorků po podání. Indikátor se rozptýlí rovnoměrně po celém detekovaném objemu. Často je potřeba i speciální měřící zařízení. Lze určit celkovou tělesnou vodu i její extracelulární nebo intracelulární část.

II.B.6.2.2.5 Detekce celotělového draslíku

Metoda založená na zachycení slabého gama záření, které pochází z přirozeně přítomného draslíku ^{40}K. Metoda je vysoce náročná na přístrojové vybavení.

II.B.6.2.2.6 In vivo neutronová aktivační analýza

Využívá opět celotělovou gamakameru k detekci gama záření, které emitují atomy těla po bombardování neutrony. Je to nedestruktivní metoda k testování celotělových hladin hlavních elementů: kalcium, sodík, chlor, fosfor, dusík, vodík, kyslík, uhlík.

II.B.6.2.2.7 Hydrodenzitometrie

Metoda je založena na dvoukompartmentovém modelu. Považuje hustotu tukové a beztukové masy za konstantní. Zařízení se skládá z nádrže s vodou a váhy. Subjekt vydechne, ponoří se a zváží. Hydratace tělesných tkání se ale mění během života, zejména v dětství, což snižuje přesnost, navíc je nezbytná spolupráce pacienta, je obtížné měření u pacientů v těžkém stavu nebo s omezenou pohyblivostí.

II.B.6.2.2.8 Celotělová elektrická vodivost (total body electrical conductivity - TOBEC) – tělo je umístěno do otáčejícího se elektromagnetického pole, v závislosti na přítomnosti elektrolytů ve vodivých tkáních těla vznikají vířivé proudy, ty působí poruchu zevního magnetického pole a důsledkem je absorpce malého množství energie v těle, které se vyzáří jako teplo. Lze takto měřit celkovou tělesnou vodu.

II.C CYSTICKÁ FIBRÓZA

II.C.1 CYSTICKÁ FIBRÓZA JAKO KLINICKÁ JEDNOTKA

Cystická fibróza je autosomálně recesivně dědičné onemocnění, charakterizované abnormální sekrecí tekutin, elektrolytů a makromolekul v exokrinních žlázách. Onemocnění se v centrální Evropě vyskytuje s frekvencí 1:2500. CF defekt způsobuje multiorgánové onemocnění zahrnující respirační systém, pankreas, hepatobiliární trakt, střevo, potní žlázy a u mužů reprodukční ústrojí. Vzácně bývá postižen i srdeční sval.

K pochopení molekulárního defektu onemocnění CF přispěl v r. 1983 Quinton, který prokázal poruchu reabsorpce chloridů v epitelu vývodů potních žláz, i když genetická podstata zůstávala neznámá [175]. V r. 1989 byl objeven CF gen, který kóduje protein CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) [119, 185]. CFTR působí jako chloridový kanál aktivovaný cyklickým adenosinmonofosfátem a může stimulovat jiné chloridové kanály [259]. Mutace tohoto transmembránového proteinu se vyskytují s frekvencí 1:25. Příčinou této vysoké frekvence zdravých heterozygotů je pravděpodobně jejich snížená náchylnost k sekrečním průjmům způsobeným aktivací CFTR. Ta nositeli umožnila přežít epidemie průjmových onemocnění (např. cholery) [237].

Hlavním patogenetickým mechanismem u CF je dysfunkce epiteliálních povrchů, je zodpovědná za široké spektrum příznaků a komplikací. Mutace CFTR genu vedou k chybění nebo defektu funkce CFTR chloridového kanálu různého stupně podle úrovně, na které je funkce porušena. Důsledkem je silně zahuštěný hlen ve vývodech žláz s vnější sekrecí. V současnosti je známo více než 1450 mutací genu CFTR [I-8].

Limitující pro prognózu CF je tíže postižení respiračního sytému a stav výživy, který je ovlivněn především exokrinní funkcí pankreatu. Fenotypickou manifestaci pankreatické dysfunkce významně ovlivňují mutace genu CFTR, včetně dalších modifikujících genů a vnější faktory, tj. kvalita léčby, životospráva, compliance s terapií u pacienta a jeho rodiny. „Závažné" mutace jsou spojeny s pankreatickou insuficiencí, zatímco u „mírných" mutací je exokrinní sekrece pankreatu dostatečná. Převahu „závažných" mutací odráží i skutečnost, že až 90% všech pacientů s CF je pankreaticky insuficientních a vyžadují enzymovou suplementaci [1].

Komplexní péče o CF pacienty, stále zdokonalovaná v posledních desetiletích, přinesla výrazné prodloužení jejich života. V minulosti umírali v první dekádě života, nyní se střední očekávaná délka přežití posunula do třetí dekády. S prodlužujícím se přežíváním CF pacientů

se ale vynořily i nové problémy – např. otázky reprodukce, diabetes mellitus, bakteriální rezistence, vzestup výskytu osteoporózy a další. Osteoporóza a zvýšené riziko fraktur u CF pacientů jsou zmiňovány v literatuře již od roku 1979 [86, 150].

Cystic Fibrosis Foundation v roce 1998 vytvořila novou **definici cystické fibrózy** na základě více kritérií [187]. Prvním je přítomnost ≥ 1 charakteristických fenotypických příznaků nebo CF u sourozence nebo pozitivní novorozenecký screening. Druhým kritériem je laboratorní průkaz dysfunkce CFTR kanálu dokumentovaný jednak zvýšenou koncentrací chloridů v potu, nebo identifikací dvou CFTR mutací asociovaných s CF nebo in vivo demonstrací charakteristických abnormit v transportu iontů nasálním epitelem.

Klasické příznaky – základní rozdělení:

- **Chronické sinopulmonální postižení** s poruchou clearence dýchacích cest vede ke chronickému kašli. Pacienti bývají chronicky kolonizováni některými mikroorganismy, zejména Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacea, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae. Pacienti s CF mohou trpět recidivujícími respiračními infekty. Často mívají paličkovité prsty.
- **Gastrointestinální postižení** se zevní pankreatickou insuficiencí přítomnou u 80-90% pacientů s CF může vést k rozvoji mekoniového ileu po narození. Může se projevit jako hepatobiliární postižení, prolaps rekta, malabsorpce, chronické průjmy, neprospívání.
- **Zvýšené ztráty NaCl potem** mohou vést při tepelné zátěži k minerálové dysbalanci.
- U mužů s cystickou fibrózou je v 97-98 % **obstruktivní azoospermie** [247, str.383].

Netypické formy – CFTR-patie se mohou projevovat jako mírné plicní postižení s bronchiektáziemi, kolonizací Pseudomonas aeruginosa, jako chronická sinusitida, alergická bronchopulmonální aspergilóza, idiopatická chronická pankreatitis, vrozené oboustranné chybění vas deferens. Tyto netypické formy vedou pak k diagnóze nezřídka až v dospělosti.

II.C.2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ KOSTNÍ METABOLISMUS U CYSTICKÉ FIBRÓZY

Již **samotná mutace CFTR a modifikující geny** ovlivňují klinickou manifestaci CF u konkrétního pacienta. Tuto hypotézu podporuje i pokus na zvířecím modelu publikovaný autory Dif et al. v roce 2004 [52], který u myší homozygotních pro mutaci CFTR demonstroval nižší BMD, která nebyla pouze důsledkem jejich nižší hmotnosti. Zvířata měla snížený objem trabekulární kosti s užšími trámečky a jejich širšími rozestupy, tenčí kortikalis, sníženou novotvorbu a urychlenou resorpci kostní hmoty. King et al. [122] identifikovali u souboru 88 dospělých pacientů s CF přítomnost mutace F508del v homozygotním nebo heterozygotním stavu jako nezávislý rizikový faktor pro sníženou kostní denzitu. Samotná role CFTR kanálu v kalciofosfátovém metabolismu není dosud zcela jasná, není známo, zda je CFTR přítomen v kostní tkáni či příštitných tělískách. Přítomnost CFTR byla zjištěna v různých úsecích nefronu. CFTR je přítomen ve střevním epitelu, hraje roli v gastrointestinálních manifestacích CF, jako je distální intestinální obstrukční syndrom. Transport chloridových iontů může ovlivňovat přímo nebo nepřímo transport jiných iontů. U CF může být snížená absorpce a excesivně zvýšená sekrece Ca iontů. Také střevní permeabilita je 4-10x vyšší u CF nežli u zdravých [4, 245].

Stav výživy CF pacientů je jedním z dominantních prognostických faktorů. Určuje složení těla. Často se opakující zánětlivé stavy, malabsorpce, jaterní onemocnění, nedostatečný pohyb, hypogonadismus u mužů a v některých případech systémová léčba kortikosteroidy vedou k opožděné pubertě [241], nižšímu vzrůstu a menší hmotnosti ve srovnání se zdravými vrstevníky. Mnoho studií zjistilo vztah mezi špatným nutričním stavem (nízké BMI) a nízkou BMD u CF [např. 78, 99, 150].

Pacienti s CF vyžadují vyšší **energetický příjem** v závislosti na klinickém stavu. U stabilizovaných pacientů se jedná o přibližně 130% průměrné potřeby dítěte srovnatelné hmotnosti [187, 259], v období exacerbací ještě více, i když bylo referováno také o normální energetické potřebě u klinicky stabilních pacientů s CF [141].

V důsledku **exokrinní pankreatické insuficience**, kterou trpí 80 - 90% CF pacientů, je sníženo zejména trávení a vstřebávání tuků. Může klesnout přísun energie i přes adekvátní

příjem potravy a také vitamíny rozpustné v tucích se mohou vstřebávat ve snížené míře. Nízký podíl tělesného tuku vede k nízkým zásobám v tucích rozpustných vitamínů.

CFRDM (cystic fibrosis related diabetes mellitus) může dále ovlivňovat kostní metabolismus jak přímo, obdobně jako u jiných diabetiků, tak i nepřímo přes výživový stav. Např. Elkin et al. ve studii z roku 2001 zjistili nižší BMD u pacientů s CFRDM. Asi u 10% pacientů s CF se v průběhu života vyvine CFRDM [7].

Porucha jaterních funkcí (jaterní steatóza a fibróza) vede ke snížené tvorbě sérových bílkovin, poruše metabolismu vitamínu K a poruše hormonální rovnováhy se sníženou tvorbou IGF-1. Je ohroženo vstřebávání tuků a také metabolismus vitamínu D. Vyšší prevalence osteoporózy byla zjištěna obecně u pacientů s chronickým jaterním onemocněním před transplantací [164]. U CF pacientů je zvýšená náchylnost k tvorbě žlučových kamenů.

Byly uveřejněny studie referující o **deficitu vit. K** až u 70% pacientů s CF [50, 177], což může vést ke snížení karboxylace osteokalcinu a snížené kostní formaci. U pacientů s CF byly zjištěny nižší hladiny vitamínu K, negativní korelace hladiny vitamínu K a nekarboxylovaného osteokalcinu, který signifikantně koreloval s markery kostního obratu, ne však s denzitou kostního minerálu celotělovou nebo lumbálních obratlů [50].

Ovlivněn je u cystické fibrózy též **metabolismus vitamínu D** [7]. Využití vitamínu D v organismu je u CF pravděpodobně méně efektivní než u zdravých lidí. Jeho metabolismus může ovlivňovat malabsorpce, jaterní postižení, možná i porušená aktivita 25- hydroxylázy nebo vyšší clearence vitamínu D nebo 25-(OH)-D díky zvýšené oxidační aktivitě a zvýšené aktivitě cytochromu P450. Uvažuje se i o enterohepatální recirkulaci D2 a 25-(OH)-D a její poruše u CF. Nebyla zatím definována kinetika konverze 25-(OH)-D na 1,25-$(OH)_2$-D. Byly zjištěny nižší hladiny 25-(OH)-D [37, 86, 99], ale normální 1,25-$(OH)_2$-D u CF pacientů. Existují však i studie prokazující u CF pacientů normální hladinu 25-(OH)-vitamínu D u CF pacientů a sníženou hladinu 1,25-$(OH)_2$-D [37]. Uvažuje se o tom, že i současná doporučení ohledně suplementace vitamínem D nemusí být zcela dostačující [37].

Zejména u dospělých pacientů s CF je zvýšená potřeba **antioxidantů** – zejména vitamínů A, C, E. Ty fungují jako lapače volných radikálů vznikajících při zánětu [15, 140, 255].

Fyzická inaktivita zákonitě vede k omezení svalové hmoty. Při systémové terapii kortikosteroidy se na situaci může podílet i jejich negativní účinek na proteosyntézu svalových vláken, tzv. steroidní myopatie. Na prvním místě svaly a na druhém místě gravitace působí na tvorbu a přestavbu kosti. Z teorie „mechanostatu" vyplývá, že organismus si vytváří kostru jako oporu, tak aby odpovídala typickému mechanickému zatížení a skýtala určitou rezervu, za použití minimálního množství materiálu vhodně rozloženého v prostoru [72, 75]. Nepotřebná kostní tkáň je odbourávána. Neu, Rauch a Schönau ve studiích za použití periferní kvantitativní výpočetní tomografie (pQCT) prokázali vztah mezi svalovou hmotou a kortikální kostí [161]. Pokud tedy CF pacienti mají menší hmotnost a zejména množství svalové hmoty, fyziologickou reakcí na nižší mechanickou zátěž kosti je i menší množství kostního materiálu. U CF pacientů byl též zjištěn skrytý deficit svalové hmoty [114].

Též samotný **kostní metabolismus** je ovlivněn v rámci cystické fibrózy. Studie biochemických markerů kostního obratu podporují hypotézu nerovnováhy mezi kostní výstavbou a odbouráváním [7, 9, 23, 81]. Byly zjištěny vyšší hladiny NTx , deoxypyridinolinu, hydroxyprolinu v moči jako markerů kostního odbourávání a nižší hladiny sérového osteokalcinu a karboxy-terminálního propeptidu prokolagenu I jako markeru kostní formace [99, 188]. Alkalická fosfatáza může být méně specifickým markerem, protože se na jejích hladinách uplatňuje i jaterní postižení. Izotopová studie zjistila sníženou depozici kalcia u klinicky stabilních dívek s CF [219].
Aktivita osteoblastů je snížena **zánětlivými mediátory** (TNF α, IL-1β, IL-6), zatímco aktivita osteoklastů se zvyšuje. Byl zjištěn pokles markerů kostního odbourávání a vzestup osteokalcinu po úspěšné antibiotické léčbě exacerbace plicní infekce, tyto změny přetrvávaly i po třech týdnech [11]. Např. Haworth et al. popisují signifikantní závislost mezi meziroční změnou BMC u dospělých pacientů a hladinou IL-6, kolonizací Burkholderia cepacia a poklesem BMI. V této studii byly močové markery osteoklastické aktivity závislé na hladině IL-6 [102]. U pacientů po transplantaci plic s dobrým výsledkem transplantace dochází ke zvýšení BMD navzdory imunosupresi [7]. Gordon et al. [81] popisují inverzní závislost BMD na koncentraci interleukinu 1β, i když u této skupiny dospělých pacientů, mimo jiné, byly hladiny prozánětlivých cytokinů nižší než norma. Někteří z této skupiny pacientů byli ale léčeni inhalačními kortikosteroidy.

U řady pacientů s CF je **opožděná puberta** [157] a byl zaznamenán **hypogonadismus** jak u mužů [127], tak u žen s CF. Hypogonadismus u mužů je obecně spojen s nízkou BMD [32].

Buntain at al [42] popisují opožděné skeletální vyzrávání u dětí a adolescentů s CF, ale pubertální zrání nebylo oproti kontrolám opožděno. U žen s CF se vyskytuje ve vyšší míře amenorea [231] a anovulační cykly i při celkově dobrém klinickém stavu [117]. Uvažuje se i o hypothalamické dysfunkci v důsledku chronického onemocnění (nezvýšené hodnoty gonadotropinů – [133]), podílet se může i léčba kortikoidy [188]. Byly zjištěny nižší hodnoty testosteronu u mužů s CF, nízké množství tělesného tuku se může podílet na snížené konverzi testosteronu na estradiol [133]. U postpubertálních a dospělých pacientů s CF byly zjištěny nízké hladiny **DHEA (dehydroepiandrosteron)** a také nízké hladiny **IGF-1** [81]. IGF-1 byl ve zmíněné studii identifikován po vyloučení antropometrických parametrů jako statisticky signifikantní nezávislý prediktor BMD (vyšetření DXA). Hladina DHEAS (dehydroepiandrosteronsulfát) byla nezávislým prediktorem BMA kyčle a BMA celotělového.

V pokročilém stadiu přistupuje k rizikovým faktorům i **transplantace** plic s imunosupresivní terapií vysokými dávkami **kortikoidů.** Užití systémových kortikoidů je rizikovým faktorem nízké denzity kostního minerálu u pacientů s CF [49]. Obecně po transplantaci dochází ke snížení denzity kostního minerálu během prvních 6-12 měsíců a ke zvýšení frekvence fraktur u pacientů s transplantovanými plícemi, na čemž se může podílet snížená BMD již před transplantací [199], vysoký obrat kostního materiálu a vyšší fyzická aktivita [200].

II.C.3 KOSTNÍ HISTOMORFOMETRIE U CYSTICKÉ FIBRÓZY

Histomorfometrické studie, v souhlasu s biochemickými studiemi, hovoří o snížené kostní formaci. Histomorfometrickou studii biopsií z lopaty kosti kyčelní u dospělých pacientů s CF s nízkou kostní denzitou provedli Elkin et al. I když zde byl patrný deficit mineralizace, osteomalacie byla nalezena pouze u 1 pacienta. U ostatních nalezli známky sníženého kostního obratu, zejména kostní formace, a malý objem spongiózy s malým povrchem a trendem ke snížené konektivitě [56]. O 50% bylo nižší množství kosti vytvořené jednou remodelační jednotkou, byl menší mineralizační perimetr i apozice minerálu. Byl zjištěn malý povrch a hloubka resorpční kavity, naproti tomu povrch erodované plochy byly významně širší. U transplantovaných i netransplantovaných pacientů s CF, kteří zemřeli, nalezli Haworth et al. nižší počet osteoblastů, jež vykazovaly nižší aktivitu, a vyšší počet osteoklastů. Posunutá rovnováha rozšiřovala kostní resorpční plochu. Známky osteomalacie nebyly patrné, všichni pacienti vykazovali těžkou osteopenii trabekulární i kortikální kosti. Autoři zjistili též

tendenci k ještě nižší kortikální a trabekulární mase po transplantaci [100]. Pacienti byli však léčeni vysokými dávkami glukokortikoidů k prevenci rejekce. Ani tato studie neprokázala jednoznačně osteomalacii jako důsledek deficience vitamínu D.

Výše uvedený komplex negativních faktorů může vést ke snížení denzity kostního minerálu u pacientů s CF, která je převážně **sekundárního původu.** Vhodnými preventivními opatřeními by tedy mohl být minimalizován jejich vliv a docíleno normální stavby kostry.

II.C.4 DŮSLEDKY KOSTNÍHO POSTIŽENÍ U CYSTICKÉ FIBRÓZY

Osteoporóza může mít závažné **následky** ovlivňující zdravotní stav pacienta a snižující kvalitu jeho života. Vede ke zvýšené frekvenci **zlomenin,** způsobených nepřiměřeným mechanismem. Ve studii Arise et. al. [10] byla zjištěna 2x vyšší frekvence zlomenin u žen s CF mezi 16 a 34 roky věku a u mužů mezi 25 – 45 roky. Zlomeniny žeber byly zaznamenány se 100x vyšší četností a kompresivní fraktury obratlů s 10x vyšší četností než u zdravých jedinců téhož věku. Rossini et. al identifikovali ve skupině 191 dospělých CF pacientů vertebrální deformity u 27% pacientů [188], Elkin et al u 17% ze 107 CF pacientů. Zlomeniny obratlových těl vedou ke kyfóze, která dále **zhoršuje plicní funkce** [10]. Kyfóza byla zjištěna více u žen s CF než u mužů, vede mimo chronických bolestí k omezení plicních objemů, inhibuje efektivní kašel a odstraňování sputa a ve svém důsledku vede ke zhoršení průběhu CF. Osteoporóza může být u CF pacienta **kontraindikací transplantace plic**, vzhledem k možnému zhoršení kostní denzity s vysokou incidencí zlomenin po transplantaci.

II.C.5 KOSTNÍ DENZITOMETRIE U CYSTICKÉ FIBRÓZY

Dosud bylo uveřejněno více než 60 studií na téma denzity kostního minerálu u CF, s mnohdy velmi rozdílnými závěry. Zatímco některé studie hovoří o osteopenii u CF již v dětském věku s výrazně nízkou BMD v dospělosti [10, 16, 28, 41, 84, 131], jiné práce se zabývají pouze adolescentními [86] nebo dospělými pacienty [68, 99]. Existují i studie, které nalezly normální denzitu kostního minerálu u CF pacientů [92, 227]. Výrazný postupný úbytek kostního minerálu nalezl např. Haworth [101]. Gronowitz et al. nalezli sníženou denzitu kostního minerálu, ale normální přibývání kostní hmoty [84]. Jako kritické období pro nízkou denzitu kostního minerálu v dospělosti u pacientů s CF hodnotí mezinárodní konsensus [7]

pubertu. V tomto období dochází často u pacientů s CF k **nedostatečnému přírůstku kostního minerálu.**

Prvně bylo referováno o nízké BMD u CF v roce 1979 [86, 150]. Prevalence BMD Z-skóre menšího než –1 je až 85% v některých studiích [10].

Z **63 studií** nalezených pomocí PubMed (**Tabulka č.9**) 46 studií hovořilo o nízké BMD u pacientů s CF [např. 78, 80, 81, 84, 99], 9 o normální denzitě kostního minerálu [např. 42, 92, 96, 155, 227]. Většina těchto studií využívala z denzitometrických technik DXA, menšina některé další, např. fotonovou absorpciometrii [86, 89, 226], QCT [78, 99, 101], QUS [68], SPA [150], SXA [99, 102], QDR [129]. Z nalezených studií se 14 zabývalo pouze dětskými pacienty (do 18 až 19 roků věku), 23 pouze dospělými, 25 dětmi i dospělými, u 1 studie se nebylo možno zjistit věk pacientů. Nejrozsáhlejší studie čítala 191 pacientů s CF [188], nejmenší pouze 11 [155]. Některé studie zjistily vysloveně snížené přibývání kostní hmoty [43, 46, 101, 216], rychlý pokles v dospělosti [80], jiné normální přibývání kostní hmoty [např.84]. 6 studií zjistilo u dětí normální denzitu kostního minerálu, ale sníženou po 9. [69] či 10.roce věku [150], u adolescentů [241] či v dospělém věku [41, 80, 81].

Otázkou ovšem je, zda zjištěné nízké hodnoty denzity kostního minerálu v některých studiích nejsou jen chybně interpretovanou „fyziologickou osteopenií", odrážející snížené nároky, které jsou kladeny na kosti v důsledku malé postavy, nízké hmotnosti, omezené pohyblivosti a nízké svalové hmoty pacienta. V některých studiích však nízká denzita kostního minerálu perzistovala i po korekci ke kostnímu věku a rozměrům těla.

II.C.6 PREVENCE A LÉČBA KOSTNÍ NEMOCI U CYSTICKÉ FIBRÓZY

Protože se jedná pravděpodobně z větší části o sekundární nedostatek kostního minerálu, doporučuje se v prevenci a léčbě kostního postižení **minimalizovat negativní vlivy** – zajistit dostatečný **energetický příjem, příjem bílkovin, kalcia, vit D, C, A, E, K, substituovat pankreatickou nedostatečnost, léčit záněty, podporovat tělesnou aktivitu, minimalizovat podávání systémových kortikoidů.**

II.C.6.1 MEDIKAMENTÓZNÍ LÉČBA

II.C.6.1.1 Hormonální léčba

Růstový hormon - kúra růstovým hormonem u prepubertálních i pubertálních dětí s CF s nízkou růstovou rychlostí a nízkými hladinami IGF-1 vedla ke zvýšení růstové rychlosti, hmotnostnímu přírůstku, přírůstku lean body mass a vyššímu přírůstku kostního minerálu [94]. **Cystická fibróza sama o sobě není indikací k podání růstového hormonu.**

Experimentálně byla u adolescentů a mužů s CF (14 – 18 roků) s nízkým vzrůstem a opožděnou pubertou aplikována substituční léčba **testosteronem,** která vedla k pokroku v sexuální maturaci a urychlení růstu a trendu směrem k normalizaci hladin testosteronu [127]. Pokusy se **substitucí estrogeny** a jejím vlivem na denzitu kostního minerálu u CF žen dosud nebyly podniknuty. **Anabolické steroidy** jsou u dětí kontraindikovány. U dospělých pacientů s cystickou fibrózou bylo zjištěno zlepšení výživového stavu a vzestup lean body mass s následným vzestupem BMD a zlepšením plicních funkcí po kůře megestrol acetátu [61]. Na druhou stranu byly publikovány i nežádoucí účinky – adrenální nedostatečnost a testikulární selhání po terapii megestrol acetátem u pacienta s CF [149].

II.C.6.1.2 Antiresorptivní léky

Experimentální studie s **bisfosfonáty** byly uveřejněny pouze sporadicky [184]. U **dospělých** pacientů s CF s T-skóre <-1 dle DXA byl užit alendronát v placebem kontrolované studii, trvající 1 rok [5]. Při substituci Ca a vit.D u obou skupin došlo při léčbě alendronátem ke vzestupu kostní denzity v oblasti lumbálních obratlů a prox. femuru a ke snížení exkrece NTx, v placebové skupině naopak kostní denzita poklesla. Pamidronát v intravenózním podání u dospělých pacientů vedl k signifikantnímu vzestupu BMD v oblasti lumbální páteře a kyčle, ale k poklesu BMD v oblasti distálního předloktí. Se slibnými pozitivními účinky na kostní denzitu byl použit u dospělých pacientů s CF i alendronát perorálně podávaný [46]. Z dalších typů je u CF doporučován také zoledronát nebo risedronát [7].

U dětských pacientů s CF dosud nejsou s bisfosfonáty zkušenosti.

II.C.6.2 MEZINÁRODNÍ DOPORUČENÍ PRO PREVENCI A LÉČBU KOSTNÍHO POSTIŽENÍ U CYSTICKÉ FIBRÓZY

V březnu 2005 bylo publikováno **doporučení „Guide to Bone Health and Disease in Cystic Fibrosis"** jako výsledek mezinárodního konsensu ohledně prevence a léčby onemocnění kostí u pacientů s CF [7]. V textu je užita přímo formulace **„bone disease"** jako obecné pojmenování postižení skeletu při cystické fibróze. Není však udána jednoznačná definice a vymezení této komplikace onemocnění CF. Opět je konstatována snížená denzita kostního minerálu postpubertálně a u dospělých pacientů s CF, v závislosti na celkovém stavu. **Období puberty s nedostatečným přírůstkem kostního minerálu** je zdůrazněno jako kritické z hlediska kostního postižení. Je doporučeno brát při hodnocení kostní denzity u CF v úvahu malé rozměry kostí a opožděné dozrávání skeletu, s možnými korekcemi vzhledem ke kostnímu věku nebo rozměrům kostí s užitím zdánlivé kostní denzity (BMAD) - tedy převod plošné kostní denzity matematicky na odhadovanou volumetrickou - s chybou, která takovýmto převodem vzniká. Doporučení vyzdvihuje vedle dalších faktorů, zmíněných výše také význam **deficitu vitamínu D a K** u pacientů s CF.

V dokumentu se doporučuje screeningové vyšetření DXA u všech dospělých a dětí >8 let, pokud mají <90% ideální tělesné hmotnosti, FEV1 <50% předpovězeného, celkově podávané glukokortikoidy ≥5 mg/den po ≥ 90 dní/rok, opožděnou pubertu nebo prodělali zlomeniny. Preventivní a terapeutická opatření jsou rozdělena podle výsledků vyšetření denzity kostního minerálu a jsou rozčleněna do 3 stupňů, na každém vyšším stupni se vždy přidává další skupina opatření.

Při počátečním DXA **T/Z-skóre ≥ -1,0** následuje **nutriční intervence** – suplementace vit.D, Ca 1300 – 1500mg (32- 37mmol)/den, vit K 0,3 – 0,5mg (1,7 – 2,9nmol)/den, zvýšení cílové BMI >25.percentil, zintenzivnění fyzické aktivity. Na tomto stupni je doporučeno opakovat DXA vyšetření jednou za 5 let.

Při **–1,0 > T/Z-skóre> -2,0** je doporučována další intervence v oblasti **plicních funkcí a endokrinologická** - agresivní léčba plicní infekce, minimalizace podávání steroidů, léčba diabetu, opožděné puberty, hypogonadismu, endokrinologické konzilium. Při osteoporotických frakturách, před očekávanou transplantací nebo pokud je ztráta BMD >3-5%/rok, je doporučeno podání bisfosfonátů u dospělých. V této skupině je vhodné opakování DXA vyšetření á 2 – 4 roky.

Při **T/Z-skóre ≤ -2,0** je doporučeno zvážit podání **bisfosfonátů** (perorálně alendronát 70mg/týden nebo 10mg denně, perorálně risedronát 35mg/týden nebo 5 mg denně, i.v. pamidronát 30 mg á 3 měsíce, i.v. zoledronát 4-5mg á 1 rok) a opakování DXA á 1 rok.

Co se týče **suplementace vitamínem D**, dávky 800IU denně či až 50 000 IU ergokalciferolu 1x či 2x týdně nemusí být dostatečné [37, 89]. Mezinárodní konsensus [7] doporučuje podávání nejméně 400 IU ergokalciferolu denně u kojenců a nejméně 800 IU u pacientů nad 1 rok věku. Dávky až 12 000 IU dětí <5let věku a až 50 000 IU u pacientů >5 let věku 1x – 2x týdně mohou být nezbytné k dosažení cílové sérové koncentrace 25-(OH)-D 75 – 150 nmol/L (= 30 – 60 ng/ml). Pravděpodobně každé z dostupných analog (ergokalciferol, cholekalciferol, kalcifediol nebo kalcitriol) může při vhodném dávkování zlepšit sérovou hladinu vitamínu D, měřítka homeostázy kalcia a výsledně pomoci zvýšit BMD. Ergokalciferol je podporován pro nízké náklady a relativní bezpečnost. Je méně účinný než cholekalciferol [12, 238]. Pokud je však agresivní suplementace ergokalciferolem neefektivní, doporučuje konsensus zvážit podání polárnějších analog vitamínu D nebo fototerapie. Substituce **testosteronu** u dospělých mužů s CF, resp. estrogenů u CF žen musí být individuálně zvážena, může přinést benefit. Jako efektivní jsou hodnoceny **bisfosfonáty** u pacientů po transplantacích, se zmínkou o závažných nežádoucích účincích, zejména bolesti kostí po intravenózním podání pamidronátu. Jako slibný je hodnocen **růstový hormon** u dětí s CF, nicméně CF není v současné době indikací k podání růstového hormonu.

Také nejnovější **ECFS standard** péče o CF pacienty [120] se zabývá kostním postižením u této choroby, je zdůrazňován deficit trabekulární kosti. ECFS standard doporučuje započít se screeningovým vyšetřením DXA již v 6 letech věku, s následnými kontrolami á 2-3 roky. Častější kontroly jsou doporučovány při zjištěné nízké denzitě, u pacientů s FEV1 <50%, s rodinnou anamnézou osteoporózy a na vysokých dávkách kortikosteroidů. Z léčebně - preventivních strategií je doporučena suplementace vitamínů D a K, zvýšený příjem mléčných výrobků, zvýšená tělesná aktivita, suplementace pohlavních hormonů v případě deficience. Je doporučeno každoroční vyšetření hladiny vitamínu D. Pokud méně agresivní opatření nemají efekt, s léčbou (bisfosfonáty a další specifické léky) se nemá otálet zejména u pacientů před transplantací.

Tabulka č.9 Souhrn studií kostní denzity u cystické fibrózy

AUTOR	ROK	POČET PACIENTŮ	POČET KON-TROL	METODA	DENZITA U CF	KORELACE S
HAHN ET AL.	1979	21	21	FOTONOVÁ ABSORPCI-OMETRIE	SNÍŽENÁ O 14%	
MISCHLER ET AL.	1979	27	968	SPA	SNÍŽENÁ U 37% M A 63% F, NORMÁLNÍ <10R	REDUKCE HMOTNOSTI
SOLOMONS ET AL.	1981	18		RADIOGRA-FICKÁ A FOTONOVÁ	NORMÁLNÍ, ZÚŽENÁ KORTIKALIS	
HANLY ET AL.	1985	20 ADOLESC. A DOSP.		FOTONOVÁ ABSORPCI-OMETRIE	SNÍŽENÁ U 45%	
REITER ET AL	1985	20	20	RADIOGRA-FICKÁ	88 A 89% STANDARDŮ MASSACHU-SETTS A ARIZONY	
GIBBENS ET AL.	1988	57 (29M, 28F) 3-21R	57	QCT -OBRATLE	SNÍŽENÁ	SCHWACHMA-NOVO SKÓRE, PLIC. FUNKCE, RŮST, RTG PLIC
STEAD ET AL.	1988	31(PRŮM 24R, 17-52)		BONE MINERAL INDEX - PŘEDLOKTÍ	SNÍŽENÁ	VĚK
BACHRACH ET.AL.	1992	22 (8M, 14F) 18-42R	77(31M, 46F) 18-39R	DXA - CELOTĚL - L2-4 - PROX.FEM	SNÍŽENÁ	VĚK, HMOTNOST, BMI
DE SCHEPPER ET AL.	1993	31		LUMB. OBR.	Z-SKÓRE >-2SD U 6/31	
GREY ET AL.	1993	16 (8M, 8F)		DXA - CELOTĚL - L2-4 - KRČEK FEM, WARD. TROJ., TROCHANTER	SNÍŽENÁ	BMI, TÍŽE ONEM.
BACHRACH ETAL.	1994	22 (8M, 14F)		DXA -CELOTĚL - KRČEK FEM - L2-4	SNÍŽENÁ	VĚK, HMOTNOST, VÝŠKA, BMI
HENDERSO N ET AL.	1996	62 4,9-17,8 PRŮM. 10,7	109 3,2-17,9R	DXA - PROX.FEM - LUMB.OBR	SNÍŽENÁ	HMOTNOST, FEV1
SALAMONI ET AL.	1996	14 (6,6-19,9R)	14	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR.	NORMÁLNÍ	FFM

BHUDHIKA NOK ET AL.	1996	49 (19M, 30F) 8-48R PRŮM. 20,6	153 (48M, 105F) 20-43R	DXA - LUMB.OBR. - CELOTĚL. - KYČEL	SNÍŽENÁ	VĚK, PUBERT.STAD., KALORIC.VÝDEJ, TÍŽE ONEM., GLUKOKORT., GONAD.FCE, BMI
BARONCELLI ET AL.	1997	59	72	DXA - CELOTĚL	SNÍŽENÁ	
ARIS ET AL.	1998	70, >18R PRŮM. 31,2M 24,9F		DXA - CELOTĚL - FEMUR - LUMB.OBR.	SNÍŽENÁ (PACIENTI S OČEKÁV. PŘEŽ. 2-3R)	GLUKOKORT., BMI, NÁSTUP PUBERTY
BHUDHIKA NOK ET AL.	1998	41 (15M, 26F) 9-50R		DXA - CELOTĚL - FEMUR - LUMB.OBR.	SNÍŽENÁ	GLUKOKORTIK., FYZ.AKTIVITA, TÍŽE ONEM., ZMĚNA BMI
DONOVAN ET AL.	1998	30 DOSP (14M, 16F, 30R+/-2) S POKROČ. PLIC.ONEM.	VÝROBCE, NHANES	DXA - FEMUR - LUMB.OBR - PROXÍM. RADIUS	SNÍŽENÁ, NE U RADIA ŽEN	VĚK, HMOTNOST, BMI, HORŠÍ U VIT.D DEFICIENT.
YESTE ET AL.	1998	41(21M, 20F, 4-21R)	471 (256M, 215F, 1-20R)	DXA - LUMB.OBR	SNÍŽENÁ U VŠECH VĚK.KAT.	VÝŠKA, HMOTNOST, BMI, SCHWACHMAN SKÓRE
DUVEAU ET AL.	1999	45 (22M, 23F, 6-27R)		DXA - LUMB.OBR	SNÍŽENÁ	VÝŠKA, BMI, SCHWACHMAN. SKÓRE, FVC, FEV1
HENDERSON ET AL.	1999	40 5,7-23R PRŮM.11,9R	40	DXA - CELOTĚL	SNÍŽENÁ	PLIC. FCE, NUTRIČ. STAV
LAURSEN ET AL.	1999	134 (62M, 72F) 6,1-45,4R	396	DXA - CELOTĚL	NORMÁLNÍ, KRÁTKÉ A ÚZKÉ KOSTI	BMI, FEV1, PRECIPITINY
HAWORTH ET AL.	1999	151 (83M, 78F) 15-52R PRŮM 25,3R		DXA - L1-L4 - PROX.FEM QCT – L1-L4 SXA – PŘEDL.	SNÍŽENÁ	CRP, PTH, OSTEOKALCIN, KOSTNÍ ALP
IONESCU ET AL.	2000	22 (11M, 11F) PRŮM 23,6R	22	DXA - CELOTĚL - FEMUR - LUMB.OBR.	SNÍŽENÁ	
CONWAY ET AL.	2000	114 (53M, 61F)		DXA - CELOTĚL - KRČ.FEM - L2-4	SNÍŽENÁ	STEROIDY, SCHW-KULTZ.-SKÓRE
ELKIN ET AL.	2000	25 DOSP (20M, 5F)	25 DOSP (20M, 5F)	DXA - CELOTĚL - DOL.KONČ.	SNÍŽENÁ	SVAL. HMOTA A SÍLA
MORTENSEN ET AL.	2000	11 (6M, 5F) 8-12R	11 (6M, 5F) 6-12R	DXA - KYČEL - LUMB.OBR. - RADIUS - ULNA - TROCHANT.	NORMÁLNÍ	

ELLIS ET AL.	2001	42 (24M/18F)	982 (445M, 537F) 5-18R	DXA - CELOTĚL	SNÍŽENÁ 21%CF Z-SK – 1,5 A Ž–2,5, 24%CF Z-SK <- 2,5	
HASLAM ET AL.	2001	22 (14M, 8F) 7,6-12,3 PRŮM 10,2		DXA - CELOTĚL	NORMÁLNÍ	
HARDIN ET AL.	2001	41	17 + VÝROBCE	DEXA - CELOTĚL - LUMB. OBR - KRČ.FEM P - TROCHANT	NORMÁLNÍ	BMI, LTM, , %TUKU
SOOD ET AL.	2001	29 (17M, 12F)	49	DXA - CELOTĚL - KYČEL - L1-4	NORMÁLNÍ	
ARIS ET AL.	2002	45 (23M, 28,3+/- 7,8R)	50 (28M, 28,9+/- 7,8R), VÝROBCE	DXA - PÁTEŘ - FEMUR	SNÍŽENÁ	BMI, CRP, FEV1
FLOHR ET AL.	2002	75 (38M, 37F) PRŮM. 25,3R	VÝROBCE	DXA - L2-4 - KRČ.FEM. QUS – KALKANEUS	SNÍŽENÁ	FEV1, GLUKOKORTIKOIDY
HAWORTH ET AL.	2002	114 PRŮM 25,1R	VÝROBCE	DXA - L1-L4 - PROX.FEM QCT – L1-L4 SXA – PŘEDL.	SNÍŽENÝ PŘÍRŮSTEK	ŽENY, B.CEPACIA, KORTIKOIDY CELK.
FOK ET AL	2002	113		DXA - LUMB.OBR	SNÍŽENÁ PO 9.ROCE	SYST. KORTIKOIDY
BOLTON ET AL.	2003	51	18	DXA -DOLNÍ KONČ, HOR. KONČ., TRUP	SNÍŽENÁ	ZTRÁTA FFM, DEFICIT DOL KONČ.>HOR.KONČ.> TRUP, SKRYTÁ ZTRÁTA FFM
BRENCKMANN ET AL.	2003	40 DOSP.	VÝROBCE	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR. - KRČ.FEM - KYČEL	SNÍŽENA (U POLOVINY), MEZIROČ. ZTRÁTA, VÍCE KYČEL NEŽ LUMB.OBR	
FRANGOLIAS ET AL.	2003	68DOSP(44M, 24F, 18-55R)	VÝROBCE	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR - KRČ.FEM	VĚTŠ. SNÍŽENÁ	BMI, VĚK, POHLAVÍ, TĚL. ZDATNOST
GREER ET AL.	2003	142	149	DXA - LUMB.OBR.	SNÍŽENÁ, NORMÁLNÍ U DĚTÍ, NÍZKÁ U ADOLESCENTŮ A DOSP	
GRONOWITZ ET AL.	2003	70 6-49R		DXA - LUMB.OBR. - KRČ.FEM	SNÍŽENÁ	PLIC. FCE

IONESCU ET AL.	2003	56 (27M,29F) PRŮM. 23R	20 (10M, 10F) PRŮM. 23,6	DXA - CELOTĚL	SNÍŽENÁ	FEV1, SMIP, POČET EXACERB., CRP
LEIFKE ET AL.	2003	40M	40M	DXA - CELOTĚL	SNÍŽENÁ BMD, STEJNÝ %BMC	HLADINY TESTOSTERONU
UJHELYI ET AL.	2004	38 (22M, 16F)	NÁRODNÍ MAĎAR-SKÁ	DXA -KRČ.FEM L - L1-4 2R SLEDOVÁNÍ	SNÍŽENÁ U DĚTÍ I ADOLESC	TÍŽE ONEMOCNĚNÍ, BMD Z-SK-MATKY
HAWORTH ET AL.	2004	30		DXA - LUMB.OBR - KYČEL -DIST.PŘEDL.	SNÍŽENÁ, ZLEPŠENÍ PO VÍCE KALCIA A VIT.D	
ROSSINI ET AL.	2004	191 DOSP. (18-50R; 100M, 91F)	VÝROBCE, NHANES	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR - PROX. KRČ.FEM	SNÍŽENÁ	HMOTNOST, ZAČ.PUBERTY, KUMUL. DÁVKA KORTIKOIDŮ, FEV1, SÉR.ALBUMIN, IGG, CHOLINESTE-RÁZA
GIRON ET AL.	2004	34 (19M, 15F, PRŮM. 23R)		DXA - LUMB.OBR - KRČ.FEM	SNÍŽENÁ (54% NÍZKÁ)	VĚK, INHAL. KORTIKOIDY, PLIC.FCE
GRONOWIT Z ET AL.	2004	54 (25M,29F) 6-33R PRŮM 17R	VÝROBCE	DXA - LUMB.OBR. - KRČ.FEM	SNÍŽENÁ, NORMÁLNÍ PŘIBÝVÁNÍ	PTH, FW, IMUNOGLO-BULIN G, IV ANTIBIOTIKA
LANG ET AL.	2004	34 DOSP (20-47R, 21M, 13F)		QDR	SNÍŽENÁ (NORM.U 38%)	BMI, FEV1
BUNTAIN ET AL.	2004	153 (84M,69F) 5,3-55,8R	149 (66M, 83F) 5,6-48,3R	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR - KRČ.FEM – PŘEDL	NORMÁLNÍ U DĚTÍ, SNÍŽENÁ U DOSPĚLÝCH	NUTRIČ.STAV, TÍŽE ONEM.
CAWOOD ET AL.	2005	81 DOSP (MEDIÁN 27R)		DXA - LUMB.OBR. - FEMUR 2R SLEDOVÁNÍ, 36 PAC.BISFOS-FONÁTY		BISFOSFONÁTY POZIT.EFEKT
CONWAY ET AL.	2005	106(52M, 54F, PRŮM. 10,95R)	VÝROBCE	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR	NORMÁLNÍ CELOTĚL, SNÍŽ LUMB.OBR	MARKERY KOST.OBRATU
HARDIN ET.AL	2005	25(13,4-16,11R, TAN-NER ST.III-IV)	1200	DXA CELOTĚL	NÍZKÉ BMC	ZLEPŠENÍ PO LÉČBĚ RŮST.HORMO-NEM
KING ET AL.	2005	88 DOSP (29,9+/-7,7)		DXA - LUMB.OBR -KRČ.FEM	NÍZKÁ LUMB.OBR	DF508, NÍZKÝ FEV1, FFM, 25(OH)VIT.D, MALNUTRICE, MUŽI

BUNTAIN ET AL.	2005	85 (5,3-18,1, 39F, 46M)	100	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR - KRČ.FEM - 33%DÉLKY RADIA - DIST.RADIUS	NORMÁLNÍ (KOREKCE I K VÝŠCE A LEAN TISSUE MASS)	KOST.VĚK, CF-JATERNÍ ONEM., CF-DIABETES
GIRÓN RM ET AL.	2005	21 (19-44R, PRŮM.24,3, 10F, 11M)	VÝROBCE	DXA - LUMB.OBR - KRČ.FEM -TOTAL FEMUR	NÍZKÁ (14,2%<- 2 SDS, 38% MEZI -1 A -2,5 SDS), RYCHLÝ POKLES	FEV1, ZLEPŠÍ POUZE BISFOSFONÁT
COLOMBO ET AL	2005	7 CF TRANSPL. JATER (MEDIÁN 14,8R), 8 CF BEZ NÍ (MEDIÁN 15,9)		DXA - CELOTĚL 1R SLEDOVÁNÍ	NÍZKÁ	ZLEPŠENÍ PO TRANSPLANTACI
BUNTAIN ET AL.	2006	85(5-18R)	100	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR - KRČ.FEM SLEDOVÁNÍ 2R	NÍZKÉ PŘÍRŮSTKY	LEAN TISSUE MASS, PLIC.FCE
GORDON ET AL.	2006	32(18F, 14M, 26,2+/-7,9R)	USA (KELLY, LOOKER)	DXA - LUMB.OBR - KRČ.FEM -TOTAL FEMUR	NÍZKÁ	IGF-1; INVERZNĚ IL-1B
CASTELLANI ET AL	2006	82 (43F, 39M)			18% NORMA, 56% OSTEOPENIE, 26% OSTEOPORÓZA	HMOTNOST, BMI, FEV1, MUATCE R1162X A DF508, VARIANTY GENU PRO ESTROGENOVÝ RECEPTOR ALFA
NICOLAIDOU ET AL.	2006	20 (6-17R)	HOLOGIC; 25 (8-17R)	DXA -LUMB.OBR	25% Z-SK. -2,5AŽ -1, 25% POD -2,5	PLIC.FCE, BMI-Z-SK., VITAMÍN K
SCHULZE ET AL.	2006	18F (7-18R)	HOLOGIC	DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR, 1-4R SLEDOVÁNÍ	NÍZKÉ PŘÍRŮSTKY KOSTNÍHO CA	IGF-1, BMI-Z-SK.
BIANCHI ET AL	2006	136 (3-24R)		DXA - CELOTĚL - LUMB.OBR,	66% NÍZKÁ BMD, NÍZKÁ FM A LBM	FEV1, PUBERTA, POČET DESTIČEK, KUMULAT.DÁV. STEROIDŮ, LBM PRO CELOTĚL A DK, FM PRO LUMB. OBR.

ALEX G ET AL.	2006	13 (10-19R) S CF JATERNÍM ONEM, 13 CF BEZ NĚJ	HOLOGIC	DXA - LUMB.OBR,		NE JATERNÍ ONEM.

III. CÍLE PRÁCE

1. Zhodnotit denzitu kostního minerálu u pacientů CF center v Tübingenu a v Hradci Králové
2. Vyhodnotit přínos 2 použitých denzitometrických metod – DXA a pQCT
3. Identifikovat faktory, které kostní minerální denzitu u těchto pacientů ovlivňují
4. Identifikovat přídatná hlediska významná při hodnocení kostního scanu

IV. SOUBOR PACIENTŮ A METODY

IV.A SOUBOR PACIENTŮ

Tabulka č.10 Soubor

SKUPINA	POČET			VĚK PŘI VYŠETŘENÍ, RESPEKTIVE PŘI PRVNÍM VYŠETŘENÍ					PROCENTO <18LET
	OSOB	MUŽI	ŽENY	MIN	MAX	PRŮM.	SMĚR. ODCH.	MEDIÁN	
CF Tübingen	33	18	15	4.5	43,7	13,6	8,1	10.4	79
CF-HK	42	16	26	4.3	45	14,4	9,3	10,9	69
Celkem	**75**	**34**	**41**	**4,3**	**45**	**14,0**	**8,8**	**10,8**	**73**

IV.A.1. PACIENTI S CYSTICKOU FIBRÓZOU TÜBINGEN (CF-TÜBINGEN)

Pacienti byli vyšetřeni pouze jednou.

IV.A.1.1 Vstupní kritéria - pacient centra pro cystickou fibrózu Klinik für Kinderheilkunde und Jugendmedizin der Eberhard Karls Universität Tübingen, Německo, s potvrzenou diagnózou CF dle diagnostických kritérií Cystic Fibrosis Foundation (viz str.57)

- informovaný souhlas

IV.A.1.2 Vylučovací kritéria - věk pod 4 roky ,

- těhotenství
- redukční deformity končetin a obrny
- kardiostimulátor

Pacienti a jejich rodiče byli osloveni při ambulantním vyšetření nebo za hospitalizace a byla jim nabídnuta možnost vyšetření denzity kostního minerálu a složení těla. Byli informováni o studii, přínosech a rizicích vyšetření a v případě participace podepsali informovaný souhlas. U pacientů mladších 18 let byl vyžádán souhlas rodičů. Vyšetření byla provedena v období leden 2003 – duben 2003.

IV.A.1.3 Mutace CFTR, pankreatická suficience

Tyto parametry nebyly zjišťovány zvlášť, ale byly převzaty z dostupné dokumentace pacienta.

Mutace CFTR jsou vyšetřovány na oddělení lékařské genetiky Univerzity Tübingen (Medizinische Genetik Tübingen, Institut für Humangenetik, Eberhard Karls Universität Tübingen, Německo). Diagnóza mutace CFTR byla jedním ze základních diagnostických kritérií pro zařazení do této studie (viz definice cystické fibrózy, str.57). K testování **pankreatické suficience** se užívá stanovení aktivity pankreatické elastázy ve stolici, k testování dostatečnosti pankreatické substituce se stanovuje množství tuku ve stolici.

IV.A.1.4 Antropometrie

Zjišťované parametry – hmotnost

- výška

Hmotnost byla měřena na digitální váze s přesností na 0,1kg, výška pomocí stadiometru s přesností na 0,1cm. Ke zhodnocení antropometrických parametrů jsem použila data ze studie DONALD. Tím bylo současně zajištěno i srovnání antropometrických charakteristik se souborem, na kterém byla provedena referenční měření pQCT.

Hmotnost k výšce (Längen-Soll-Gewicht – LSG) - jedná se o procento ideální hmotnosti pacienta, jakou by měl mít vzhledem ke své výšce. Tato hodnota byla vypočítávána při každé návštěvě v CF ambulanci pomocí speciálního počítačového programu na základě německých referenčních dat. Počítá se dle následující formule:

$$\textbf{LSG(v procentech)} = \frac{\textbf{aktuální hmotnost x 100}}{\textbf{ekvivalent tělesné hmotnosti k percentilu výšky}}$$

Jako referenční pro výpočet LSG byla použita data ze studie Reinkena a van Ooosta [182]. Při sběru dat jsem tuto hodnotu převzala z dokumentace pacienta.

IV.A.1.5 Biochemické charakteristiky

Vyšetření jsou prováděna v centrální laboratoři Univerzitní kliniky Tübingen.

Zjišťované parametry:

- koncentrace celkového kalcia v séru (Ca, NORMA 2,1 – 2,74 mmol/L)
- koncentrace fosforu v séru (P, NORMA děti 1,45 – 2,16 mmol/L, dospělí 0,81 – 1,55 mmol/L)
- koncentrace 25-(OH)-vitamínu D v séru (NORMA 20 – 80 nmol/L)

- aktivita alkalické fosfatázy v séru (ALP, NORMA 2-9.rok 110 – 500 U/L, 9-15 roků 130 – 700 U/L, dospělí muži 70 – 175 U/L, dospělé ženy 55 – 147 U/L)
- sérová koncentrace celkového imunoglobulinu G (IgG, NORMA 2. - 5.rok 5,00 – 14,4 g/L, 5. – 10. rok 5,70 – 14,1 g/L, nad 10 roků 7,7 – 18,0 g/L)

Biochemické charakteristiky u CF-Tübingen byly získány při pravidelném vyšetření každého pacienta a v době vyšetření kostní denzity a složení těla nebyly starší než 6 měsíců.

IV.A.1.6 Plicní funkce

Přístroj: celotělový pletyzmograf MasterScreen Body Jäger, Würzburg, Spolková republika Německo

Zjišťované parametry - usilovně vydechnutý objem za první vteřinu (FEV1)

Vyšetření bylo prováděno jednou vyškolenou sestrou v CF ambulanci metodou tělové pletysmografie.

IV.A.1.7 Vyšetření složení těla

IV.A.1.7.1 Bioelektrická impedanční analýza (BIA)

Přístroj: BIA 2000S, Data Input, Frankfurt, Německo.

Zjišťované parametry – tělesný tuk (kg)

- tělesná voda (l)

Z technických důvodů bylo vyšetření BIA provedeno u 31 pacientů z celkových 33.

Software používal formuli dle Kushner et al. pro výpočet celkové tělesné vody [total body water (TBW) = 0.59 ht(výška)^2/resistance (R) + 0.065 hmotnost (wt) + 0.04] a formuli dle Deurenberg et al. pro určení extracelulární vody. Referenční data poskytnutá výrobcem byla součástí softwaru přístroje. Kontraindikací tohoto vyšetření je implantovaný kardiostimulátor, slabý elektrický proud, který tělem pacienta při vyšetření probíhá, může způsobit poruchu kardiostimulátoru.

IV.A.1.7.2 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (DXA)

Přístroj: DPX, Lunar, GE Medical Systems, Solingen, Německo.

Přístroj s chodem paprsků v modu pencil-beam.

Zjišťované parametry – podíl měkké tkáně bez tuku (LBM, kg)

- tuk (FM, kg)

Bylo provedeno celotělové vyšetření. Z důvodu technické závady na přístroji bylo vyšetřeno pouze 24 pacientů z celkového počtu 33 (72.7%).

Denní kontrola kvality byla prováděna blokovým fantomem a týdenní kontrola kvality spinálním hliníkovým fantomem ponořeným do vody. Měření byla prováděna 2 operátory. Použila jsem s vědomím určité nepřesnosti orientačně referenční hodnoty zdravých dětí a mladých dospělých evropského původu ve věku 4-23 roků z nizozemské studie autorů van der Sluis et al. [243]. Autoři této studie použili taktéž přístroj Lunar DPX. Dále jsme srovnávali vzájemně výsledky BIA a DXA vyšetření.

Součtem hmotnosti měkkých tkání bez tuku (LBM) a hmotnosti kostního minerálu (BMC) jsme získali fat free mass (FFM, kg).

IV.A.1.8 Vyšetření denzity kostního minerálu

IV.A.1.8.1 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (DXA)

Přístroj: DPX, Lunar, GE Medical Systems, Solingen, Německo.

Přístroj s chodem paprsků v modu pencil-beam.

Obrázek č.9 DXA přístroj DPX, Lunar (ilustrační foto, součást propagačních materiálů prodejce)

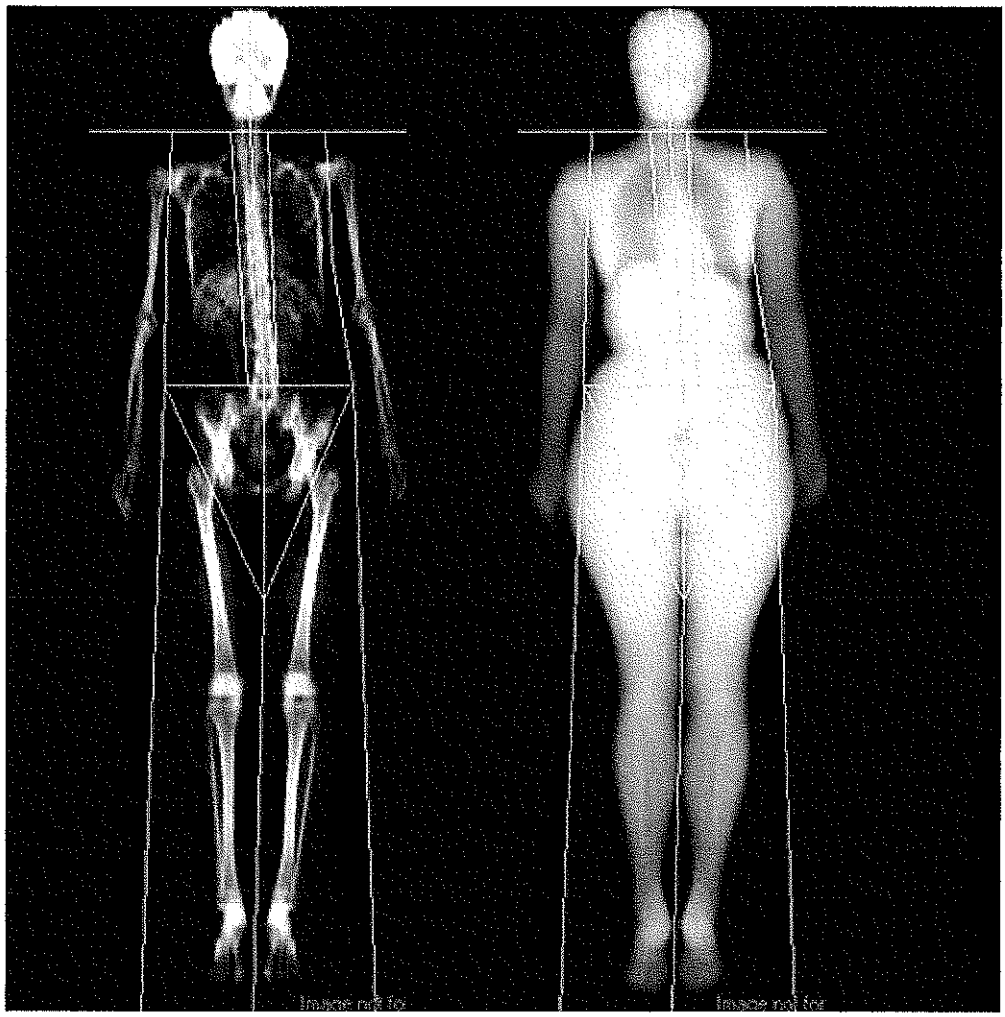
Zjišťované parametry – denzita kostního minerálu (BMD, g/cm²)

- obsah kostního minerálu (BMC, kg)

Bylo provedeno celotělové vyšetření, jako jedna ze dvou metod doporučovaných ISCD [I-2]. Denní kontrola kvality byla prováděna blokovým fantomem a týdenní spinálním hliníkovým fantomem ponořeným do vody. Měření byla prováděna 2 operátory.

Byla použita **DXA referenční data** denzity kostního minerálu poskytnutá výrobcem, vycházející ze studií provedených v USA, Austrálii, Argentině, Brazílii, Francii, Španělsku, Itálii, Velké Británii a severní Evropě, zahrnující populaci kavkazského původu [126, 142, 146, 147, 174]. Pediatrická referenční data byla schválena k použití FDA. Srovnáním pacientových dat s referenčními dle věku a pohlaví bylo vypočteno **Z-skóre (= [pacientova BMD – průměrná BMD]/SD).**

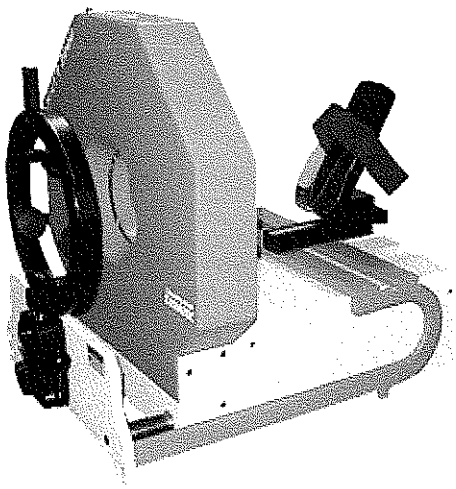
Obrázek č.10 Výsledný obraz získaný při DXA vyšetření, s vyznačenými hranicemi tělesných oblastí k vyhodnocení (ilustrační foto, příklad)**:**



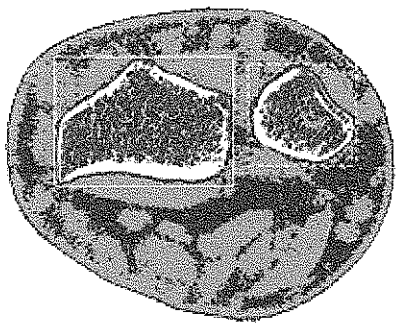
IV.A.1.8.2 Periferní kvantitativní výpočetní tomografie (pQCT)

Přístroj: XCT 2000, Stratec, Pforzheim, Německo.

Obrázek č.11 Přístroj XCT 2000 (ilustrační foto, součást propagačních materiálů prodejce):



Obrázek č.12 Obraz získaný při vyšetření pQCT – řez v oblasti distálního předloktí s vyznačením „region of interest" (= oblast zájmu - ROI) (příklad):



S použitím pQCT byly změřeny následující parametry:

- volumetrická kostní denzita (g/cm³)
- plochy příčného průřezu kostními komponentami (mm²)
- plocha příčného průřezu svalem (mm²)

Měření bylo provedeno na nedominantním předloktí. Jako „délka předloktí" byla s vědomím určitého zevšeobecnění použita vzdálenost mezi koncem olekranonu a koncem processus styloideus ulnae. Byly provedeny dva tomografické řezy při velikosti voxelu 0,4x0,4x2mm. Voxel je nejmenší složka získaného obrazu, má tvar hranolu, tomuto hranolu je přisouzena

určitá denzita.

1. řez distálním radiem ve 4% délky předloktí centripetálním směrem. Zjišťovaným parametrem byla volumetrická denzita trámčité kosti radia (TBD, g/cm³). Tato oblast byla zvolena kvůli anatomické skladbě, je totiž již vzdálena od vysoce denzní oblasti růstové ploténky a tvořena je trabekulární kostí s vrstvou kortikalis na povrchu. Při vyšetření jsme zadali délku předloktí pacienta. Poté jsme provedli orientační podélný scan a manuálně určili oblast růstové chrupavky. Určení vzdálenosti řezu pak provedl přístroj sám.

2. řez proximálním radiem v 65% délky předloktí,centripetálním směrem. Zjišťované parametry -
- celková plocha průřezu (CSA) radiem (mm²)
- CSA kortikální kosti radia (mm²)
- volumetrická denzita kortikální kosti radia (g/cm³)
- CSA kostní dření (mm²)
- CSA svalovinou předloktí (mm²)

Určení místa řezu provedl přístroj sám.

Obvod předloktí v tomto místě představuje průměrně 99,5% maxima a reprezentuje maximální plochu příčného průřezu svalovinou předloktí. Kost je zde anatomicky tvořena silnou vrstvou kortikalis, ta vytváří „trubku" vyplněnou kostní dření.

Relativní vzdálenost byla zvolena vzhledem k růstu dětí a velmi rozličným tělesným parametrům jednotlivých subjektů. Vnější a vnitřní kontury kortikální kosti byly detekovány na hranici 0,710 g/cm³. Plocha dřeně představuje rozdíl mezi celkovou plochou průřezu proximálním radiem a plochou příčného průřezu kortikalis v tomto místě. Plocha příčného průřezu svalem byla měřena na hranici 0,030-0,070 g/cm³. Zpracování obrazu a výpočet numerických hodnot byly provedeny za použití specializovaného softwaru spojeného s přístrojem (verze 5.4, Stratec, Inc.). Z-skóre bylo vypočítáno srovnáním s referenčními hodnotami ze studie DONALD [160–162, 211-214].

Měření byla prováděna 2 operátory.

Jako **pQCT referenční data** byla použita data prezentovaná autory C.M.Neu, F.Rauch F.Manz a E.Schönau, která představují výsledky studie DONALD.

Tabulka č. 11 Normální hodnoty CSA kortikalis/ČSA svalu dle Schönau et al. [212]:

TANNER STADIUM	1	2	3	4	5	DOSPĚLÍ
Chlapci	0,015-0,030	0,018-0,029	0,015-0,030	0,017-0,023	0,016-0,031	0,013-0,028
Dívky	0,014-0,033	0,019-0,027	0,019-0,027	0,019-0,029	0,020-0,032	0,016-0,030

IV.A.1.8.3 Intervenční studie s kalciem a vitamínem D – nebyla provedena u pacientů CF-Tübingen

Suplementace vitamínem D nebyla v době studie prováděna. V současné době se řídí platným evropským doporučením [222], je podáváno 500 – 1000 IU.V léčbě jsou využívány multivitamínové preparáty.

IV.A.1.9 Radiační riziko pro pacienty

Celková efektivní dávka ionizujícího záření byla <14μSv. Ve srovnání s přirozeným radiačním pozadím to reprezentuje lehce vyšší dávku, než je získaná z přirozeného pozadí za 2 dny (jeden den – 6,6 μSv, jeden rok 2 400 μSv [215]).

IV.A.2 PACIENTI S CYSTICKOU FIBRÓZOU HRADEC KRÁLOVÉ (CF-HK)

Tito pacienti byli vyšetřeni dvakrát. Druhé vyšetření bylo provedeno v odstupu 1 roku po prvním.

IV.A.2.1 Vstupní kritéria - pacient centra cystické fibrózy Dětské kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové s potvrzenou diagnózou CF dle diagnostických kritérií Cystic Fibrosis Foundation (viz str.86).

IV.A.2.2 Vylučovací kritéria - věk pod 4 roky
- těhotenství
- redukční deformity končetin a obrny

Pacienti byli vyšetřeni v rámci ambulantních kontrol nebo hospitalizací k pravidelné antibiotické léčbě. Pacienti nad 18 let věku nebo rodiče pacientů mladších 18 let podepsali

informovaný souhlas s navrhovanými vyšetřeními a léčbou. Vyšetření byla provedena v období květen 2003 – leden 2005.

IV.A.2.3 Mutace CFTR, pankreatická suficience, CF-hepatopatie, mikrobiální osídlení

Mutace CFTR jsou vyšetřovány na Ústavu klinické biochemie a diagnostiky Fakultní nemocnice Hradec Králové, nebo v molekulárně genetické laboratoři Centra pro diagnostiku a léčbu cystické fibrosy Fakultní nemocnice Praha Motol. Diagnóza mutace CFTR byla jedním ze základních diagnostických kritérií pro zařazení do této studie (viz definice cystické fibrózy, str.57). **Pankreatická suficience** je zjišťována na základě vyšetření aktivity pankreatické elastázy ve stolici. O **CF-hepatopatii** hovoříme tehdy, pokud jsou přítomny nejméně 2 z následujících nálezů: hepatomegalie, splenomegalie, abnormální sonografie jater, elevace alespoň 2 jaterních enzymů (ALT, AST, GMT, ALP) více než 1,5x oproti normě [247]. **Mikrobiální osídlení** se zjišťuje při pravidelných kontrolách ambulantních nebo za hospitalizace kultivací sputa anebo kultivací tekutiny získané žaludeční laváží po nočním lačnění u pacientů, kteří nedokážou cíleně odkašlat a vyplivnout sputum. Kultivační vyšetření je prováděno Ústavem klinické mikrobiologie nemocnice Hradec Králové.

IV.A.2.4 Antropometrie

Zjišťované parametry – hmotnost a výška.

Hmotnost CF i IBD pacientů byla měřena u pacientů do hmotnosti 50 kg na váze od výrobce Transporta Vítkovice, závod Úpice, Česká republika s přesností na 0,1 kg, u pacientů s hmotností nad 50kg na kombinovaném zařízení váha + stadiometr typ 05-0, výrobce Transporta, n.p. Chrudim, závod 02 Úpice, Česká republika, s přesností na 0,1kg. Výška pacientů byla měřena na tomtéž zařízení s přesností na 0,1cm.

Hmotnost, výška, BMI a hmotnost k výšce českých pacientů s věkem <18 let byla srovnávána s populačními referenčními hodnotami pomocí programu Růst 2 [136], který je součástí CD „Kompendium pediatrické auxologie" autorů Lesný a Krásničanová. U pacientů starších 18 let to již program neumožňoval, ke zhodnocení stavu výživy byla použita klasifikace WHO, vymezující BMI < 18,5 kg/m2 jako podvýživu, 18,5 – 24,9 kg/m2 jako normální hmotnost, 25 – 29,9 kg/m2 jako nadváhu a ≥ 30 kg/m2 jako obezitu.

IV.A.2.5 Biochemické charakteristiky

Zjišťované parametry:

- sérová koncentrace celkového kalcia (Ca, NORMA 2,17 – 2,65 mmol/L)
- sérová koncentrace fosfátu (P, NORMA 1,1 – 1,9 mmol/L)
- sérová koncentrace 25-(OH) –vitamínu D (NORMA 23 – 113 nmol/L) (pozn. Tento parametr byl zjišťován až při druhém vyšetření, u 3 pacientů.)
- sérová koncentrace 1,25-$(OH)_2$-vitamínu D (NORMA 43-150 pmol/L) (pozn. Tento parametr byl v prvním vyšetření zjišťován u 3 pacientů, v druhém vyšetření u 8 pacientů.)
- aktivita alkalické fosfatázy v séru (ALP, NORMA 1 – 4,8 μkat/L)
- sérová koncentrace celkového imunoglobulinu G (IgG, NORMA 2 – 5. rok 4,58 – 16 g/L, 5 – 10 roků 3,95 – 19,3 g/L, dospělí 7,3 – 19,5 g/L)
- vylučování vápníku močí za 24 hodin (fU-Ca, NORMA 0,5 – 4 mmol/24hodin) a vylučování vápníku močí za 24 hodin vzhledem k tělesné hmotnosti (fU-Ca/kg, NORMA 0,06±0,03 mmol/kg/24hod)

Vzhledem k částečně retrospektivnímu sběru dat nebylo provedeno vyšetření biochemických kostních markerů.

Laboratorní biochemická vyšetření u CF-HK byla provedena v době vyšetření kostní denzity. Aktivita ALP byla stanovována pomocí ALP IFCC liquid assay (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Koncentrace 25-(OH)-vitamínu D a 1,25-$(OH)_2$ – vitamínu D v séru byly zjišťovány metodou RIA. Tato biochemická vyšetření prováděl Ústav klinické biochemie a diagnostiky FNHK.

IV.A.2.6 Plicní funkce

Data byla získána při pravidelném přešetření pacientů metodou tělové pletysmografie na I. interní klinice FNHK.

Přístroj: MGC 1085D a MGC PF/Dx, MedGraphics Cardiopulmonary Diagnostic Systems, St. Paul, Minnesota, USA.

Zjišťované parametry
- usilovně vydechnutý objem za první vteřinu (FEV1)
- funkční vitální kapacita (FVC)
- střední výdechová rychlost (FEF 25 - 75)
- reziduální objem (RV)

Všechny výsledky jsou vyjádřeny v procentech náležitých hodnot.

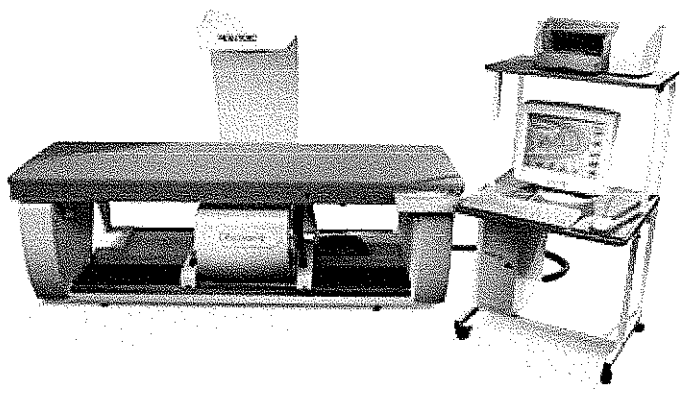
IV.A.2.7. Vyšetření složení těla - nebylo prováděno u CF-HK

IV.A.2.8 Vyšetření denzity kostního minerálu

IV.A.2.8.1 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie (DXA)

Přístroj: multidetektorový přístroj s vějířovitým chodem paprsků (fan-beam) QDR 4500 nebo Delphi A, Hologic, Bedford, USA. Oba přístroje byly zkříženě kalibrovány, aby bylo možno údaje srovnávat.

Obrázek č. 13 DXA přístroj Delphi A, Hologic (ilustrační foto, součást propagačního materiálu výrobce):



Byl použit software verze 11.2.1

Zjišťované parametry – denzita kostního minerálu (BMD, g/cm²)

- obsah kostního minerálu (BMC, g)
- plocha projekce kosti (BMA cm²)

U pacientů <20 let věku byla vyšetřena oblast lumbálních obratlů v anterioposteriorní projekci v rozsahu L1 – L4. U pacientů >20 let věku byla vyšetřena vedle lumbálních obratlů také oblast levého femuru.

Přístroj Hologic obsahuje vnitřní kalibrační kolo. Denní kontrola kvality byla prováděna fantomem ve tvaru páteře (4 modely obratlů z hydroxyapatitu zapuštěné do epoxyresinu). Pro femur byl používán model proximálního femuru zapuštěný do epoxyresinu. 1x týdně byla prováděna kontrola blokovým fantomem (4 bloky z hydroxyapatitu o dané standardní denzitě). Koeficient variance byl do 1,5%. Při měření se střídali 2 operátoři.

Referenční data pro anterioposteriorní projekci lumbální páteře byla poskytnuta výrobcem jako součást přístrojového softwaru. Zahrnují populaci kavkazského původu z různých oblastí Evropy a Ameriky. Referenční data pro měření v oblasti femuru vycházejí ze studie NHANES (National Health and Nutrition Evaluation Survey).

IV.A.2.8.1.1 Korekce výsledků dle hmotnosti a výšky

Provedla jsem se orientační korekci Z-skóre BMD dle hmotnosti a výšky pacienta. Zjistila jsem dle růstových tabulek, kterému věku odpovídá daná hmotnost nebo výška na 50. percentilu, pak jsem u této věkové skupiny provedla kalkulaci Z-skóre s ohledem na výšku či hmotnost (height- and weight-adjusted Z-score).

IV.A.2.8.2 pQCT - nebylo prováděno u CF-HK

IV.A.2.8.3 Druhé vyšetření

V ročním odstupu bylo provedeno 2. vyšetření stejných parametrů ke zjištění meziročních trendů u 21 pacientů (50%).

IV.A.2.8.4 Intervenční studie s kalciem a vitamínem D

CF-HK pacienti dostávali preparát Infadin (obsahuje ergokalciferol v množství 800 IU/kapka, výrobce Slovakofarma a.s., Hlohovec, Slovenská republika). Před intervencí se jednalo zpravidla o 2 kapky ergokalciferolu denně (maximum 5 kapek), což představuje 1600 IU (resp. maximálně 4000 IU).

U pacientů, kteří měli nízký odpad kalcia v moči za 24 hodin, byla zvýšena suplementace vitamínu D, zpravidla zpočátku o 2 kapky ergokalciferolu denně a zavedena suplementace kalcia, zpravidla zpočátku 250mg na den v tabletách Vitacalcin (1 tableta obsahuje 693,7mg uhličitanu vápenatého, což odpovídá 250mg kalcia, výrobce Slovakofarma a.s., Hlohovec, Slovenská republika). Odpad kalcia do moči za 24 hodin byl kontrolován á 3 měsíce a podle výsledku byla suplementace dále upravována.

IV.A.2.9 Radiační riziko pro pacienty

U pacientů <18 let věku bylo jediným vyšetřením se zátěží ionizujícím záření DXA scan lumbální páteře, který představuje dle údajů výrobce 0,05 – 0,2 mGy. U pacientů >18 let věku byl proveden i scan femuru, součet obou vyšetření představuje zátěž 0,1 – 0,4 mGy.

IV.B STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ CF-TÜBINGEN A CF-HK

Metodami pro statistické vyhodnocení byly z parametrických testů dvouvýběrový a jednovýběrový t-test, z neparametrických testů Wilcoxonův test a Mann-Whitney U-test, dále lineární regrese, korelační analýza a analýza rozptylu, mimo jiné za použití software Microsoft Office Excel 2003 a statistického software NCSS 2001. Statistická analýza byla provedena ve spolupráci s RNDr.Evou Čermákovou a ing.Josefem Bukačem, Ústav lékařské biofyziky Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové.

V. VÝSLEDKY

V.A PACIENTI CENTRA PRO CYSTICKOU FIBRÓZU TÜBINGEN (CF-TÜBINGEN)

Vyšetřeno bylo celkem 33 osob, z toho 15 osob ženského pohlaví a 18 osob mužského pohlaví, medián věku 10,4 roků.

V.A.1 Mutace, pankreatická suficience

12 pacientů (36%) bylo homozygotů pro mutaci F508del, 14 pacientů (42%) bylo složenými heterozygoty pro mutaci F508del, 2 pacienti (6%) měli obě dvě mutace jiné, u 4 pacientů (12%) nebyl molekulárně genetický profil identifikován a u 1 pacienta nebyl zatím proveden. Mimo výše uvedenou mutaci F508del se u souboru CF-Tübingen vyskytovaly následující mutace: G542X (3x), 1717-1G->A (2x), 3905insT (1x), N1303K (1x), E379X(1x).
2 pacienti – sourozenci (6%) byli pankreaticky suficientní.

V.A.2 Antropometrické, spirometrické a biochemické charakteristiky

Antropometrické, spirometrické a biochemické charakteristiky - Tabulka č.12.

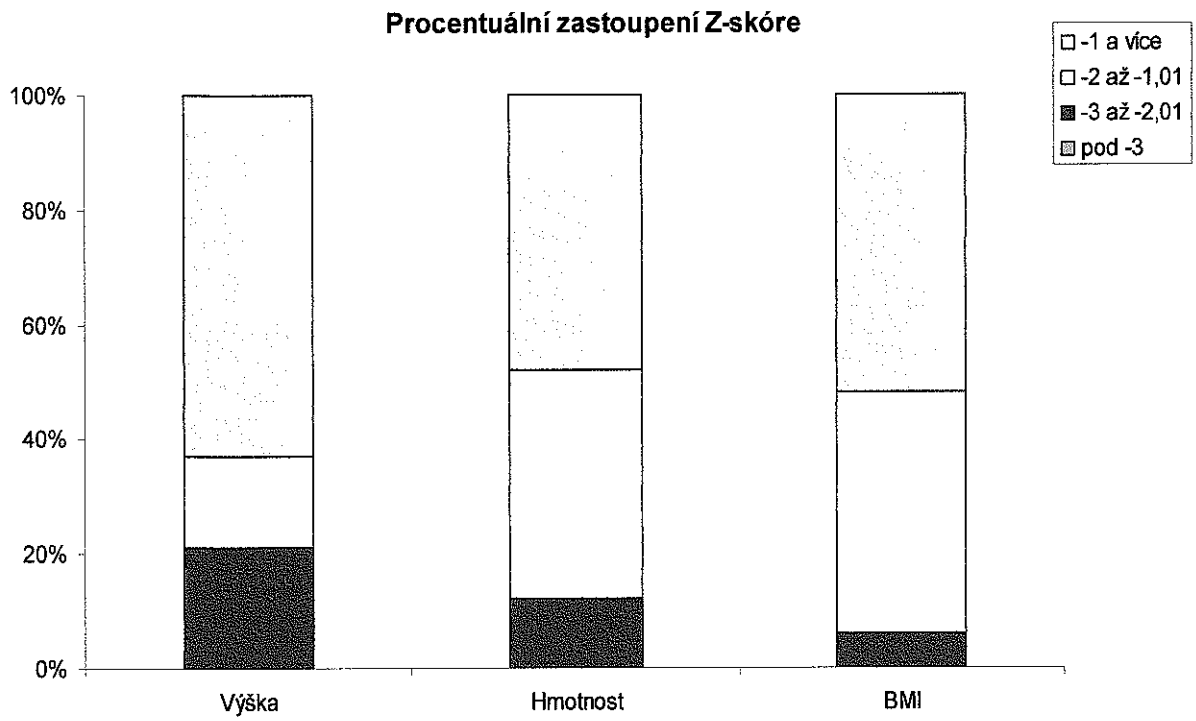
Výška, hmotnost a BMI pacientů CF-Tübingen byly signifikantně nižší než u normální populace ($p < 0,001$, $p < 0,01$ a $p < 0,001$). 62% pacientů mladších 18 let věku mělo hmotnost nad 90% náležité hmotnosti k výšce. **Graf č.1** podává přehled procentuálního zastoupení hodnot Z-skóre pro antropometrické parametry. Jedná se o srovnání s referenční skupinou ze studie DONALD.

Sérová koncentrace Ca byla v normě u všech pacientů, sérová hladina fosfátů byla snížena u 1 dospělého a 1 dítěte (6%), zvýšena u 1 dospělého (3%). Hladina 25-(OH)-vitamínu D byla zvýšena u 4 subjektů (12%), u žádného nebyla pod dolní hranicí normy. Hodnoty FEV1 se pohybovaly v širokém rozmezí, u 65 % (ze 26 pacientů, u kterých byla vyšetřena) byla FEV1v normě, u 35% snížena (<80% z náležité hodnoty), jako skupina měli tito pacienti nižší FEV1, $p = 0,001$. Hladina ALP byla zvýšena u 3 dospělých pacientů (9%), u všech ostatních byla v normě. Hladina IgG byla zvýšena u 2 dospělých (6%) a snížena u jednoho dítěte (3%), u ostatních byla v normě.

Tabulka č.15 Antropometrické, spirometrické a biochemické charakteristiky pacientů CF-Tübingen

	POCET	PRUMER	SMĚROD. ODCHYL.	MEDIAN	MINIMUM	MAXIMUM
Věk [roky]	33	13,6	8,1	10,4	4,5	43,7
Výška [m]	33	1,44	0,21	1,41	1,04	1,79
Výška Z-skóre	30	-0,80	1,19	-0,59	-2,82	1,65
Hmotnost [kg]	33	35,5	15,0	32,2	16,0	68,8
Hmotnost Z-skóre	30	-1,20	1,16	-1,23	-3,69	1,10
Hmotnost k výšce [%]	26	92	12	92	68	116
BMI (>18let) [kg/m²]	7	18,4	2,0	18,4	15	20,9
BMI Z-skóre (včetně <18let)	30	-1,06	1,05	-1,08	-3,43	1,5
FEV1 [%]	26	82,4	25,9	88,5	33,0	133,0
Ca [mmol/L]	26	2,42	0,11	2,40	2,10	2,60
P [mg/dL]	24	1,33	0,25	1,37	0,81	1,71
IgG [g/L]	25	10,62	3,98	10,10	3,44	19,40
ALP [U/L]	24	301	117	321	94	606
25-OH-vitamín D [nmol/L]	14	55,6	22,4	49,5	27,0	99,0

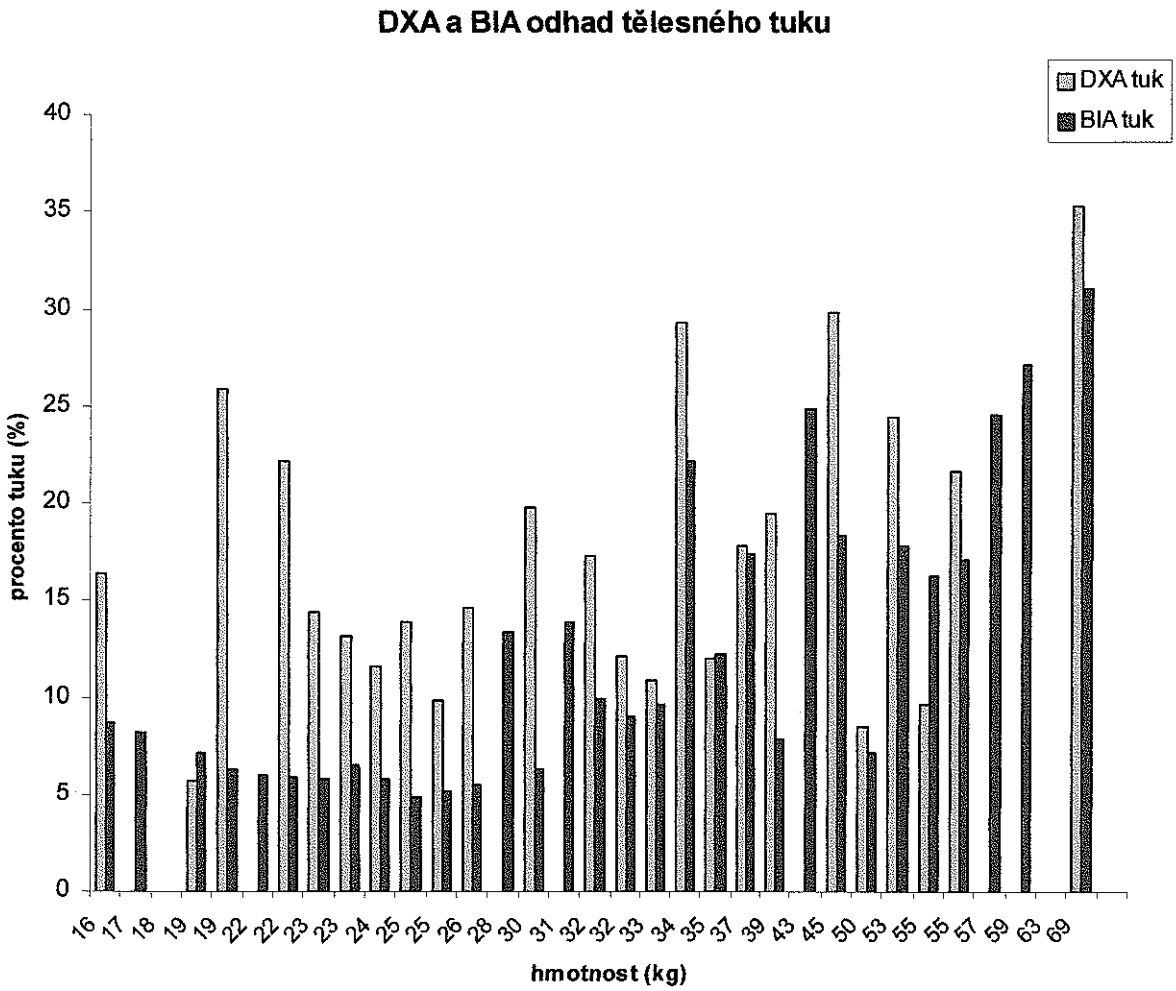
Graf č.1



V.A.3 BIA

BIA vyšetření bylo provedeno u 31 pacientů. 74% z nich mělo množství tělesného tuku pod dolní hranicí normy, jeden pacient nad horní hranicí. BIA ve srovnání s DXA podhodnocovala procento tělesného tuku, v průměru o 6,1% tělesné hmotnosti ($p = 0,001$) (**Graf č.2**). Nejvýraznější rozdíl byl -5,15 kg (12,35 vs. 8,2 kg). Výsledky získané BIA a DXA spolu korelovaly, korelační koeficient byl 0,67, $p < 0,001$. Pacienti ženského pohlaví měli vyšší procento tělesného tuku než pacienti mužského pohlaví (průměr 14,87 %, SD 8,51, versus 9,94%, SD 5,55), $p = 0,03$. Pacienti s vyšším procentem tělesného tuku měli tendenci k vyššímu FEV1 ($p = 0,012$, pro DXA odhad $p = 0,029$).

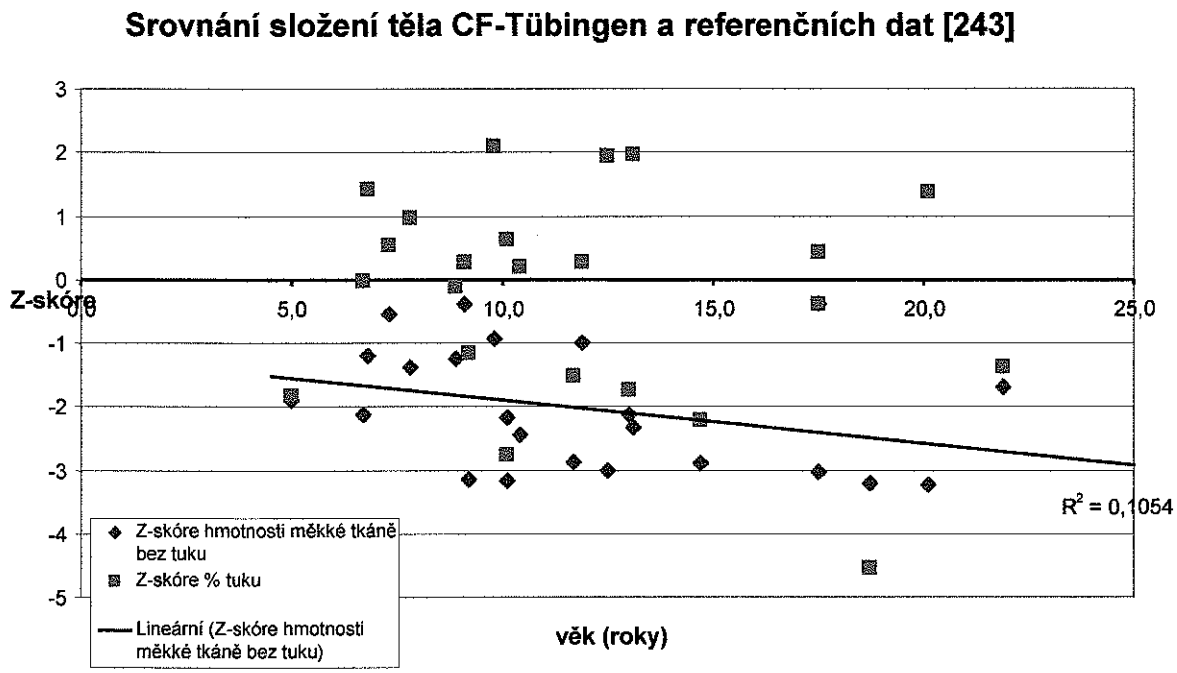
Graf č. 2



V.A.4 DXA

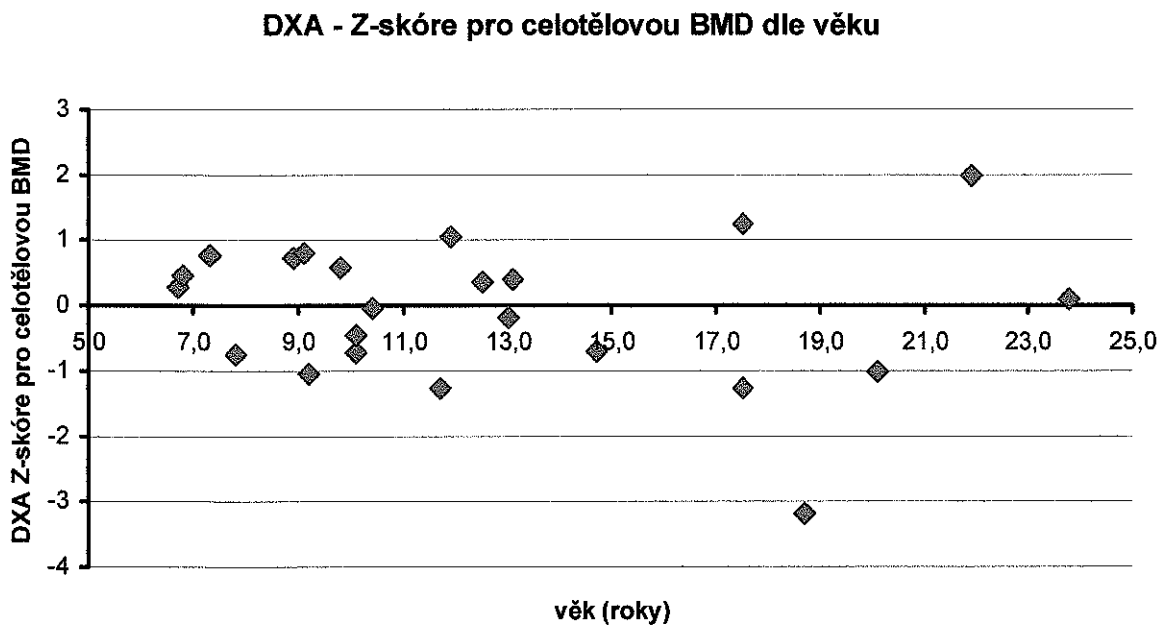
Orientačním srovnáním výsledků měření složení těla s referenčními daty (**Graf č.3**) jsme zjistili nižší absolutní hmotnost měkké tkáně bez tuku (LBM) oproti referenční populaci (průměrné Z-skóre -2,02, SD 0,97, minimum -3,24, maximum -0,38, $p < 0,0001$), s tendencí k dalšímu poklesu v závislosti na věku. Procento tělesného tuku se nelišilo od referenční populace (průměr Z-skóre podílu tělesného tuku při srovnání s referenčními daty van der Sluis et al. [243] byl -0,25, směrodatná odchylka 1,68, rozpětí hodnot -4,55 až 2,09, $p = 0,24$). Pacientky ženského pohlaví měly tendenci k vyššímu procentu tělesného tuku než muži (průměrně 20,50 %, SD 7,24, versus 15,42%, SD 7,27), avšak ne statisticky signifikantně ($p = 0,06$).

Graf č.3



Celotělová denzita kostního minerálu nebyla nižší než u normální populace, průměr Z-skóre BMD byl -0.084±1.097, p = 0.393 (**Graf č.4**).

Graf č.4

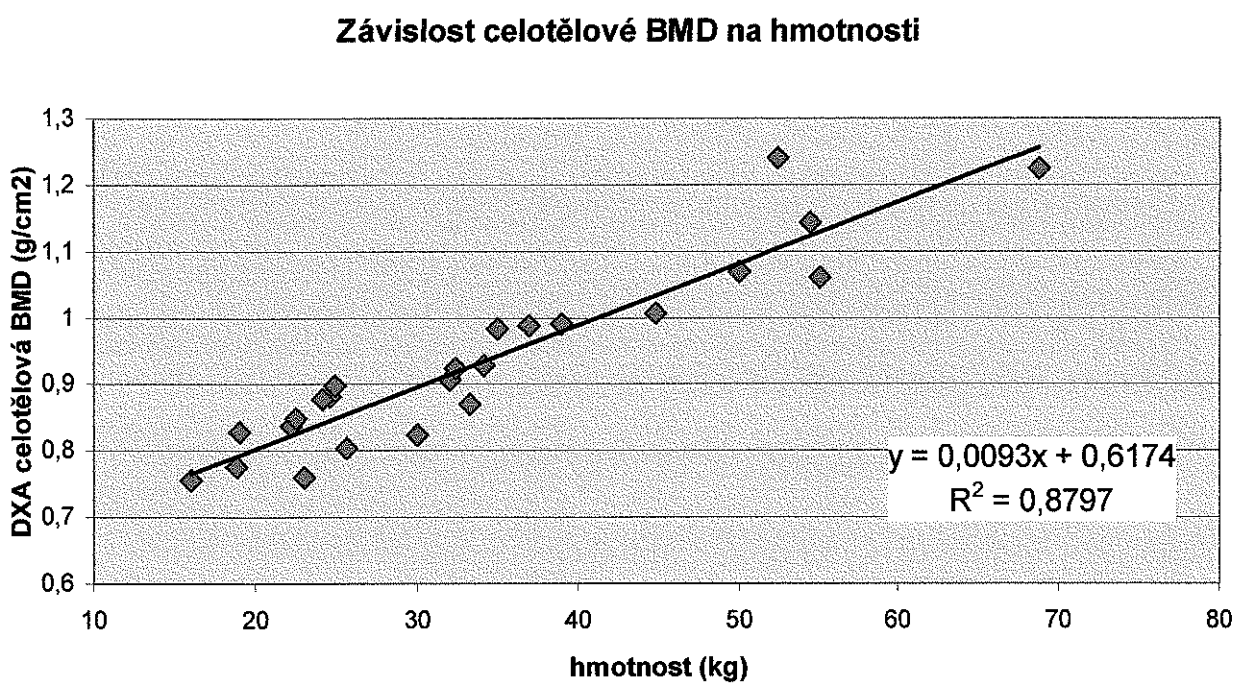


Nalezli jsme silnou lineární závislost BMD na tělesné hmotnosti (**Graf č.5**), LBM a výšce s koeficienty determinace R^2 = 0,880, 0,832 a 0,781, p<0,001. Byla nalezena také silná lineární závislost BMC na tělesné hmotnosti a LBM (**Graf č.9**) s koeficienty determinace R^2= 0,948 a 0,925, p<0,0001). Koeficient determinace byl pro muže mírně vyšší než pro ženy u obou parametrů. U žen pro závislost BMC a BMD na hmotnosti byl R^2= 0,924 a 0,882, u mužů R^2 = 0,977 a 0,886. U žen pro závislost BMC a BMD na LBM byl R^2= 0,941 a 0,863, u mužů 0,955 a 0,874. Nalezli jsme také závislost Z-skóre BMD na Z-skóre LBM (R^2 = 0,504, p = 0,0002).

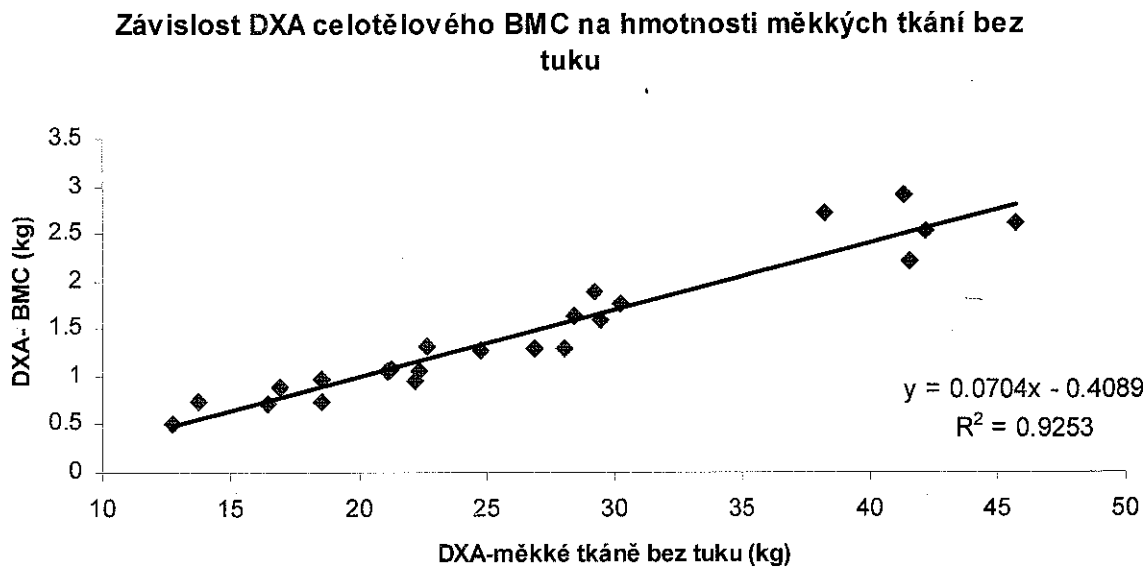
Závislost BMD Z-skóre na hmotnosti k výšce u pacientů ≤18 let věku byla nesignifikantní (R^2=0.136, p = 0,160), byla zde však jedna výrazně odlehlá hodnota – pacient s nízkou hmotností k výšce, ale normálním BMD Z-skóre.

Nezjistili jsme signifikantní závislost mezi BMD a sérovou hladinou celkového kalcia, fosforu, IgG, vitaminu D, aktivitou ALP anebo hodnotou FEV1.

Graf č.5



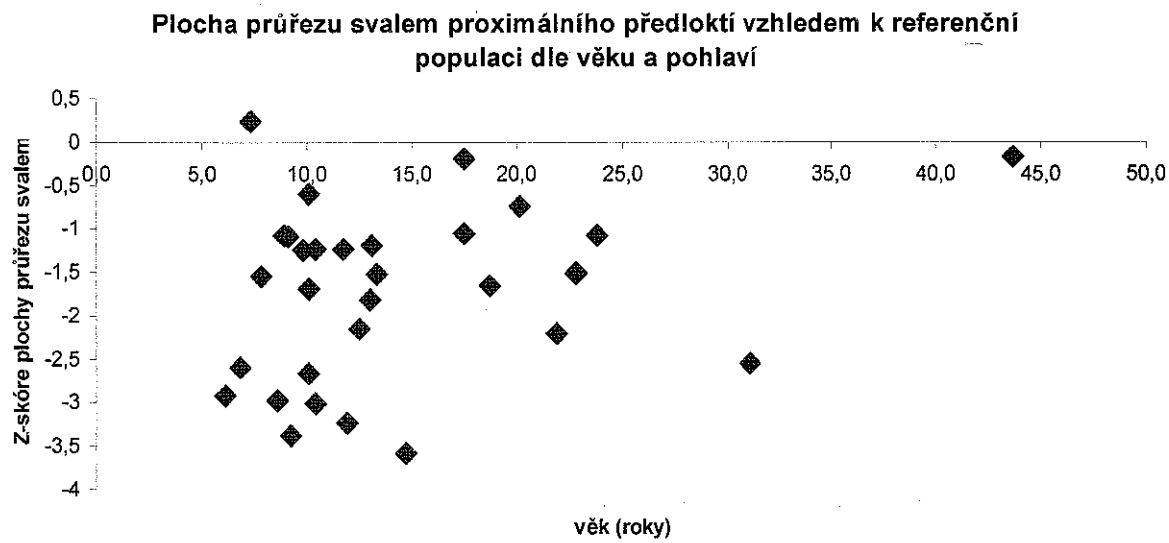
Graf č.6



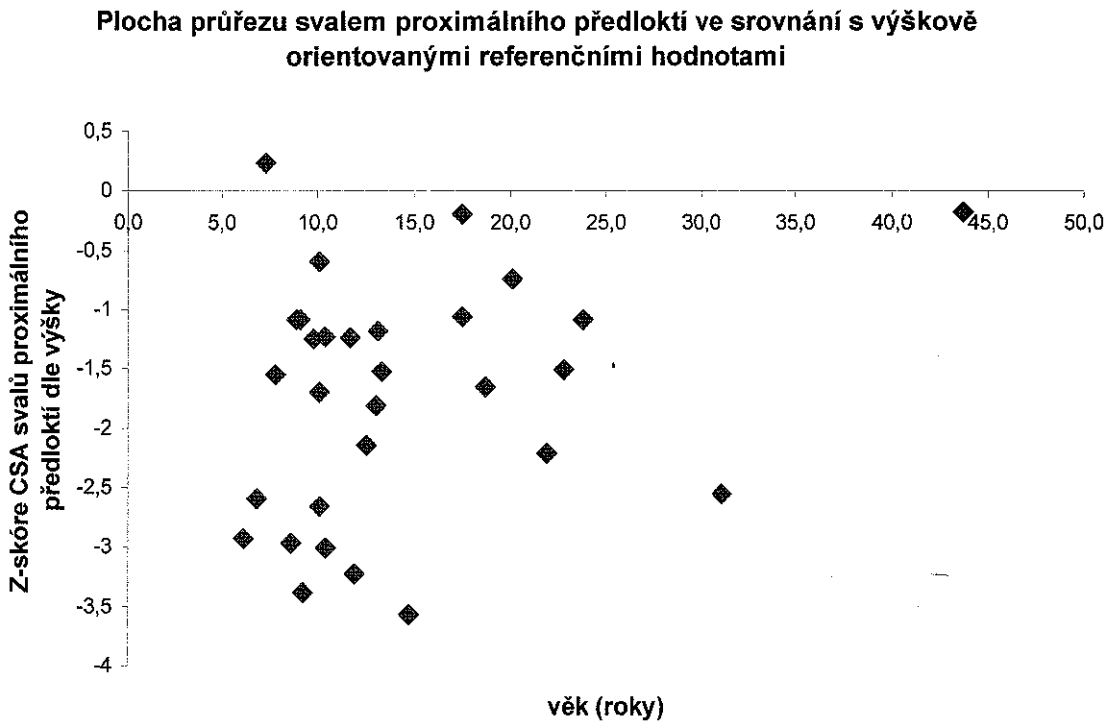
V.A.5 pQCT

Volumetrická denzita trabekulární a kortikální kosti nebyla nižší nežli u normální populace. Plocha průřezu (CSA) svalů proximálního předloktí byla menší než u osob stejného věku nebo stejné výšky (**Graf č.7** a **Graf č.8**).

Graf č.7



Graf č.8



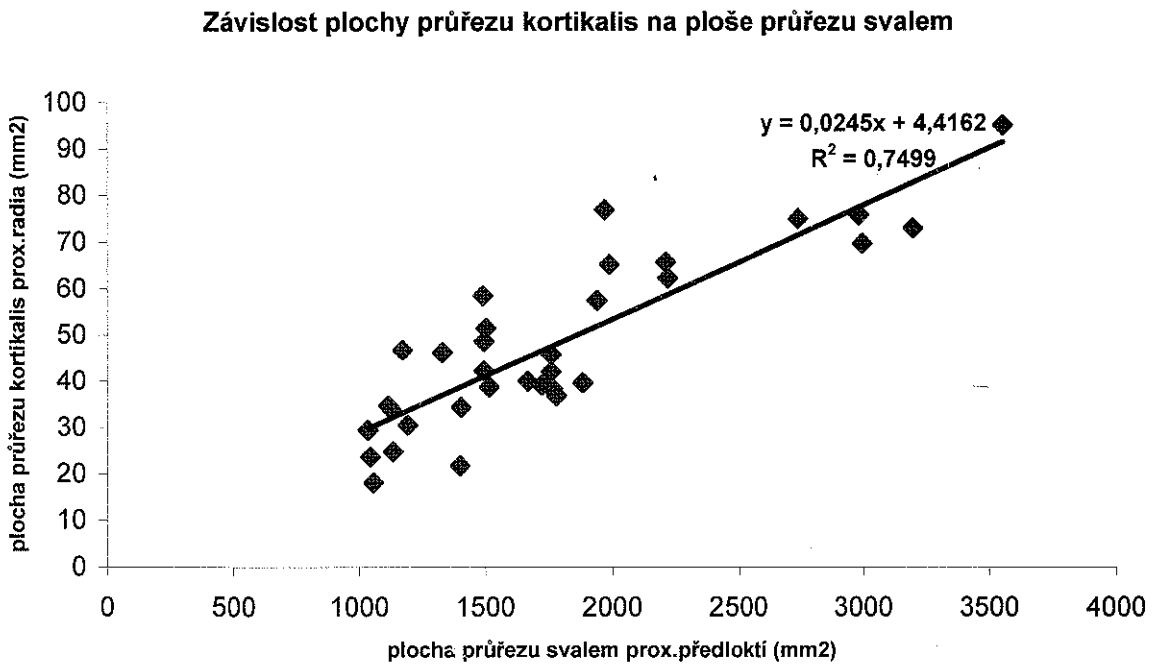
CSA kortikalis byla menší vzhledem k věku. Relativní plocha průřezu kortikalis a tloušťka kortikalis byly menší než u osob stejného věku nebo výšky. CSA kostní dřeně v oblasti proximálního předloktí byla větší než u normální populace (**Tabulka č.13**).

Tabulka č.13 Přehled parametrů zjištěných pQCT, vyjádřených jako Z-skóre

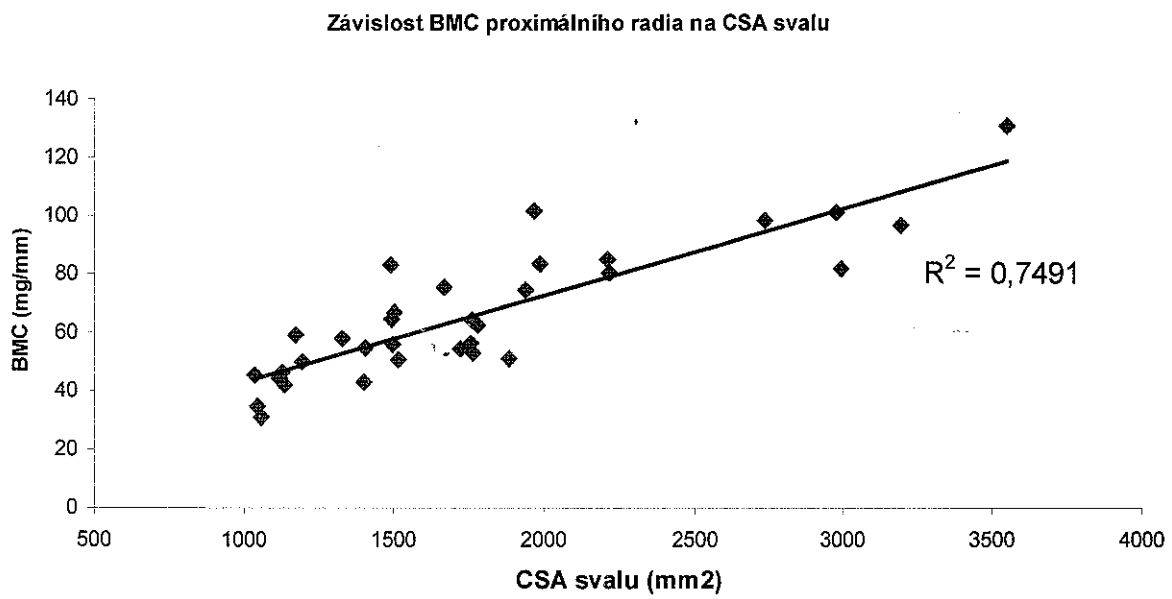
PARAMETR	PRŮMĚR	SMĚROD. ODCHYL.	MEDIÁN	MINIMUM	MAXIMUM	P-HODN.
Denzita trabekularis	0,217	0,859	0,266	-1,600	1,765	0,226
CSA distálního radia	-0,470	1,053	-0,581	-2,361	1,823	**0,009**
CSA proximálního radia	0,001	1,197	-0,056	-1,950	2,630	0,997
Denzita kortikalis	0,335	1,602	0,353	-3,934	3,238	0,663
CSA kortikalis	-0,936	1,155	-0,805	-4,080	-1,031	**<0,001**
CSA kostní dřeně	0,570	1,453	0,220	-1,382	4,479	**0,002**
CSA svalu	-1,889	0,927	-1,975	-3,782	0,519	**<0,001**
CSA svalu – SDS dle výšky	*-1,720*	*1,007*	*-1,534*	*-3,572*	*0,242*	***<0,001***
Tloušťka kortikalis	-1,010	1,240	-0,803	-3,979	1,096	**<0,001**
Relativní plocha průřezu kortikalis	-0,816	1,291	-0,656	-4,360	-1,328	**<0,001**

Zjistili jsme závislost CSA kortikalis proximálního radia na CSA svalu (**Graf č.9,** $p<0,001$). Byla nalezena signifikantní závislost BMC proximálního radia na CSA svalu (**Graf č.10**), $R^2=0,688$ u pacientů ženského pohlaví, 0,845 u pacientů mužského pohlaví, $p = 0,0001$ a $p<0,0001$.

Graf č.9

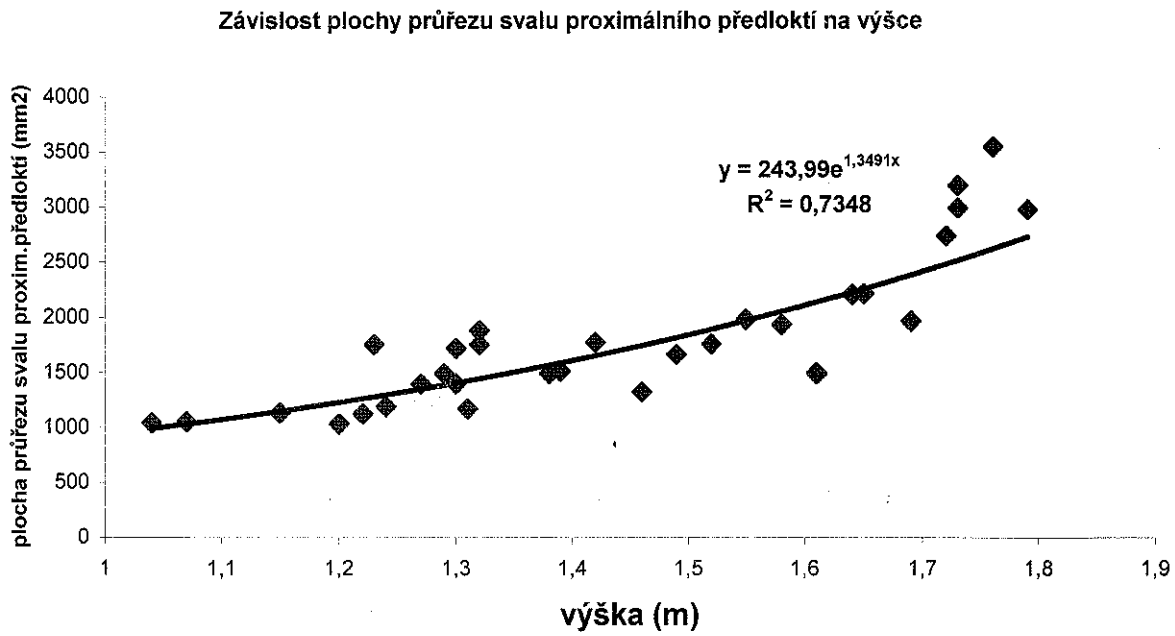


Graf č.10

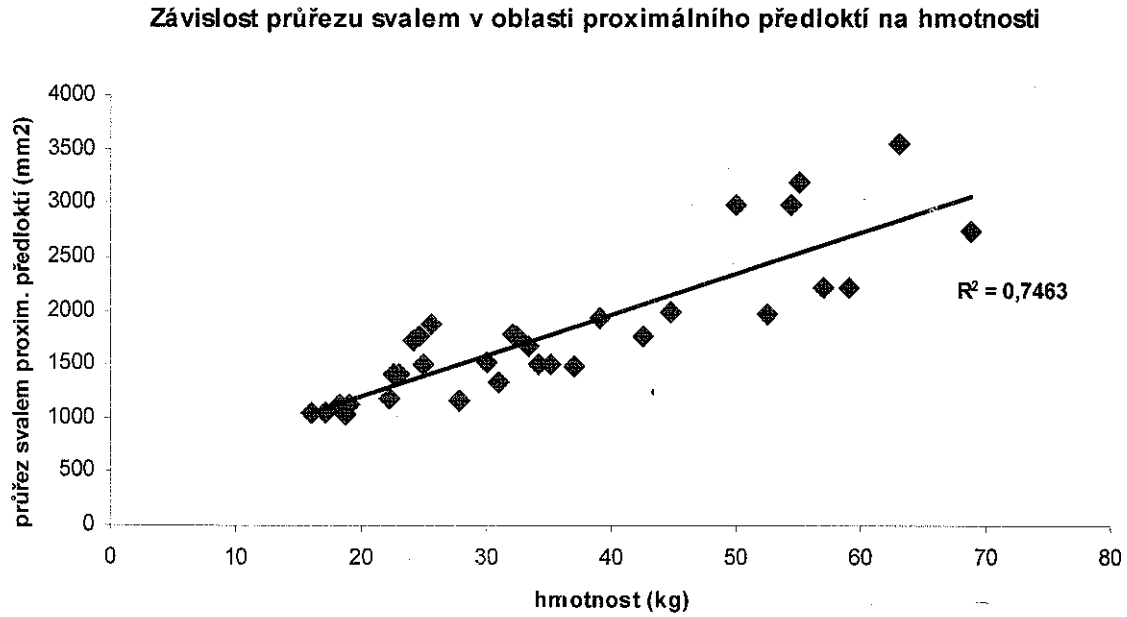


Nalezli jsme silnou závislost CSA svalů proximálního předloktí na výšce a na LBM změřené pomocí DXA, $R^2 = 0,735$ a 0,838, $p < 0,0001$ (**Graf č.11 a Graf č.12**). Také jsme zjistili závislost Z-skóre CSA svalu na Z-skóre LBM změřené pomocí DXA ($R^2 = 0,454$, $p < 0,001$).

Graf č. 11



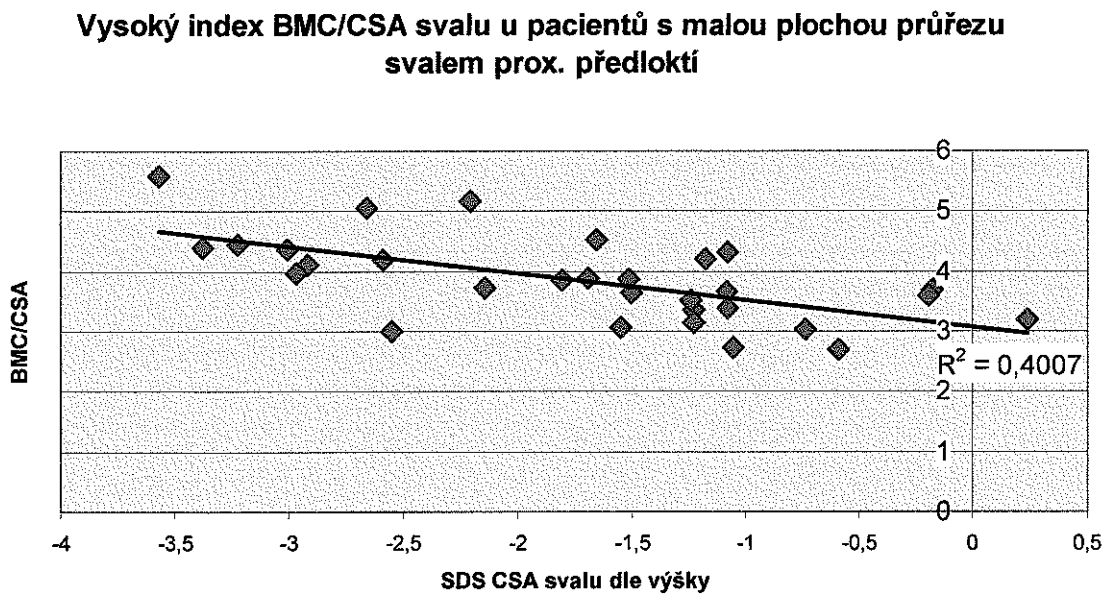
Graf č.12



Závislost poměru obsahu kostního minerálu k ploše průřezu svalem proximálního předloktí BMC/CSA (BMC v oblasti proximálního radia/CSA svalu v této oblasti) na FEV1 byla signifikantní ($p = 0,011$), ale R^2 byl jen 0,238. Index BMC/CSA byl obecně u těchto pacientů poměrně vysoký ve srovnání s referenčními daty ze studie DONALD. Zjistili jsme trend

k vyššímu BMC/CSA zejména u pacientů s relativně malou CSA svalu proximálního předloktí vzhledem k výšce (**Graf č.13**).

Graf č.13

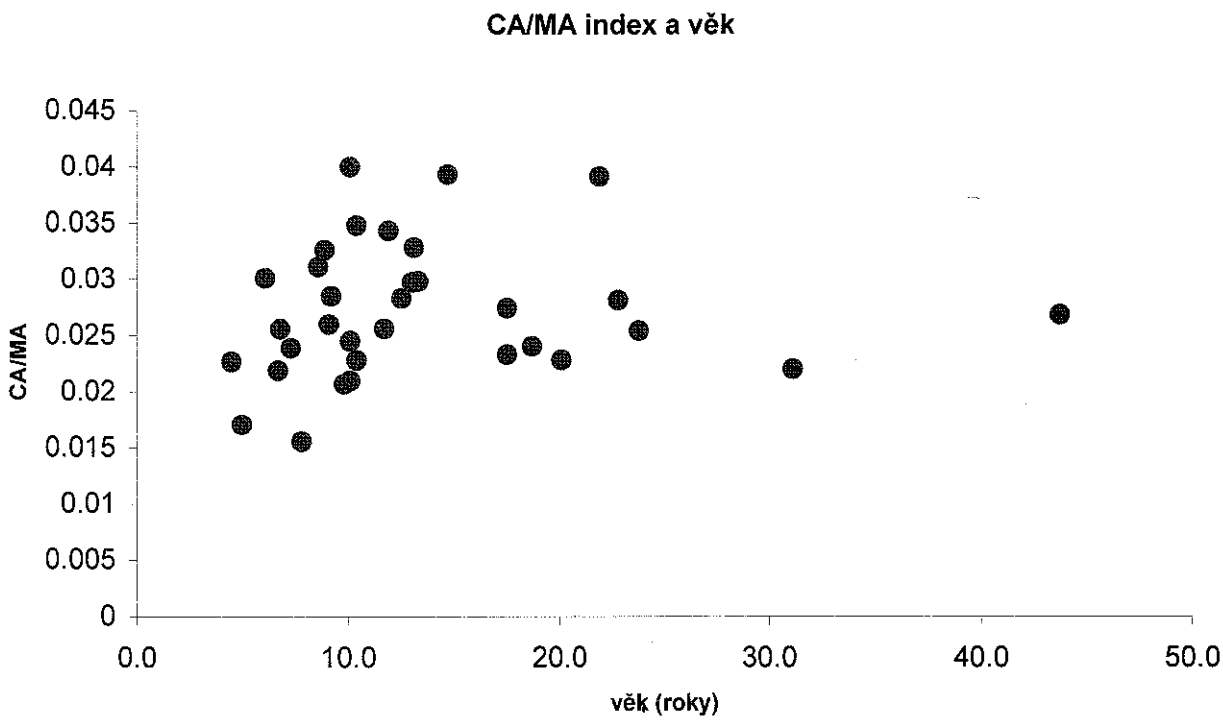


Denzita kortikalis byla závislá na věku ($R^2 = 0,530$, $p < 0,0001$), nebyla závislá na sérové hladině Ca, P, vit.D, IgG, aktivitě ALP anebo hodnotě FEV1.

Závislost TBD nebo TBD Z-skóre na hmotnosti k výšce u pacientů ≤18 let věku nebyla signifikantní ($R^2 = 0,093$ a 0,046, $p = 0,191$ a 0,394), stejně jako závislost TBD nebo TBD Z-skóre na BMI u pacientů > 18 let věku (R^2=0,309 a 0,483, p=0,195 a 0,083, respektive). Nebyla nalezena signifikantní závislost mezi TBD a sérovou hladinou kalcia, fosfátu, IgG, vitaminu D, aktivitou alkalické fosfatázy anebo hodnotou FEV1.

Index CA/MA (CSA kortikalis /CSA svalu) v oblasti proximálního předloktí se neměnil signifikantně s věkem, průměr 0.0275, SD = 0.005794. Index se u jednotlivých pacientů pohyboval v oblasti normálních hodnot (**Graf č.14**), nebo v individuálních případech i nad nimi.

Graf č.14



Shrnutí výsledků CF –Tübingen:

1. **Pacienti CF –Tübingen měli jako skupina menší výšku a hmotnost než zdraví jedinci stejného věku a pohlaví.**
2. **Pacienti CF –Tübingen jako skupina měli normální denzitu kostního minerálu při celotělovém DXA vyšetření. 97% pacientů CF –Tübingen dosáhlo normální denzity kostního minerálu (všichni s jednou výjimkou).**
3. **U pacientů s cystickou fibrózou byla zjištěna tenká vrstva kortikalis v oblasti proximálního radia.**
4. **Tenká kortikalis je pravděpodobně fyziologickým důsledkem menšího množství svaloviny u pacientů s cystickou fibrózou.**

V.B PACIENTI CENTRA PRO CYSTICKOU FIBRÓZU HRADEC KRÁLOVÉ (CF-HK)

Vyšetřeno bylo celkem 42 pacientů, z toho 25 osob ženského pohlaví a 17 osob mužského pohlaví, o medián věku 10,88 roku. Pacienti byli vyšetřováni dvakrát, druhé vyšetření bylo provedeno přibližně za rok po prvním (minimálně 0,44, maximálně 1,29, průměr 0,92, medián 0,97 roku). Při obou vyšetřeních byly zjišťovány stejné parametry.

V.B.1 Mutace CFTR, pankreatická suficience, CF-hepatopatie, bakteriální kolonizace, léčba steroidy

14 pacientů (33%) bylo homozygoty pro mutaci F508del, 21 pacientů (50%) složenými heterozygoty pro tuto mutaci, zbytek - 7 pacientů (17%) - bylo nositeli obou dvou jiných mutací. Z dalších zjištěných mutací se vyskytovaly: del121kb (2x), G542X (1x), 7T/9T (1x), 3272-26A→G (1x), 185+1 GtoA (1x), R1162X (1x), R47H (1x), Y122X (1x), 6542X (1x), 3849+kb C-T (1x), 621+1G-T (1x), 3659delC (1x). U 6 pacientů (14%) nebyla konkrétní mutace identifikována.

V době **1. vyšetření** 4 pacienti (10%) užívali inhalační kortikosteroidy, žádný nebyl léčen kortikoidy systémově. V době prvního zaznamenaného vyšetření měla pouze 1 pacientka suplementaci kalciem (500mg/den), tato dívka byla již dříve sledována pro relativně nízkou denzitu kostního minerálu. Až na jednu dospělou pacientku dostávali všichni perorální suplementaci vitamínem D ve formě ergokalciferolu (**Tab č.14**). Dlouhodobě bylo intermitentně nebo trvale osídlených mikroby Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa a Burkholderia cepacia 74%, 55% a 24% pacientů. 17% pacientů bylo pankreaticky suficientních. 21% pacientů mělo CF hepatopatii.

V.B.2 Antropometrická, biochemická, spirometrická a denzitometrická vyšetření

V.B.2.2 CF-HK – 1.vyšetření

Přehled výsledků antropometrických, biochemických a spirometrických a denzitometrických při prvním vyšetření podává **Tabulka č.14**.

Tabulka č. 14 CF-HK – 1.vyšetření :

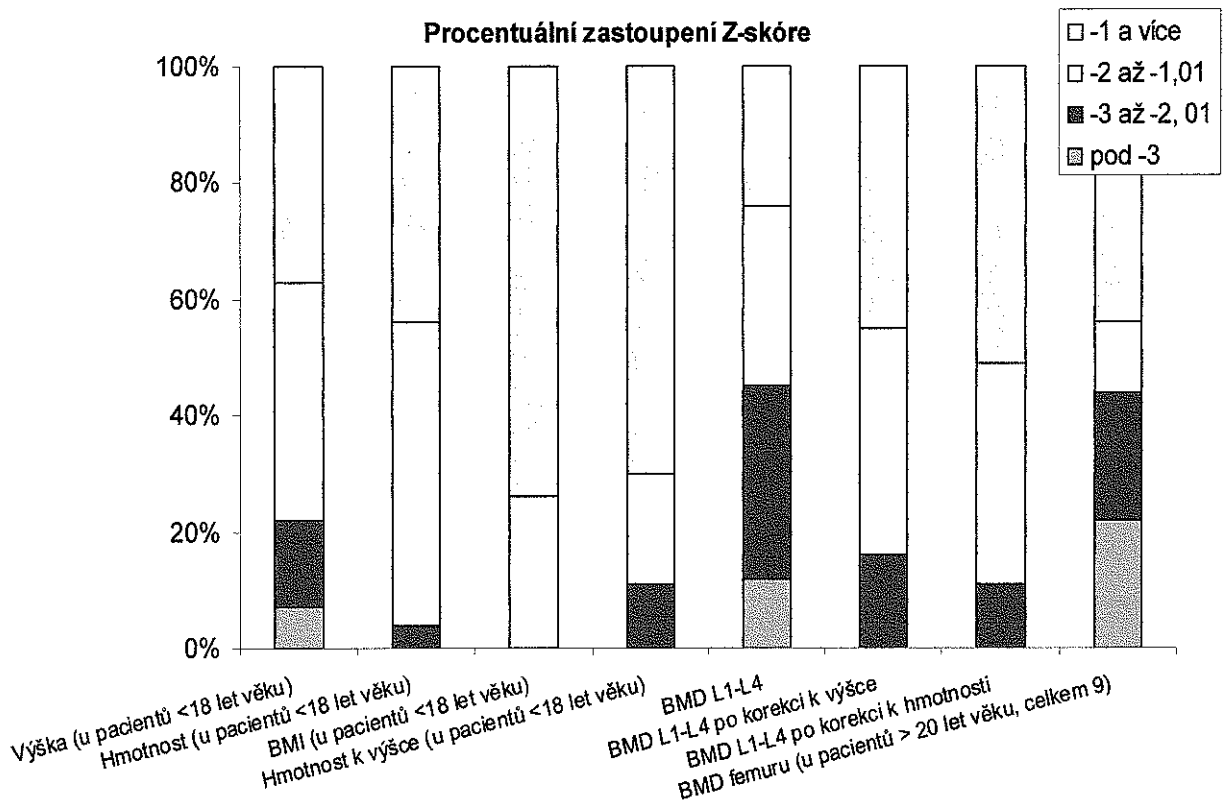
PARAMETR	PRŮMĚR	SMĚR. ODCHYL	MEDIÁN	MINIMUM	MAXIMUM	P-HODN.
Věk (roky)	14,35	9,33	10,88	4,3	44,95	-
Výška (m)	1,38	0,23	1,39	1,00	1,76	-
Výška – Z-skóre	-1,08	0,21	-1,26	-3,46	1,85	<0,001
Hmotnost (kg)	33,45	15,04	28,9	14	73,5	-
Hmotnost – Z-skóre	-0,89	0,82	-1,08	-2,3	1,12	<0,001
BMI (kg/m²)	16,56	2,85	15,69	12,37	26,67	-
BMI - Z-skóre	-0,44	0,91	-0,52	-1,80	1,79	0,02
Hmotnost k výšce - Z-skóre	-0,40	1,16	-0,45	-2,94	2,13	0,02
Z-skóre BMD L1-L4	-1,78	1,01	-1,8	-3,6	1,1	<0,001
BMD L1-L4 (g/cm²)	0,637	0,21	0,576	0,354	1,136	-
BMC L1-L4 (g)	30,42	17,94	23,5	9,85	71,53	-
BMA L1-L4 (cm²)	44,33	12,24	41,35	24,16	68,52	-
Z-skóre BMD L1-L4 – korekce k výšce	-1,11	1,17	-1,40	-2,9	2	<0,001
Z-skóre BMD L1-L4 – korekce k hmotnosti	-0,70	1,19	-1,00	-2,5	2	<0,001
Z-skóre BMD femuru ≥ 20 let	-1,77	1,18	-1,1	-3,4	-0,4	<0,001
BMD femuru (g/cm²) ≥ 20 let	0,727	0,15	0,81	0,518	0,890	-

BMC femuru (g) ≥ 20 let	23,62	5,70	25,44	15,62	29,81	-
BMA femuru (cm^2) ≥ 20 let	32,33	2,27	31,49	30,17	36,81	-
S-Ca (mmol/L)	2,42	0,12	2,43	2,03	2,63	-
fUCa (mmol/24hod)	2,16	1,95	1,46	0,32	7,11	-
fUCa (mmol/ 24 hod/kg)	0,059	0,04	0,0495	0,0151	0,150	-
P (mmol/L)	1,51	0,26	1,523	0,53	2,05	-
ALP (μkat/L)	3,47	1,69	3,73	0,95	8,79	-
IgG (g/L)	10,03	3,73	9,69	1,81	15,6	-
FEV1 (% předpokl. hodnoty)	72	25,8	75	17	113	-
Suplementace ergocalciferol (IU/den)	2 705	1045	3200	0	4000	-

V době prvního vyšetření měli CF pacienti statisticky nižší výšku a hmotnost než referenční populace na hladině významnosti 1%. Měli též nižší BMI a hmotnost k výšce (p = 0,02 v obou případech).

Na hladině významnosti 0,05 se nelišilo Z-skóre hmotnosti a výšky a také hladiny IgG a hodnoty FEV1 u pacientů **CF-Tübingen** a pacienti **CF-HK**. Pacienti CF-Tübingen měli nižší Z-skóre pro BMI. Z-skóre celotělové BMD u CF-Tübingen bylo vyšší než Z-skóre BMD L1-L4 u CF-HK (p<0,0001). Porovnala jsem **antropometrické parametry pacientů CF-Tübingen s českými referenčními daty** - spočítala jsem Z-skóre hmotnosti, výšky, BMI a hmotnosti k výšce pro pacienty CF-Tübingen za použití programu Růst 2. Z-skóre pro tyto parametry se u CF-Tübingen a CF-HK statisticky významně **nelišila**. **Graf č.15** podává přehled relativního zastoupení hodnot Z-skóre pro antropometrické parametry a denzitu kostního minerálu. Z pacientů o věku ≥18 roků mělo 50% BMI < 18,5 kg/m2 (podvýživa), 43% normální BMI a 1 pacientka (7%) měla nadváhu (BMI ≥ 25 kg/m2).

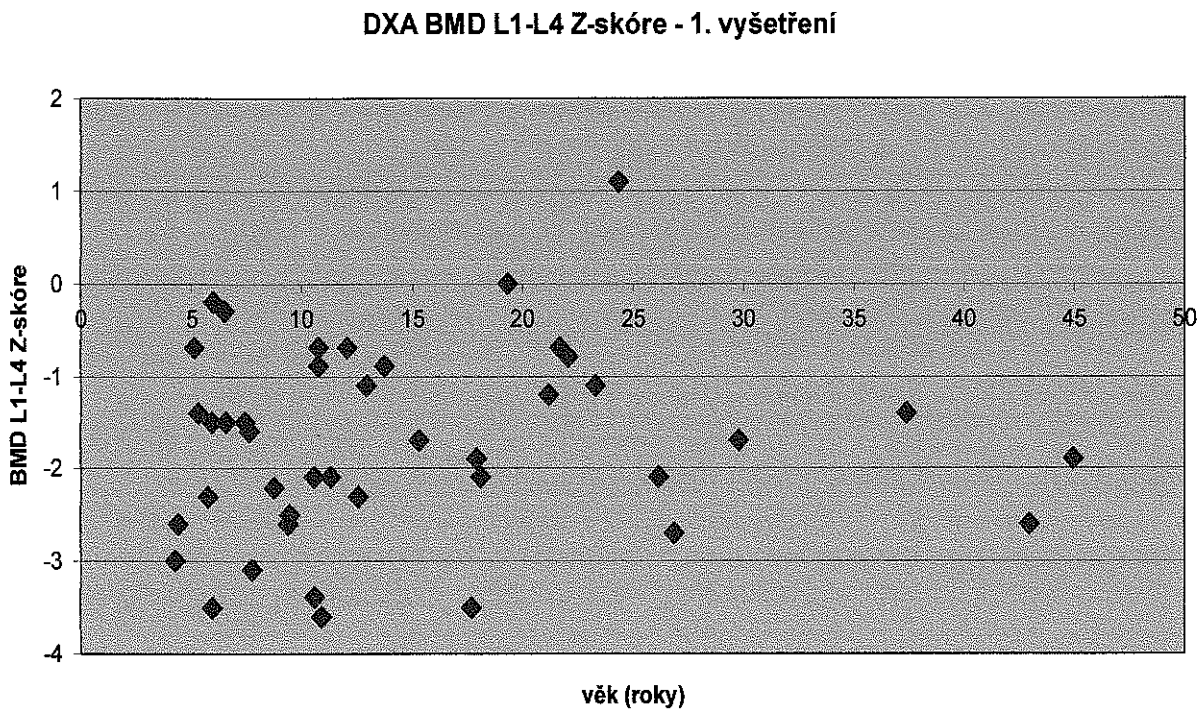
Graf č.15



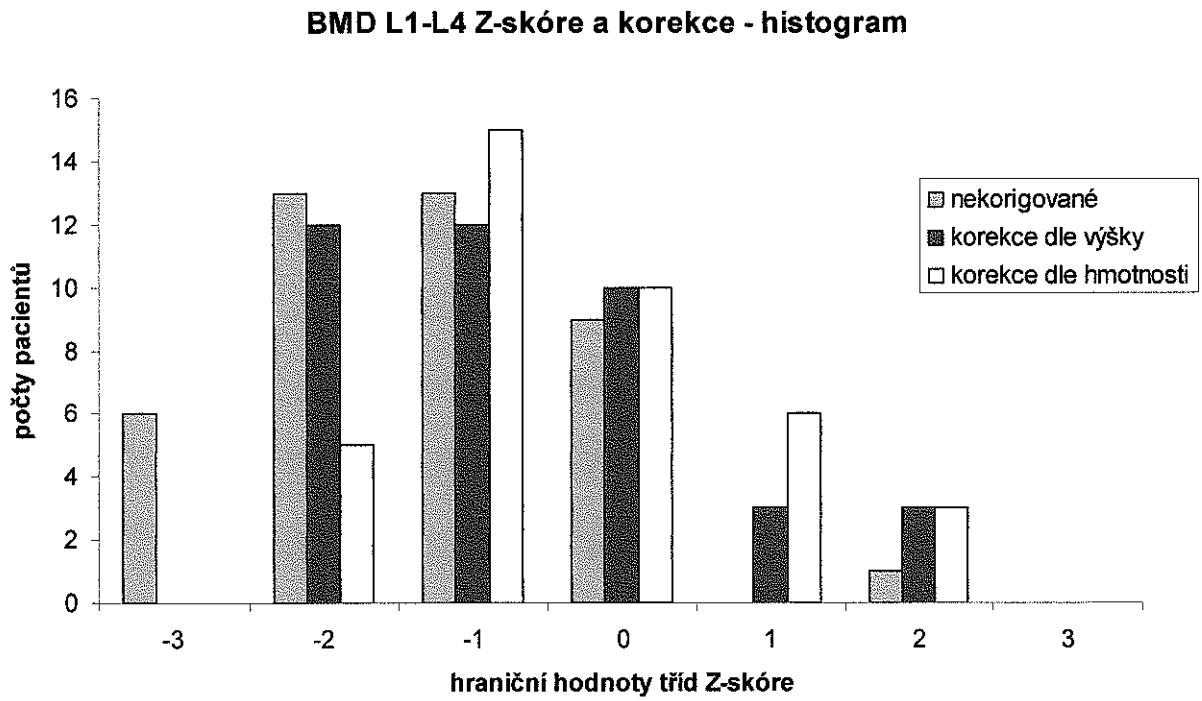
Grafické znázornění výsledků vyšetření BMD L1-L4 při prvním vyšetření, podané v jako Z-skóre, uspořádané dle věku pacientů, ukazuje **Graf č.16**.

BMD L1-L4 bylo nižší než u referenční populace. Při orientační **korekci dle výšky a dle hmotnosti** došlo ke vzestupu Z-skóre BMD L1-L4, nicméně stále bylo u této skupiny statisticky významně nižší než norma – viz **Tabulka č.14.** Po korekci dle hmotnosti a dle výšky pacientů došlo ke zvýšení Z-skóre, nicméně u některých z nich (celkem 5 pacientů) se ani po korekci BMD Z-skóre neposunulo nad –2,0 (**Graf č.17**). U pacientů pod 15 let věku nedochází ani po korekci dle výšky nebo hmotnosti k posunu BMD Z-skóre do normálního rozmezí. U pacientů nad 15 let věku však korekce dle výšky nebo hmotnosti vede k posunu celé skupiny nahoru, takže korigované Z-skóre se posunuje do normálního rozmezí (p=0,16, resp. 0,97).

Graf č.16



Graf č.17

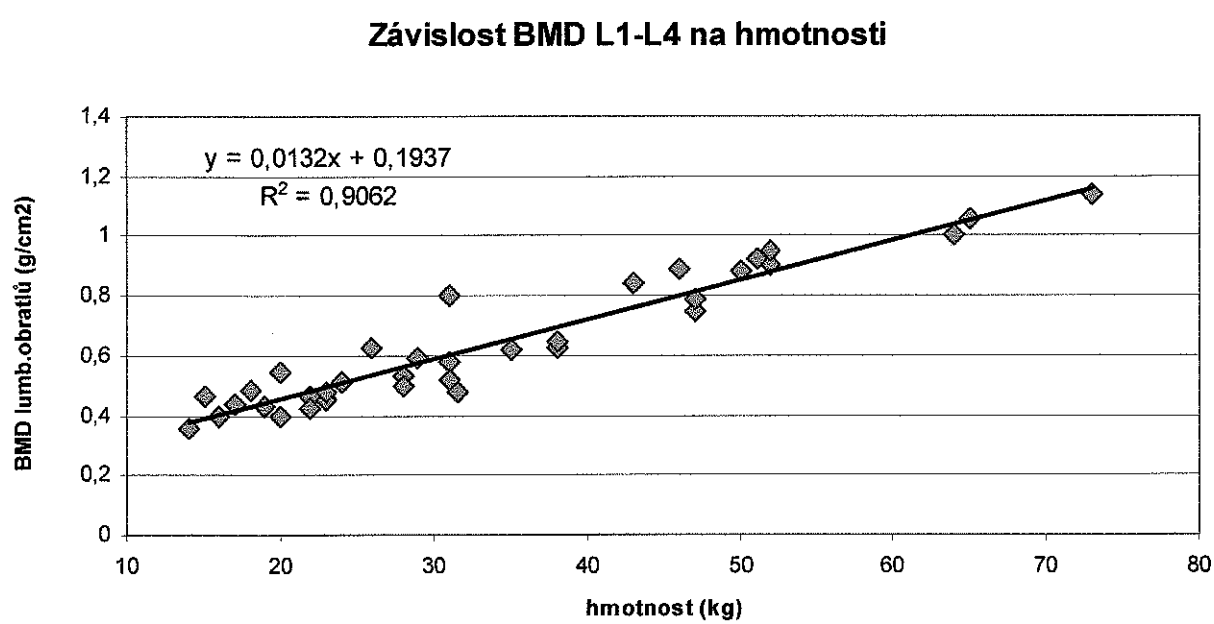


Zjistili jsme relativně nižší BMD femuru (vyšetřeno u pacientů nad 20 let věku) než u referenční populace (**Tabulka č.14**).

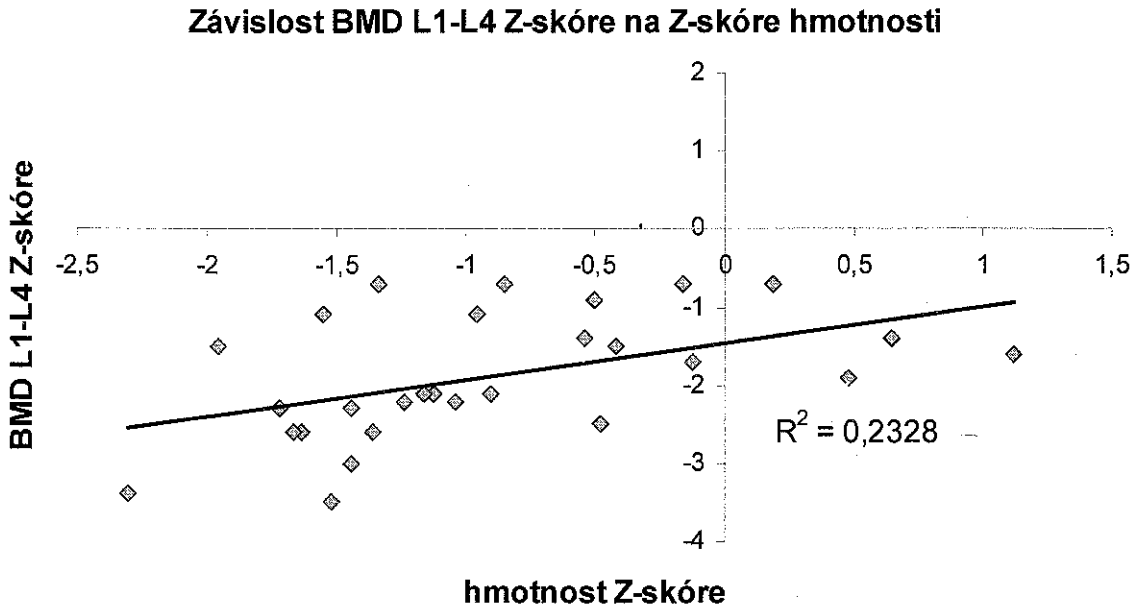
Zjistili jsme výraznou lineární závislost BMD lumbálních obratlů na hmotnosti pacienta (**Graf č.18,** $p < 0,001$) a také na jeho výšce ($R^2 = 0,750$, $p < 0,001$). Nezjistili jsme statisticky významnou závislost Z-skóre BMD L1-L4 na FEV1 ($R^2 = 0,03$, $p = 0,39$).

Nalezli jsme slabou, ale statisticky významnou závislost Z-skóre BMD L1-L4 na Z-skóre hmotnosti a Z-skóre výšky - koeficient determinace $R^2 = 0,23$ (**Graf č.19**) a 0,18, $p = 0,009$ a 0,02.

Graf č.18



Graf č.19



V.B.2.2 CF-HK – 2.vyšetření

V **Tabulce č.15** jsou uvedeny p-hodnoty pro srovnání s referenční populací, p-hodnoty pro změnu vzhledem k předchozímu roku uvádím v následujícím **slovním souhrnu**.

Po 1 roce se u souboru podruhé vyšetřených pacientů

- nezměnila absolutní hmotnost, co se týče celé skupiny pacientů ($p = 0,08$)
- došlo však k poklesu Z-skóre hmotnosti ($p < 0,001$)
- došlo k vzestupu průměrné výšky pacientů ($p < 0,001$)
- nezměnilo se Z-skóre výšky pacientů ($p = 0,19$)
- nezměnil se absolutní BMI pacientů jako skupiny ($p = 0,43$)
- došlo k poklesu Z-skóre BMI ($p = 0,009$)
- došlo k poklesu Z-skóre hmotnosti k výšce, i když signifikantní pouze na hladině významnosti 5% ($p = 0,023$)
- došlo ke vzestupu BMD, BMD Z-skóre, BMC a BMA L1-L4 ($p < 0,001$ u všech). Podrobněji individuálně došlo k signifikantnímu vzestupu BMD L1-L4 u 8 pacientů, u 9 pacientů byla změna nesignifikantní, u 3 pacientů tento údaj nebyl k dispozici, pouze u jedné dospělé pacientky nastal signifikantní pokles o 4% původní BMD, avšak tato pacientka během roku snížila záměrně svoji hmotnost o 9,6kg

- došlo ke vzestupu height- a weight-adjusted BMD L1-L4 Z-skóre, p = 0,002 a p < 0,001. Weight-adjusted Z-skóre pak dosáhlo normálních hodnot.
- k relativně největším změnám BMD došlo u pacientů pod 15 let věku (**Graf č.21**)
- změna BMD a BMD Z-skóre nebyla statisticky významně závislá na změně Z-skóre výšky nebo hmotnosti
- nezjistili jsme závislost změny BMD L1-L4 na původním Z-skóre
- k pozitivním změnám došlo i u pacientů s relativně výrazně nízkou BMD vzhledem k věku
- nenalezli jsme závislost Z-skóre BMD L1-L4 na hodnotě FEV1 nebo FVC v procentech náležitých hodnot
- zjistili jsme tendenci k výraznějšímu zlepšení Z-skóre BMD L1-L4 u pacientů s vyšším počátečním FEV1
- vzrostla BMD femuru u pacientů nad 20 let věku ($p< 0,001$), ale nezměnila jeho BMC, ani BMA (p = 0,5 a 0,38), tyto hodnoty však byly vyšetřeny pouze u 5 pacientů
- došlo k vzestupu hladin sérového Ca ($p < 0,001$)
- poklesla aktivita ALP ($p <0,001$)
- zvýšilo se vylučování vápníku močí jak absolutní, tak vztažené na kilogram tělesné hmotnosti (p = 0,003 a 0,01). Vylučování vápníku močí vztažené na kilogram tělesné hmotnosti se pohybovala v normálním rozmezí.
- nedošlo ke změně sérové hladiny IgG (p = 0,9)
- nedošlo ke změně FEV1 v procentech náležité hodnoty (p = 0,9)
- při druhém vyšetření byly u malé části pacientů změřeny i hodnoty hladin 25(OH)-vitamínu D a $1,25(OH)_2$-vitamínu D v séru. Pohybovaly se v horní polovině normálního rozmezí u 25(OH)-vitamínu D (3 pacienti) a v dolní polovině normálního rozmezí u $1,25(OH)_2$-vitamínu D (8 pacientů)

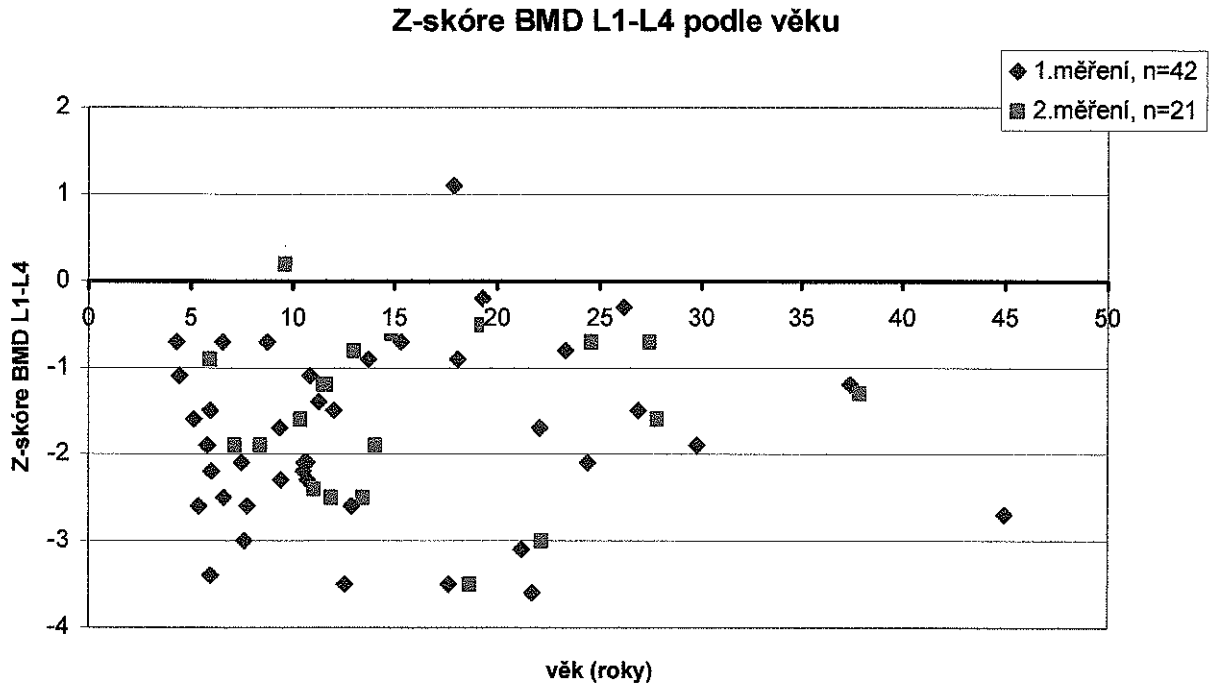
Tabulka č.15 CF HK – 2. vyšetření

PARAMETR	PRŮMĚR	SMĚROD. ODCHYL.	MEDIÁN	MIN.	MAX.	P-HODN.
Věk (roky)	16,04	7,16	13,23	5,95	37,86	-
Výška (m)	1,46	0,18	1,45	1,13	1,79	-
Výška – Z-skóre	-0,97	1,31	-1,39	-2,08	2,33	**<0,001**
Hmotnost (kg)	36,09	11,26	32,4	20,00	56,00	-
Hmotnost – Z-skóre	-1	0,81	-1,19	-1,91	0,92	**<0,001**
BMI (kg/m²)	16,29	1,96	16,17	12,51	19,98	-
BMI – Z-skóre	-0,75	0,88	-1,1	-1,98	1,75	**0,006**
Hmotnost k výšce – Z-skóre	-0,83	1,10	-0,9	-2,87	1,89	**0,001**
Z-skóre BMD L1-L4	-1,47	0,935	-1,3	-3,5	0,2	**<0,001**
BMD L1-L4 (g/cm²)	0,660	0,180	0,612	0,439	0,963	-
Změna BMD L1-L4 (g/cm2)	0,013	0,027	0,013	-0,041	0,075	**<0,001**
Z-skóre BMD L1-L4 – korekce k výšce	-0,80	0,82	-0,90	-1,9	-1,9	**<0,001**
Z-skóre BMD L1-L4 – korekce k hmotnosti	-0,23	1,05	0	1	1,8	**0,17**
BMC L1-L4 (g)	33,28	16,57	25,5	30,14	68,23	-
BMA L1-L4 (cm²)	46,96	10,93	43,49	13,24	65,56	-
Z-skóre BMD femuru ≥ 20 let	-0,78	0,16	-0,7	-1,00	-0,60	**0,081**
BMD femuru (g/cm²) ≥ 20 let	0,861	0,041	0,847	0,825	0,928	-
BMC femuru (g) ≥ 20 let	29,56	2,23	30,385	26,29	31,18	-
BMA femuru (cm²) ≥ 20 let	33,1	3,85	32,37	28,8	37,8	-
S-Ca (mmol/L)	2,40	0,14	2,40	2,17	2,68	-
fUCa (mmol/24 hod)	2,83	1,22	3,19	0,31	4,94	-
fUCa (mmol/24 hod/kg.)	0,083	0,037	0,077	0,016	0,152	-
25-(OH)-vit.D(nmol/L)	73,2	11,19	79	60,3	80,3	-
1,25-$(OH)_2$-vit. D (pmol/L)	61,6	11,06	59,4	50,4	77,8	-

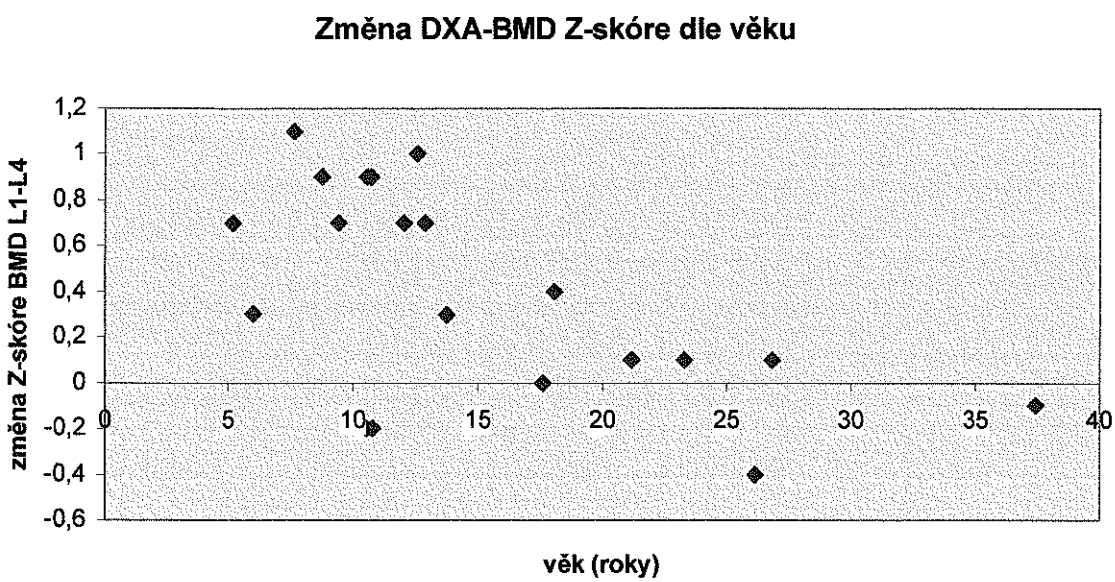
ALP (μkat/L)	3,27	1,45	3,69	0,87	6,42	-
IgG (g/L)	12,07	5,14	10,3	6,97	26,80	-
FEV1 (% předpokl. hodnoty)	70	25	76	25	102	-
Suplementace ergocalciferol (IU/den)	3848	1631	4000	1600	8000	-
Suplementace kalcium (mg/d)	214	183	250	0	500	-

Graf č.20 zobrazuje rozložení jednotlivých výsledků, **Graf. č.21** zobrazuje výrazné změny BMD L1-L4 Z-skóre v ročním odstupu při intervenci, zejména u pacientů mladších 15 let. **Graf č.22** ukazuje průměrné hodnoty BMD Z-skóre L1-L4 bez korekce a po korekci dle výšky a hmotnosti. **Graf č.23** představuje histogram korigovaných a nekorigovaných hodnot BMD L1-L4 při 2. vyšetření. Ve věkových skupinách do 15 let dochází k homogennímu lineárnímu vzestupu BMD (také BMC i BMA L1-L4, grafy obdobné), nad 15 let dochází k výraznému rozšíření škály hodnot, v extrémech je maximální hodnota až dvojnásobkem minimální.

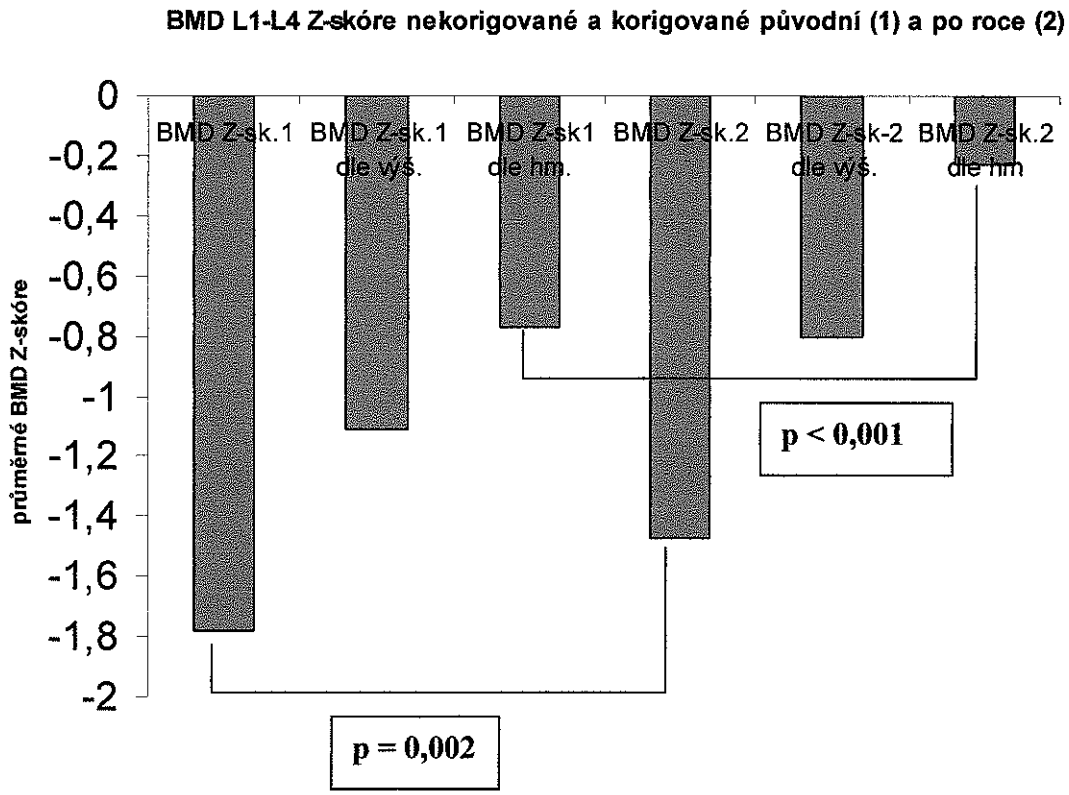
Graf č.20



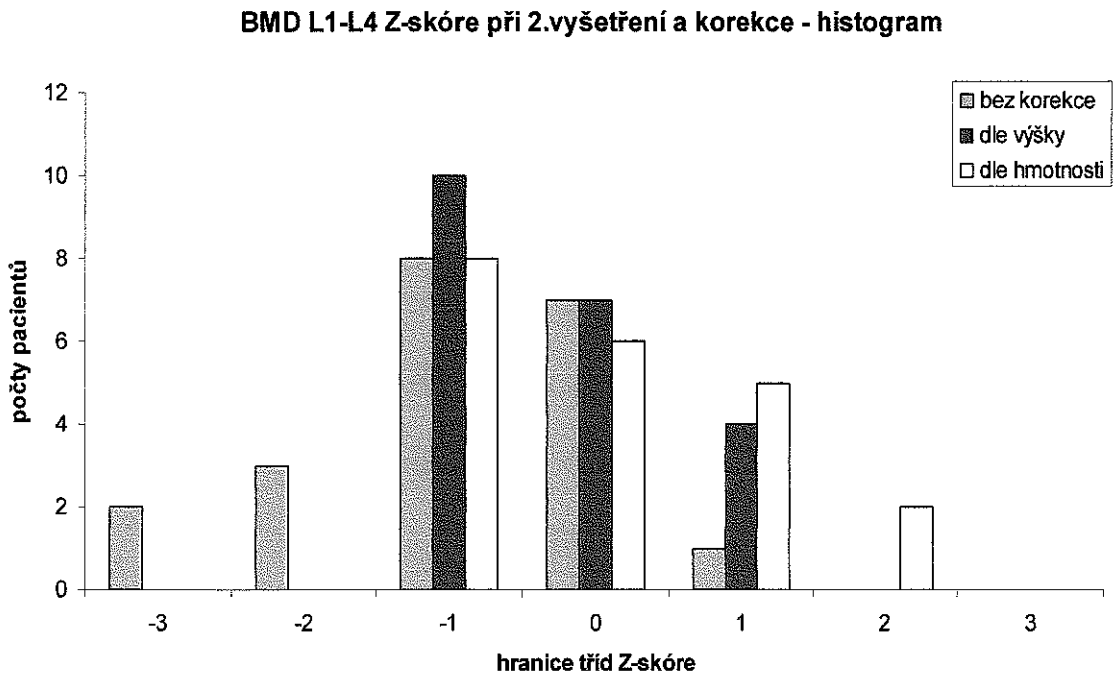
Graf č.21



Graf č.22



Graf č.23



V.B.2.3 CF-HK -skupina pacientů do 15 let věku

Tato skupina zahrnuje 14 pacientů (9 chlapců, 5 dívek), kteří byli 2x vyšetřeni a v době 2. vyšetření ještě nedosáhli 15 let věku. Důvodem separátního uvedení této skupiny pacientů je nehomogenita celého původního souboru, který zahrnuje dospělé i dětské pacienty. U dětí v této věkové skupině se výrazně projevuje na vzestupu denzity kostního minerálu efekt růstu. Přehledný souhrn výsledků podává **Tabulka č.16**. Hodnoty p uvedené v tabulce jsou vypočítány pro meziroční změnu parametru.

V.B.2.3.1 Antropometrické, biochemické a spirometrické parametry

Hmotnost, výška, BMI byly nízké vzhledem k věku a pohlaví, hmotnost k výšce byla normální při prvním měření ($p < 0{,}001$, $p < 0{,}001$, $p = 0{,}030$ a $p=0{,}067$). Při druhém vyšetření nebyly zjištěny signifikantní změny Z-skóre pro výšku, pro hmotnost a pro hmotnost k výšce, Z-skóre pro BMI pokleslo. Nebyly zjištěny signifikantní změny hladiny Ca, IgG, aktivity ALP, hodnoty FEV1 a odpadů Ca do moči.

Hodnoty odpadu kalcia do moči byly v nižším normálním rozmezí před intervencí, po intervenci byly symetricky rozloženy kolem osy **x**.

Při druhém vyšetření byly u některých z pacientů vyšetřeny i hladiny 1,25-$(OH)_2$-vitamínu D. Normální hodnoty se pohybují v rozmezí 43-150 pmol/L, hladiny u těchto pacientů tedy i po zvýšení substituce byly v nižší polovině normálního rozmezí.

V.B.2.3.2 DXA

BMD L1-L4 byly nízké vzhledem k věku a pohlaví ($p < 0,001$). Při druhém vyšetření byl zjištěn signifikantní vzestup BMD, BMC, BMA a BMD Z-skóre. Konkrétně u 8 z těchto pacientů došlo k signifikantnímu vzestupu denzity kostního minerálu, u 4 z nich byla změna nesignifikantní. U žádného nedošlo k signifikantnímu poklesu, u 2 pacientů nebyla změna softwarem vyhodnocena. Meziročně došlo k vzestupu BMD průměrně o 0,025 g/cm² (vzestup Z-skóre BMD L1-L4 průměrně o 0,59, **Tabulka č.16** a **Graf č.24**).

I po korekci dle výšky a hmotnosti byla BMD L1-L4 při prvním i druhém vyšetření nižší než referenční hodnoty (**Tabulka č.17,** $p < 0,001$ u všech), nicméně všechny korigované hodnoty byly při druhém vyšetření již vyšší než -2. Meziročně došlo k významnému vzestupu korigovaného i nekorigovaného BMD Z-skóre ($p < 0,001$, **Graf č.25).**

Vyšší vzestup denzity kostního minerálu než očekávaný byl pozorován i u pacientů, jejichž hmotnostní nebo výškový přírůstek byl nižší než očekávaný v jejich věkové skupině. Obdobně jako v celé skupině pacientů včetně starších 15 let jsme nenašli signifikantní závislost mezi změnou BMD L1-L4 Z-skóre a změnou Z-skóre výšky a hmotnosti.

Tabulka č.16 Výsledky vyšetření 14 CF pacientů do 15 let věku

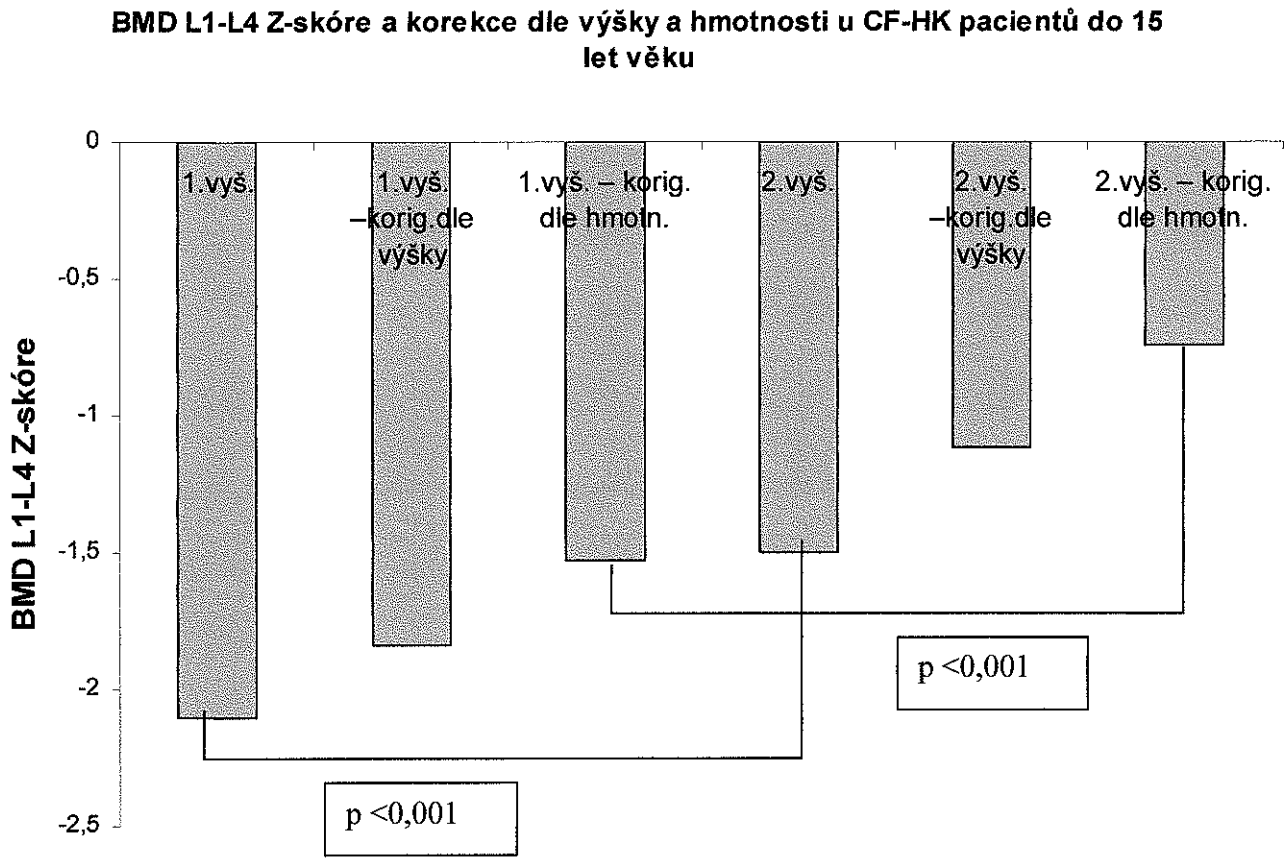
	POČÁTEK			PO ROCE			
	Minimum	Maximum	Průměr	Minimum	Maximum	Průměr	p-hodn. změny
Věk (roky)	5,17	13,72	10,01	5,95	14,86	10,96	-
Výška (m)	1,06	1,74	1,35	1,13	1,79	1,41	< 0,001
Výška – Z-skóre	-2,22	1,85	-0,93	-2,08	2,33	-0,78	0,22
Hmotnost (kg)	17,5	47,5	28,3	20	54	31,9	< 0,001
Hmotnost – Z-skóre	-1,72	1,12	-0,89	-1,91	0,92	-0,90	0,12
BMI (kg/m²)	13,7	18,34	15,64	13,97	18,58	15,77	0,39
BMI – Z-skóre	-1,77	1,79	-0,58	-1,98	1,75	-0,72	0,01

Hmotnost k výšce Z-skóre	-2,35	1,84	-0,49	-1,88	1,89	-0,60	0,13
BMD L1-L4 (g/cm2)	0,40	0,79	0,53	0,44	0,863	0,56	0,002
BMD L1-L4 Z-skóre	-3.5	-0.7	-2.1	-3.5	0.2	-1.5	< 0,001
BMC L1-L4 (g)	10,52	44,21	21,46	13,24	53,05	24,67	< 0,001
BMA L1-L4 (cm2)	24,16	56,12	21,46	30,14	61,48	42,27	< 0,001
Sérové Ca (mmol/L)	2,16	2,63	2,45	2,19	2,68	2,41	0,45
Sérové P (mmol/L)	1,39	2,05	1,64	-	-	-	-
1,25-(OH)2-vitamín D (pmol/L), 5pac.	-	-	-	50,4	66,5	57,12	-
IgG (g/L)	7,73	15,60	13,31	6,97	17,0	10,97	0,18
ALP (ukat/L)	2,54	5,01	3,79	2,75	6,42	4,22	0,08
FEV1 (%nál. hodnot)	51	110	82	46	102	83	0,47
fU-Ca (mmol/24h)	0.53	5.54	1.91	0.31	8.33	3.24	0,38
fU-Ca/kg (mmol/kg/24h)	0,01	0,22	0,06	0,02	0,15	0,085	0,43
Suplementace ergocalciferol (IU/den)	0	4000	2275	1600	8400	4400	0,001
Suplementace Ca (mg/den)	0	0	0	0	500	214	-

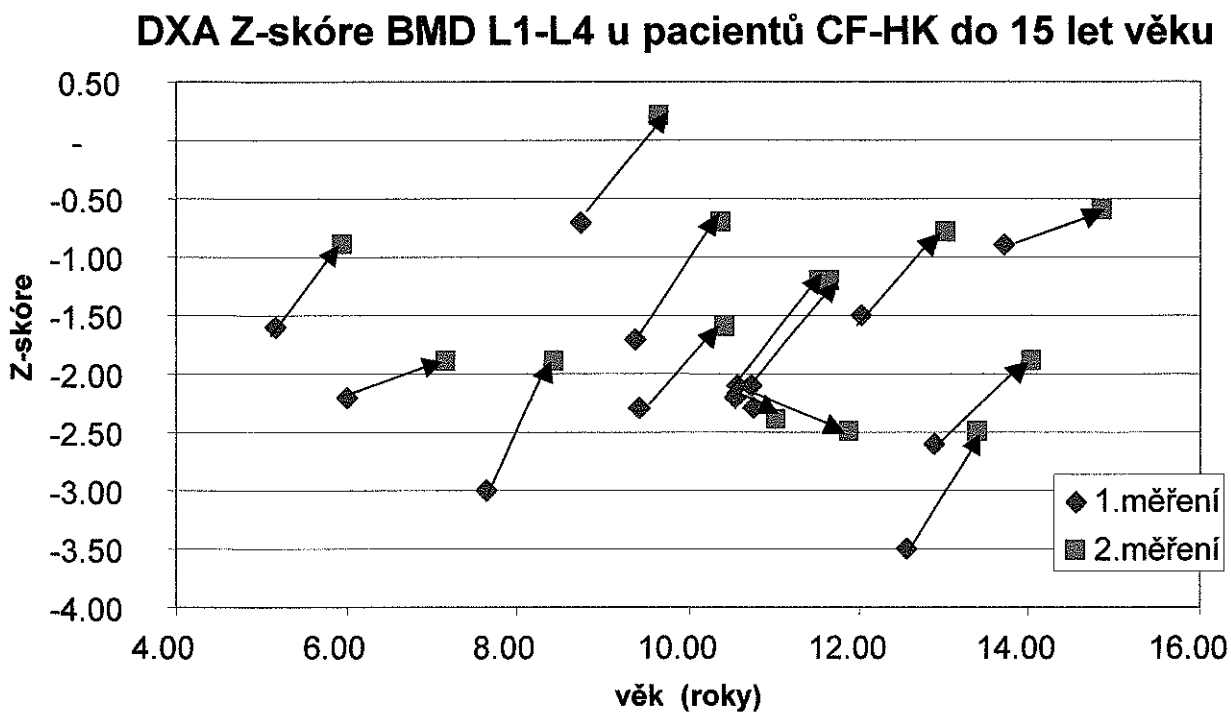
Tabulka č. 17 Přehled korigovaných a nekorigovaných BMD L1-L4 Z-skóre u pacientů do 15 let věku

BMD Z-skóre	1.vyš.	1.vyš. – korigované dle výšky	1.vyš. – korig. dle hmotn.	2.vyš.	2.vyš. – korigované dle výšky	2.vyš. – korig. dle hmotn.
Průměr	-2,1	-1,84	-1,53	-1,5	-1,12	-0,74
Směrodat.odch	0,75	0,61	0,54	0,81	0,56	0,68
Minimum	-3.5	-2,9	-2,5	-3,5	-1,9	-1,9
Maximum	-0,7	-0,7	-0,7	0.2	0,2	0,2
p-hodnota – srovnání s referencí	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Graf č.24

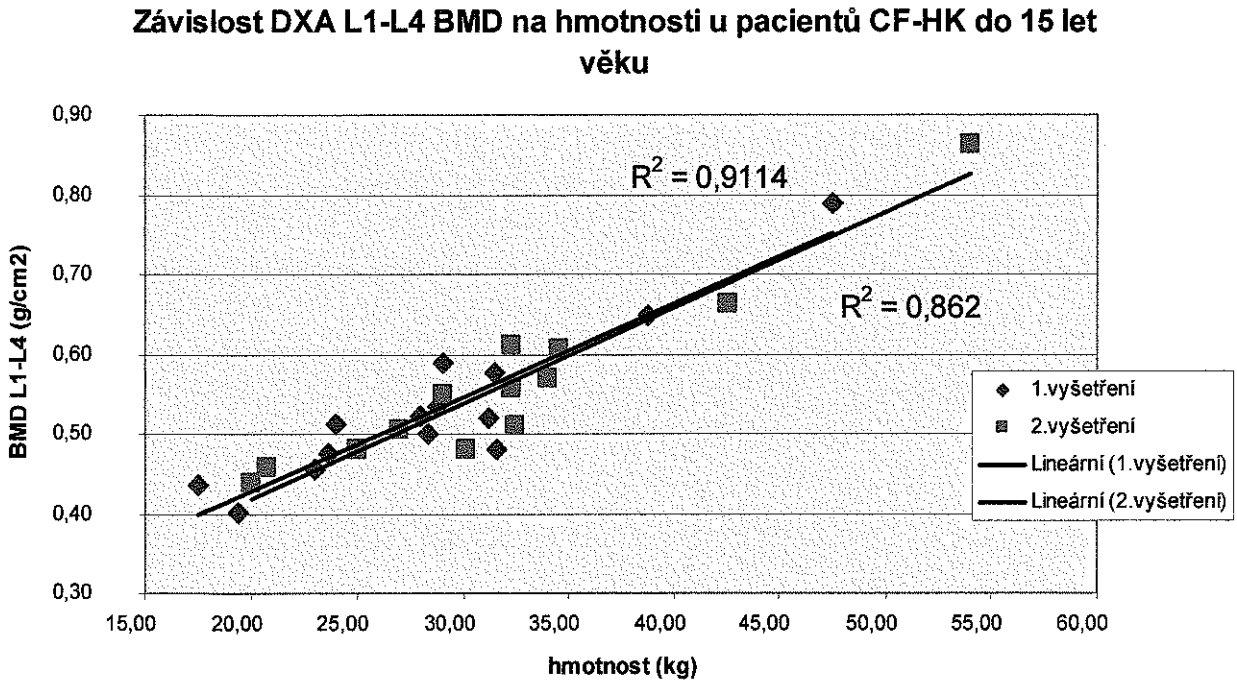


Graf č.25



U této specifické skupiny pacientů jsme opět zjistili silnou lineární závislost BMD L1-L4 na hmotnosti (**Graf č.26**, $p < 0,0001$), taktéž jsme zjistili obdobnou silnou lineární závislost pro BMC L1-L4 ($p < 0,0001$). Zjistili jsme také silnou závislost BMD L1-L4 na výšce ($p < 0,0001$). Obdobný koeficient determinace (R^2 = cca 0,80) vyšel pro lineální i mocninný model. Téměř stejný výsledek vyšel i pro BMC L1-L4. Zjistili jsme statisticky významnou závislost Z-skóre BMD L1-L4 na Z-skóre pro výšku a Z-skóre pro hmotnost (R^2=0,40, p = 0,015 resp. R^2= 0,53, p = 0,004 pro Z-skóre výšky, R^2 = 0,46, p = 0,008 a R^2 = 0,59, p = 0,002 pro Z-skóre hmotnosti při prvním a při druhém vyšetření).

Graf č.26



Souhrn výsledků CF-HK

1. **Pacienti CF-HK měli menší výšku a hmotnost než zdraví jedinci stejného věku a pohlaví.**
2. **Nebyl statisticky významný rozdíl v tělesné výšce, hmotnosti, BMI a hmotnosti k výšce mezi pacienty CF-HK a CF-Tübingen.**
3. **Pacienti CF-HK vykazovali nízkou denzitu kostního minerálu bederní páteře.**
4. **Po korekci dle výšky i hmotnosti přetrvávala nízká BMD L1-L4 u CF-HK pacientů < 15 let věku.**
5. **Zvýšení suplementace vitamínu D a vápníku u CF pacientů na podkladě vyhodnocení odpadů kalcia do moči vedlo k vyššímu nárůstu BMD, než by se vzhledem k růstu dal u pacientů do 20 let věku očekávat.**

VI. DISKUSE

Úvodem bych chtěla podotknout, že spektrum provedených vyšetření bylo svým způsobem omezeno. Vzhledem k vysoké zátěži, kterou přináší pravidelné monitorování a léčba CF pacientům, jsme je nechtěli vystavovat dalším náročným a nepříjemným vyšetřením a odběru vzorků. Je třeba brát v úvahu fakt, že 73% těchto pacientů bylo mladších 18 let.

VI.1 Mutace

Zastoupení mutace F508del u CF-Tübingen v homozygotním stavu (36%) bylo nižší než celkově v německé CF populaci, kde činí cca 50%, naopak podíl složených heterozygotů pro tuto mutaci byl vyšší – 42% oproti cca 16% celostátně [233]. Z CF-HK skupiny bylo 33% homozygoty pro mutaci F508del, 21 pacientů (50%) složenými heterozygoty pro tuto mutaci, celkem byla tato mutace zastoupena 58,3%, což je méně než současné celorepublikové zastoupení – 70,7 % [247]. Nejedná se o reprezentativní vzorky populací CF pacientů a svou roli zde mohou hrát regionální rozdíly. Nicméně odlišné zastoupení mutací oproti celostátnímu se může projevit i na výsledné klinické manifestaci onemocnění u dané skupiny pacientů.

VI.2 Zevně sekretorická funkce pankreatu, CF-hepatopatie, mikrobiální osídlení

Exokrinní pankreatická insuficience byla zastoupena u 94% pacientů CF-Tübingen, což je více než celostátní zastoupení (77%) [233]. U CF-HK šlo o 83% pacientů, což odpovídá celostátním výsledkům (85%) [247]. Exokrinní pankreatická insuficience může významně ovlivňovat stav výživy CF pacientů, i při důsledné substituci mohou mít někteří pacienti klinicky němou malabsorpci tuků, která pak zhoršuje výživový stav, vstřebávání vitamínů rozpustných v tucích, vstřebávání vápníku [247, str. 307]. To ve svém důsledku nepříznivě ovlivňuje stavbu kostí.

Podíl pacientů s CF hepatopatií lze obtížně vztáhnout k literárním údajům, které jsou značně rozporné, i v důsledku nejednotných definic.

Staphylococcus aureus bývá jeden z prvních patogenů osidlujících dýchací trakt CF pacientů, proto nepřekvapí vysoký podíl pacientů CFHK s tímto nálezem. Dopad infekce S.aureus na patogenezi CF - plicního onemocnění je dosud sporný [247, str. 114]. Procento pacientů chronicky osídlených infekce Pseudomonas aeruginosa stoupá s věkem, v dospělosti jde až o 80% [247]. Z dlouhodobého hlediska je zodpovědná za zhoršení plicních funkcí, klinického

stavu a prognózy pacienta [247]. 24% CF-HK pacientů, u nichž byla zjištěna infekce Burkholderia cepacia, zhruba odpovídá prevalenci v české CF- populaci (okolo 30%). Existují však značné regionální rozdíly. Také tento patogen, svým způsobem fascinující pro obrovskou přizpůsobivost a rezistenci vůči nepříznivým podmínkám, zhoršuje další prognózu konkrétního pacienta. Pro CF-Tübingen nemám údaje o bakteriálním osídlení k dispozici. Národní německá data z roku 2001 [233] hovoří o 42,6 % pacientů kultivačně pozitivních na Staphylococcus aureus, 49,5% na Pseudomonas aeruginosa a 2,1% na Burkholderia cepacia.

VI.3 Antropometrická a anamnestická data

Cystická fibróza je vrozené onemocnění, během života se postupně přidávají komplikace a narůstá vliv postižení jednotlivých orgánových systémů a také vliv medikace. Důležitou charakteristikou tohoto onemocnění je nebezpečí malnutrice a zánětlivá aktivita různé intenzity v průběhu života se střídáním období exacerbací a remisí.

Ke zhodnocení antropometrických parametrů u **českých** pacientů jsem použila program Růst 2 autorů Lesný a Krásničanová [136]. Tento program je přesnější než vizuální přibližné určení postavení dítěte na percentilovém grafu a umožňuje i vyhodnocení trendů. Referenční hodnoty pro DXA vyšetření se zakládají na datech získaných v průběhu více let, takže vzorky dětí vyšetřených k sestavení referenčního souboru odpovídají době vytváření dotyčného programu Růst 2.

Ke zhodnocení antropometrických parametrů u **německých** pacientů jsem použila data ze studie DONALD [160-162, 211-214]. Vzorek referenční populace se v tomto případě může ale mírně lišit od celé německé populace. Nevýhodné je rozdělení do skupin s rozpětím věku 2 roky, které také může vést k nepřesnostem.

CF pacienti Tübingen i HK byli statisticky nižší hmotnosti, výšky i BMI než referenční populace, což odpovídá i původním předpokladům. Zajímavé je zjištění celkově nižšího Z-skóre BMI u CF-Tübingen oproti CF-HK. Znamenalo by to, že vzhledem ke svým vrstevníkům pacienti CF-Tübingen byli „štíhlejší" než CF-HK, tedy i pravděpodobně v horším výživovém stavu. Když jsem však spočítala Z-skóre hmotnosti, výšky, BMI a hmotnosti k výšce pro pacienty CF-Tübingen za použití programu Růst 2, Z-skóre pro tyto parametry se u CF-Tübingen a CF-HK statisticky významně nelišila. Mohlo by to znamenat, že referenční populace německá ze studie DONALD byla celkově robustnější než česká referenční populace. 62% pacientů CF-Tübingen mladších 18 let věku mělo hmotnost nad 90% náležité hmotnosti k výšce (LSG), což je o něco méně než v celém Německu (73,9%)

[233]. Tento parametr se v naší zemi prakticky nepoužívá, v Německu je mu však dávána přednost před BMI při hodnocení výživového stavu CF pacientů mladších 18 let.

Sběr dat byl částečně retrospektivní. Určení **pubertálního stadia** by mělo být součástí pediatrického vyšetření, zejména při příjmu k hospitalizaci. Nicméně často v příjmovém vyšetření chybí. Určení **kostního věku** bylo provedeno z toho vzorku jen u několika jednotlivých pacientů v případě speciální indikace, zejména jako součást endokrinologického vyšetřovacího postupu při nízkém vzrůstu. Oba údaje by pravděpodobně byly v rámci studie zajímavou doplňující informací.

U žádného z vyšetřovaných pacientů nebyla zaznamenána spontánní **fraktura** nebo fraktura v důsledku neadekvátního působení síly. Taková zlomenina by svědčila pro nedostatečné uzpůsobení kostry mechanickým nárokům a zvyšovala by podezření na nepřiměřeně nízkou denzitu kostního minerálu.

VI.4 Bioelektrická impedanční analýza

BIA vyšetření bylo provedeno pouze u **německých CF pacientů**.

BIA měla tendenci k podhodnocení procenta tělesného tuku ve srovnání s DXA (**Graf č.2**). Jak již bylo zmíněno jinými autory, vybraná matematická formule k výpočtu procentuálního zastoupení jednotlivých tělesných komponent je klíčová a ne všechny přinášejí spolehlivé výsledky u všech typů pacientů [240, 258]. Longitudinální sledování se záznamem trendů by mohlo tyto nevýhody částečně odstranit. Náš přístroj používal formuli od autorů Kushner et al. pro odhad celkové tělesné vody a formuli dle Deurenberga et al. pro odhad extracelulární vody. Existují i studie, že naopak DXA může množství tělesného tuku nadhodnocovat [85]. Další nezávislou a přesnou metodu jsme neměli k dispozici.I když s vědomím možné nepřesnosti, BIA (ale ne DXA) prokázala nízké zastoupení tělesného tuku u CF pacientů. Nízké množství tělesného tuku u CF pacientů zvyšuje podíl aktivní tělesné hmoty na tělesné hmotnosti. Snižuje se však endokrinní vliv tukové tkáně jako producenta estrogenů a dalších působků.

Oproti DXA BIA skýtá řadu výhod – přístroj je malý, přenosný, vyšetření krátké, cena je nižší. Vyšetření lze v krátké době opakovat a sledovat tak trend ve složení těla konkrétního pacienta. V praxi je více rozšířen, užívá se i ve sportovní medicíně. BIA byla v řadě předchozích studií vyhodnocena jako metoda vhodná u CF pacientů, i k longitudinálnímu sledování v řadě studií [14, 83, 110, 176, 229]. Z naší studie se zdá být vhodnější až u pacientů s hmotností vyšší než 30 kg.

VI.5 Dvouenergiová rentgenová absorpciometrie

V Tübingenu (**CF-Tübingen**) bylo možno provést celotělový DXA scan. Jak celotělové vyšetření, tak scan L1-L4 jsou metodami doporučovanými ISCD pro vyšetření BMD u dětí [I-2]. Vyšetření jsem po zaučení prováděla sama. V Hradci Králové vyšetření není prováděno na našem pracovišti, ale na objednávku na Ústavu klinické biochemie a diagnostiky 2 vyškolenými akreditovanými pracovnicemi. Vzhledem k odlišnému místu měření se nabízejí odlišné pohledy na danou problematiku, které nelze spolu srovnat. Vzájemně se však mohou doplňovat.

VI.5.1 Celotělové DXA vyšetření

Celotělové DXA vyšetření nám poskytuje přesnou informaci o obsahu kostního minerálu v těle a také o měkkých tkáních. Podává informaci o denzitě, tedy vlastně o intenzitě stínu, který tělo vrhá. Jde o denzitu plošnou, zdánlivou, a nikoli skutečnou volumetrickou. Tato denzita je výsledkem sumace jednotlivých složek skeletu překrytých měkkými tkáněmi. Totožný výsledek plošné denzity můžeme získat po průchodu tenkým vysoce denzním předmětem anebo tlustým nízce denzním předmětem – volumetrický efekt. Referenční hodnoty pocházejí z vyšetření skupiny zdravých dětí stejného věku a pohlaví. Ale i v ní se vyskytují děti menšího a vyššího vzrůstu, v době peripubertální i v různém stadiu pohlavního zrání.

U pacientů CF-Tübingen jsme zjistili normální celotělovou BMD, což odpovídá některým literárním zdrojům [92, 96, 227].

Součástí software přístroje Lunar DPX nebyla referenční data týkající se měkkých tkání, proto jsem použila výsledky nizozemské studie zdravých dětí a mladých dospělých evropského původu ve věku 4-23 roků autorů van der Sluis et al. [243]. Autoři této studie použili přístroj Lunar DPXL/PED a pediatrický software u pacientů o hmotnosti nižší než 30 kg. Etnický původ pacientů je stejný. Je zde samozřejmě riziko systémové chyby. Aby byla data plně porovnatelná, musely by být přístroje kalibrovány za použití stejného fantomu. Každý přístroj je také svým způsobem unikátní, s vlastní krátkodobou a dlouhodobou reprodukcibilitou měření. U pacientů CF-Tübingen jsme zjistili výrazně nižší absolutní hmotnost měkkých tkání bez tuku oproti referenčním datům. Jde tedy zejména o výrazně menší množství svalové hmoty, stejně jako např. ve studii autorů Ionescu et al. [115]. S tím korespondují i výsledky vyšetření pQCT, kterým jsme zjistili menší plochu průřezu svalem proximálního předloktí. Pacienti CF-Tübingen tedy mají menší množství svalové hmoty, a to vzhledem k věku a dle pQCT i vzhledem k tělesné výšce. Pro DXA nebyla výškově

orientovaná referenční data k dispozici, pouze normy pro věk a pohlaví. Co se týče podílu tělesného tuku, bylo by možno očekávat ještě nižší výsledná Z-skóre. Průměr Z-skóre podílu tělesného tuku při srovnání s referenčními daty van der Sluis et al. [243] byl -0,25, rozpětí hodnot -4,55 až 2,09 (tedy značně široké). Celkově však rozdíl od referenčních dat nebyl statisticky významný.

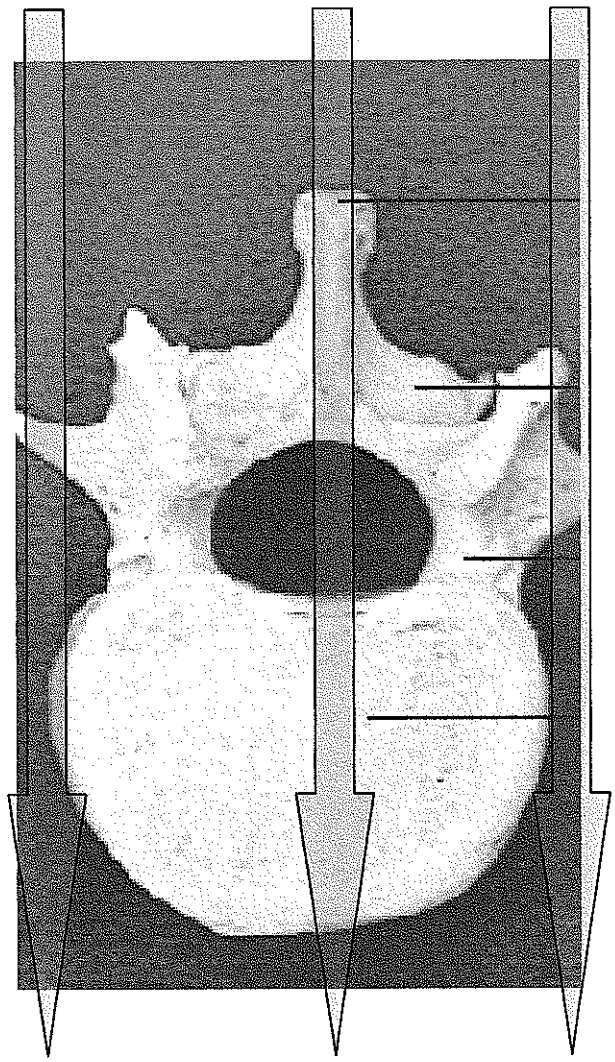
Jednoznačnou závislost BMD na výšce a hmotnosti pacienta s vysokým koeficientem determinace jsme zjistili i u pacientů CF-Tübingen. Software DXA přístroje, který jsme použili, korigoval výsledky u pacientů > 20 let věku, jejichž tělesné parametry byly odlišné od průměru. Na každý kilogram rozdílu mezi hmotností pacienta a průměrnou hmotností dané věkové skupiny byla kostní denzita zvýšena nebo snížena o 0,0043 g/cm². Tato korekce však nemohla být provedena u dětí. Naši pacienti byli lehčí a menší než normální populace. Striktní užití pouze věkově a pohlavně specifických referenčních dat by vedlo k podhodnocení jejich BMD [155]. Toto bylo jasně demonstrováno na jednom z dospělých pacientů CF-Tübingen, jehož DXA BMD Z-skóre bylo -3,19, což by mohlo být hodnoceno jako „osteoporóza". Ale BMD by bylo dostatečné pro osoby stejného pohlaví a výšky nebo hmotnosti. Tyto úvahy vedou k obavě o vhodném užití referenčních dat v hodnocení výsledků vyšetření DXA BMD u dětí s nízkou hmotností či výškou. Někteří autoři preferují výškově orientovaná referenční data, např. Molgaard et al. [151, 152] v třístupňovém modelu hodnocení denzity kostního minerálu. Jiní zdůrazňují vztah ke svalové hmotě [155]. Také Larsen et al. [131] zjistili u pacientů s CF „krátké a úzké kosti". U dětí se obecně doporučuje BMD získanou DXA vyšetřením korigovat vzhledem k výšce, pokud se odchyluje výrazně od populačních standardů. V oficiálních stanoviscích ISCD není přesně určeno, která kritéria je vhodné ke korekci užít [I-2]. Vzhledem k výrazné závislosti množství kostní hmoty na svalové hmotě by bylo logické u pacientů se zhoršeným nutričním stavem vztahovat zjištěnou BMD též k hmotnosti pacienta. V případě pacientů CF-Tübingen by bylo možno jistě užít korekce dle výšky, ale vzhledem k nízkému podílu měkkých tkání u **pacientů s CF bych se přikláněla právě ke korekci dle hmotnosti.**

VI.5.2 DXA lumbální páteře

DXA lumbální páteře je opět sumací. V cestě paprsku stojí trabekulární i kompaktní kost v pouze odhadovaném poměru (**Obrázek č.14**), stejně jako v případě **DXA femuru**. Při převodu BMD na zdánlivou volumetrickou kostní denzitu tedy nutně dochází k chybě. Řídká trabekularis může být vyrovnána větším podílem vysoce denzní kompaktní kosti oblouků a

výběžků. Přesto tento postup doporučuje mezinárodní konsensus pro prevenci a léčbu kostní nemoci u cystické fibrózy [7].

Obrázek č. 14 Lumbální obratel shora [modifikováno dle I-9]



V prezentované skupině dospělých **německých pacientů s CF byla kritéria WHO pro osteoporózu** splněna pouze u 1 pacienta a kritéria pro osteopenii taktéž u jednoho pacienta. To nebylo způsobeno eventuálním příznivým nutričním stavem této skupiny pacientů, protože hmotnost, výška, BMI a množství tělesného tuku u této skupiny pacientů byly nižší než u normální populace. U 3 dětí bylo zjištěno Z-skóre <-1, ale po korekci k podle jejich výšky či hmotnosti by jejich BMD odpovídala dobře i užšímu normálnímu rozmezí. I z grafického znázornění (**Graf č.4**) je dobře patrné symetrické rozložení zjištěných hodnot Z-skóre i bez jakékoli korekce okolo **X** osy, není zde posun k nižším hodnotám. Z toho vyplývá, že je možné u CF pacientů dosáhnout normální celotělové denzity kostního minerálu. Nabízí se

otázka, proč byla u této skupiny pacientů zjištěna normální celotělová BMD, čím se lišili od pacientů z jiných studií. Zda tedy šlo o:

1. chybu malých čísel – nelze vyloučit
2. pacienty s příznivější kombinací mutací – ale vzorek zhruba odpovídá běžné německé CF populaci
3. celkově zdravější pacienty, než v jiných studiích – skupina má extrémně široké věkové rozmezí, nebyla však znát tendence k výraznému poklesu Z-skóre BMD u dospělých CF pacientů. Je nutno podotknout, že průměrné FEV1 bylo 82,4%, medián 88,5% a průměr i medián hmotnosti k výšce byly 92%, což jsou velice příznivé výsledky. Tato možnost se tedy jeví jako velmi pravděpodobná.
4. agresivnější suplementaci – ale suplementace pacientů se řídila platným evropským konsensem [222], vitamín D, K a kalcium nebyly substituovány v době vyšetření vůbec.
5. možné nerovnoměrné rozložení kostního minerálu, kdy existují části těla s relativně nízkou a části s relativně vysokou denzitou kostního minerálu, které vzájemně vyrovnají výkyvy – tato možnost se jeví také jako pravděpodobná.

Jiná situace je u CF-HK při vyšetření DXA lumbální páteře, kdy jsme zjistili nižší BMD. Nabízí se několik vysvětlení:

1. jde o vliv nízké hmotnosti a výšky
2. jde zde skutečně o nedostatek kostní hmoty

Pravděpodobná je kombinace obou důvodů.

U našich pacientů jsme zjistili závislost BMD L1-L4 na výšce a hmotnosti pacienta s vysokým koeficientem determinace. Pokusila jsem se provést orientační korekci Z-skóre BMD dle hmotnosti a výšky pacienta. U pacientů CF-HK došlo tímto postupem k posunu směrem k vyšším hodnotám, a to jak při korekci dle výšky, tak zejména dle hmotnosti. Nicméně u některých pacientů, zejména u skupiny dětí pod 15 let věku, nedošlo k posunu Z-skóre BMD do normálního rozmezí, tedy nad –2,0, což by ukazovalo na skutečný nedostatek kostního minerálu. To může být jak důsledek nedostatečné mineralizace, tak prořídlé kostní struktury. Na skutečný nedostatek kostního minerálu by ukazovaly i pozitivní změny BMD po zvýšení substituce vitamínu D a kalcia. Odlišení obou možností však bez znalosti přesné volumetrické denzity obou typů kostní tkáně není možné. Denzitometrie navíc neodliší prořídlou strukturu kosti od osteomalacie. U dětských pacientů by však osteomalacie měla

formu křivice. Ta je provázena výraznou elevací ALP. Nepřítomnost této známky spolu s negativními klinickými známkami svědčí proti osteomalacii nebo křivici.

Hodnotu BMAD (bone mineral apparent density) pro oblast lumbálních obratlů jsme ve studii nevypočítávali.

Mají obě skupiny pacientů něco podstatně rozdílného, co by mohlo ovlivnit BMD?

Při srovnání obou skupin pacientů – CF-Tübingen a CF-HK nám vychází celkově stejná Z-skóre pro výšku i hmotnost. U CF-Tübingen bylo nižší Z-skóre pro BMI, ale při srovnání s českými referenčními daty v programu Růst 2 nebyl rozdíl statisticky významný. Věkově se obě skupiny nelišily. Obě skupiny měly na hladině významnosti 0,05 stejné výsledky IgG a FEV1.

Dalším vysvětlením, které se naskýtá pro diskrepanci výsledků měření BMD u obou skupin, je rozdílná lokalizace vyšetření. Je možné, že zatímco celotělová denzita kostního minerálu může zůstat relativně zachována, lumbální obratle by mohly být postiženy závažněji. Obsahují značný podíl trabekulární kosti, která rychleji reaguje na působení negativních vlivů (na rozdíl od kosti kortikální). Rozluštění by mohlo přinést vyšetření týchž pacientů DXA oběma způsoby – jak celotělový scan, tak pouze oblast lumbálních obratlů. Conway et al. nalezli nejvýraznější redukci BMD právě v oblasti lumbálních obratlů [49]. Sood et al. nalezli normální celotělovou BMD, avšak rozporné výsledky v oblasti lumbálních obratlů s nízkou BMAD při vyšetření DXA, ale relativně vysokou denzitou trabekularis zjištěnou za pomoci CT [227]. Aris et al. nalezli u skupiny 70 dospělých pacientů s CF a relativně pokročilým onemocněním redukci jak celotělové BMD tak i BMD lumbálních obratlů [10]. Na stavu těchto pacientů se ale jistě podílela pokračující deteriorace stavu. Obdobné výsledky přinesla i méně rozsáhlá studie (22 dospělých pacientů) autorů Bachrach et al. [16].

Analýza výsledků studie prokázala u **obou skupin pacientů** silnou závislost BMD na hmotnosti a svalové hmotě, závislost na výšce byla slabší. To odpovídá některým literárním údajům [64, 138, 154, 165, 228, 242], jiné upřednostňují výšku [196, 220, 257]. Koeficient determinace se v literatuře pohybuje mezi 0,53 (pro výšku - [154]) až k 0,96 (pro LBM - [165]). Na výraznější závislosti BMD na hmotnosti se u pacientů s CF podílí zhoršený nutriční stav. Tělesná hmotnost je částečně výrazem množství svalové hmoty, která by měla mít největší vliv na BMD. Např. Ionescu et al. [114] zjistili také výrazný vliv LBM na BMD, u pacientů s nižší LBM zjistili také vyšší parametry odbouráváni kosti a vyšší hladiny cirkulujícího IL-6. Tito autoři zjistili celkově sníženou BMD celkově i lokálně u CF pacientů. Salomoni et al. zjistili výraznou závislost BMC na LBM, u této skupiny pacientů s CF v dobrém výživovém stavu zjistili normální BMD a normální LBM [196]. Hardin et al. nalezli

normální denzitu kostního minerálu u pacientů s CF, ve své práci zdůrazňují nutnost výběru vhodných referenčních dat, ve své studii použili jako referenční mimo jiné i skupinu zdravých lidí, kteří měli nejen stejné pohlaví a věku, ale i výšku a LBM jako studovaní pacienti s CF [92].

Hmotnost tukové hmoty působí na kosti gravitační silou, tělesný tuk je současně zdrojem estrogenů, u CF může být redukován. Celkově však u skupiny pacientů CF-Tübingen redukován nebyl. V obou skupinách byl zjištěn nejsilnější vztah mezi hmotností a celotělovou BMD (respektive BMD lumbální páteře). Tento nález však může být specifický pouze pro CF pacienty, u nichž je nízký podíl tělesného tuku. Také např. Bhudhikanok et al. nalezli závislost BMD na tělesné hmotnosti [28]. Na druhou stranu bylo referováno v literatuře i o skryté depleci beztukových měkkých tkání, tedy zejména hmoty svalové [40, 189]. Výsledky CF-Tübingen by podporovaly tuto hypotézu. Při hledání nejvýznamnějšího kritéria, kterým bychom se mohli při hodnocení kostní denzity řídit, nelze naprosto separovat výšku a hmotnost. Oba dva parametry jsou spolu spojeny a vzájemně závislé. Při hodnocení kostní denzity u CF pacientů by ideálně měla být vzata v úvahu výška, hmotnost, svalová hmota, kostní věk a pubertální vývoj, nejen věk a pohlaví. Ne všechny tyto údaje však v praxi máme k dispozici, často je to pouze věk, pohlaví, hmotnost a výška pacienta.

Vzhledem k vysokým koeficientům determinace při vyhodnocení závislosti BMD na hmotnosti, k úloze svalové hmoty a obecně malému podílu tělesného tuku bych u CF doporučovala **korekci výsledku DXA BMD v závislosti na hmotnosti pacienta.**

BMD je ale pouze jedním z kritérií pro riziko vzniku fraktury. Neobsahuje v sobě prvek popisující kostní architekturu, která je dalším významným hlediskem.

Ve skupině CF-HK jsme také zjistili sníženou BMD již u nejnižších **věkových skupin** pacientů, což neodpovídá zcela předpokladu, že kritickým obdobím u pacientů s CF je puberta [7, 41]. Na druhou stranu to ukazuje, že tématu kostního zdraví u pacientů s CF je nutno věnovat pozornost již u prepubertálních pacientů. Obdobně nízkou BMD již u dětí nalezli např. Bhudhikanok et al. [29], v této longitudinální studii byl navíc zjištěn nedostatečný přírůstek kostního minerálu.

FEV1 jako jeden z prediktorů zdravotního stavu CF pacientů překvapivě nekoreloval významně s denzitou kostního minerálu u **CF-Tübingen**, což neodpovídá klinické zkušenosti ani některým literárním zdrojům [44, 49, 67, 114], i když např. Aris et al. také nenalezli

signifikantní vztah mezi FEV1 a T-skóre BMD [10]. Výraznější závislost jsme zjistili u **CF-HK** pacientů. Pacienti s lepšími plicními funkcemi měli lepší výsledky vyšetření kostní denzity, současně však tito pacienti byli i mladší. S postupem věku dochází k deterioraci plicních funkcí. Vzhledem k progresivnímu charakteru onemocnění lze předpokládat zhoršení dalších parametrů s věkem, nejenom plicních funkcí. Výrazné pozitivní změny BMD po intervenci byly zaznamenány u pacientů mladších. Nicméně změna Z-skóre BMD L1-L4 nebyla závislá na meziroční změně FEV1. Logickým předpokladem by bylo, že dojde ke zhoršení kostního zdraví při zhoršení plicních funkcí. Tuto závislost jsme však nemohli v naší studii potvrdit.

Plicní funkce se však mění rychleji než kostní denzita a momentálně probíhající infekce může způsobit rychlý, i přechodný, pokles plicních funkcí u jinak stabilního pacienta s dobře zachovanými plicními funkcemi. U jedné pacientky v hradecké CF skupině došlo k výraznému zlepšení plicních funkcí po nasazení inhalačních kortikosteroidů. Zjistili jsme tendenci k výraznějšímu zlepšení Z-skóre BMD L1-L4 po zvýšení suplementace vitamínu D a kalcia u hradeckých CF pacientů s vyšším FEV1. Tito pacienti však byli mladší, tedy jejich potenciál ke změně byl vyšší.

Zajímavým zjištěním byl pokles celkové aktivity ALP v séru po zvýšení suplementace vitamínem D a vápníkem. Mohlo by se jednat o výraz poklesu zvýšené remodelace kostí po uspokojení potřeby vitamínu D, která nebyla předtím pokryta dostatečně. Pro tuto hypotézu ale nemáme dostatek důkazů, zejména nemáme k dispozici další biochemické markery kostního metabolismu. Jistě by to mohl být námět pro další výzkum v této oblasti.

Sérové hladiny minerálů nekorelovaly významně u **obou CF skupin** s BMD. Jejich stabilní koncentrace v plazmě a dalších tělesných tekutinách má vyšší metabolický význam než stav kostí. Také **celková aktivita ALP a koncentrace vitamínu D** se nezdají být vhodnými pro předpověď stavu kostí u CF. ALP závisí částečně na postižení jater u CF, v případě elevace jaterní ALP by však byla zvýšená i aktivita astpartátaminotransferázy, alaninaminotransferázy a gamaglutamyltranspeptidázy. Kostní ALP je obrazem intenzity kostní novotvorby, tedy pouze jednoho ze dvou procesů - odbourávání a nové výstavby kosti. Může nám však pomoci odlišit rachitis, i když pro toto onemocnění by svědčily i klinické známky a na RTG patrné poruchy osifikace. Jestliže zajistíme dostatečný příjem fosforu a kalcia, neznámou zůstává potřeba vitamínu D. Hladina vitamínu D je částečně závislá na exogenním přívodu, zejména u CF pacientů, díky malabsorpci a porušenému metabolismu v tucích rozpustných vitamínů. U CF pacientů je potřeba vitamínu D zvýšena, může být

individuální u jednotlivého pacienta. Metabolismus tohoto vitamínu je pravděpodobně u CF pacientů porušen [37, 83, 86, 232]. Otázkou je také compliance pacienta.

Zvýšení přísunu kalcia by mohlo tvorbou mýdel vést ke zhoršení malabsorpčního syndromu a u CF pacientů a zhoršení gastrointestinálních obtíží. Tento údaj jsme u našich pacientů cíleně nesledovali, ale ani nezaznamenali.

VI.6 Intervenční studie s kalciem a vitamínem D u CF-HK

U **CF-HK pacientů** došlo ke změně BMD po intervenci nezávisle na změně SDS výšky nebo hmotnosti, i když tyto změny samozřejmě zahrnují i změny způsobené růstem. Původ zlepšení nelze hledat pouze ve zlepšení výživového stavu pacientů, ke kterému nedošlo (nezměnilo se Z-skóre výšky a dokonce se snížilo celkové Z-skóre BMI). K pozitivní změně Z-skóre BMD došlo i pacientů, kteří si vzhledem ke svým vrstevníkům výškově nebo hmotnostně „pohoršili". Nejvýraznější změny Z-skóre kostní denzity nastaly u pacientů pod 15, zejména pod 10 let věku. Z toho vyplývá, že zlepšení nelze přičítat pouze pubertálnímu zrání pacientů a růstovému spurtu v tomto období. Přirozeně je dosahováno maximálního přírůstku kostního minerálu asi za půl roku po maximálním výškovém přírůstku, u dívek okolo 12 roků, u chlapců okolo 14 roků věku ([151, 152, 251], **Obr.č.1 a 2**). Dále lze odvodit, že je potřebné začít dostatečnou suplementací vitamínem D a kalcia již v prepubertálním věku. Suplementace po ukončení růstu již má mnohem menší efekt na BMD, i když ji v žádném případě také nelze opominout. Pomáhá udržet stávající stav a zabránit zrychlenému úbytku kostního minerálu [7].

VI.7. Periferní kvantitativní výpočetní tomografie

Vyšetření periferní kvantitativní výpočetní tomografií bylo provedeno u pacientů **CF-Tübingen**. V Hradci Králové není tato metoda k dispozici.

pQCT přináší podrobnější informace o struktuře kostí a měkkých tkání než DXA. Zjistíme skutečnou volumetrickou denzitu trabekulární i kompaktní kosti, navíc i plochy průřezů jednotlivými tkáněmi. Dovoluje tedy i hodnocení vzájemného vztahu měkkých tkání a jednotlivých typů kostní tkáně. Je to periferní měření s nízkou radiační zátěží. Nepopisuje však centrální partie nebo celé tělo, což je nevýhodné vzhledem k uvažovanému různě těžkému postižení různých oblastí skeletu. Jeho použití u dětí však může být cenné, jak se ostatně shoduje i řada literárních zdrojů [124, 130, 133, 179, 225-227]. Kvantitativní CT k vyšetření osového skeletu by bylo zejména pro dětského pacienta výraznou radiační zátěží.

Rozmezí referenčních dat pro pQCT měření se zakládá na Gaussově distribuci, tedy hodnoty SDS –2 až 2 by měly představovat rozmezí 2,5. – 97,5. percentil. Trámčitá kost díky svému obrovskému povrchu odpovídá promptně na změny regulace kostního metabolismu. Oproti tomu změny kortikalis probíhají zejména na endostálním a periostálním povrchu, ale ne výlučně. U dětí léčených růstovým hormonem byly popisovány změny minerální denzity kortikální kosti po začátku léčby [220].

Hodnocení kostní denzity založené na srovnávání s referenčními rozmezími dle věku a pohlaví je zpochybněno "teorií mechanostatu", která se zabývá nejen samotnou kostí, ale svaly a kostmi dohromady, jako jedním celkem. Z hlediska této teorie [145, 160-162, 178, 179] svalové kontrakce a gravitace přinášejí většinu stimulů zodpovědných za formaci kostí. Jejich působení je ovlivňováno hormonálními, nutričními a genetickými faktory. Svalové kontrakce přinášejí větší zátěž kostem nesoucím hmotnost těla než působení gravitace [160]. Genetické faktory ovlivňují základní kostní masu. Estrogeny jsou jedním z hlavních hormonálních faktorů působících na kostní formaci, zvyšují kostní apozici na endostálním povrchu, která je nejvýraznější u postpubertálních premenopauzálních žen. Tato mechanicky nadbytečná a méně výhodně umístěná kostní tkáň pravděpodobně představuje zásobárnu vápníku pro těhotenství a laktaci. Androgeny podporují kostní apozici na periostálním povrchu, která je mechanicky výhodnější. Zajímavým nálezem u naší skupiny pacientů byla tenčí kortikalis, která je pravděpodobně důsledkem menšího množství svaloviny. Normální CSA proximálního radia s relativně velkou CSA dřeně a tenkou kortikalis je mechanicky výhodný model přinášející maximální mechanickou odolnost kosti jako orgánu za použití minimálního množství materiálu. Plocha průřezu kortikalis by měla být ve vztahu k ploše průřezu svalem, pokud je samotný kostní metabolismus intaktní [115, 131, 133, 196, 202]. Byly navrženy různé postupy pro hodnocení kostní denzity u dětí a adolescentů pomocí DXA a pQCT vyšetření [131, 133], založené na těsném vztahu mezi kostmi a svaly, které rozlišují mezi primární kostní poruchou a sekundární, způsobenou malou svalovou hmotou. V naší studii index CA/MA (plocha průřezu kortikalis/plocha průřezu svalem proximálního předloktí) odpovídal datům publikovaným Schönau et al. [131]. To může svědčit pro tenčí kortikalis jako sekundární jev, ne patologický, ale fyziologický. Kosti u těchto pacientů byly dostatečně přizpůsobeny jejich potřebám. Navíc index BMC/CSA byl obecně u těchto pacientů poměrně vysoký ve srovnání s referenčními daty ze studie DONALD, zejména u pacientů s menší plochou průřezu svalem proximálního předloktí. Kostní hmota byla tedy u nich dobře zachována, pravděpodobně také díky pravidelné fyzioterapii, která přináší zátěž nezbytnou pro kostní novotvorbu. U těchto pacientů také nebyla zaznamenána osteoporotická

fraktura. TBD byla v normálním rozmezí u všech pacientů. Z-skóre CBD bylo nižší nebo rovno -2 u 3 pacientů, což může být důsledkem jejich nízkého vzrůstu, opožděné maturace, nebo urychleně probíhající remodelace [220].

Z toho vyplývá, že nárůst svalové hmoty by mohl vést ke zvýšení denzity kostního minerálu a množství kostního minerálu jako důsledku zvýšení svalové síly a zátěže produkované svalovou činností [84, 211-213, 215]. Pravidelná sportovní aktivita by měla být součástí životního stylu CF pacientů. Fyzická aktivita musí být přizpůsobena celkovému stavu pacienta a jeho fyzickým možnostem. Užití anabolických steroidů zůstává u dospělých pacientů nestandardní a kontroverzní. Byl prokázán jejich pozitivní efekt na nutriční stav a zlepšení plicních funkcí po krátké anabolické kůře megestrol acetátu [61], i když může dojít i k nežádoucím účinkům endokrinním, např. adrenální supresi [149]. U dětí je jejich použití kontraindikováno pro potencionální těžké postižení pubertálního vývoje, gonadálních funkcí a urychlený uzávěr růstových štěrbin. Po krátkém urychlení růstu by byla snížená konečná tělesná výška. Na druhou stranu uznávanou léčebnou metodou u CF pacientů s primárním gonadálním selháním a nízkou hladinou pohlavních hormonů je jejich substituce, a to jak u žen, tak u mužů. Cystická fibróza sama o sobě **není registrovanou indikací k podání růstového hormonu**. Byly však již publikovány práce hovořící o příznivém efektu růstového hormonu u CF dětí s nízkým vzrůstem pod 10. percentil výšky [90] - zlepšení výšky, hmotnosti, LBM, BMC. U CF adolescentů [93] – podávání růstového hormonu zlepšilo výšku, hmotnost, LBM, BMC, plicní funkce, snížilo počet hospitalizací. U heterogenní skupiny CF pacientů včetně dospělých [206] došlo po podávání růstového hormonu ke vzestupu lean body mass a výkonnosti.

Jedna z pacientka CF ambulance Tübingen prodělala transplantaci plic. Denzita kortikalis a trabekularis byly u této pacientky v nižším normálním rozmezí (Z-skóre vzhledem k osobám stejného věku a pohlaví = –1,6, respektive -1,99). Celotělové měření DXA nemohlo být u této pacientky provedeno z technických důvodů.

Větší rozšíření pQCT v klinické praxi by jistě bylo výhodné jak v pediatrii, tak v „dospělé" medicíně. Zatím však zůstává pouze metodou výzkumnou, „zlatým standardem" zůstává nadále DXA.

Prezentovaná data mají některé **nedostatky,** které by bylo možno při plánování dalšího výzkumu i v běžné denní praxi předejít. Chybí nám údaje od některých pacientů, protože sběr dat byl částečně retrospektivní. K podrobnějšímu vyšetření kalciofosfátového metabolismu by bylo zajímavé znát i hladiny parathormonu, základní hladiny vitaminu D, močovou exkreci

natria a fosforu, rozbor jídelníčku s výpočtem konzumace kalcia. Odezva zvýšení suplementace vápníkem a vitamínem D by se mohla projevit v biochemických markerech kostního obratu. Nejvyšší hodnotu v důkazu účinku nového terapeutického postupu má jistě randomizovaná dvojitě zaslepená studie, která v podmínkách malého centra s padesátkou pacientů není reálná, byla by však proveditelná v rámci národní nebo mezinárodní spolupráce.

Prezentovaná data podporují hypotézu, že **komplexní specializovaná péče o CF pacienty** by mohla předejít rozvoji osteoporózy anebo alespoň zmírnit u pacientů s CF vliv základního onemocnění na kostní zdraví. Dále podporují hypotézu, že prevalence skutečně nízké denzity kostního minerálu u CF pacientů může být nadhodnocena, ale u některých pacientů s CF je stále aktuální hrozbou. Komplexnost péče je nezbytná, protože denzitu kostního minerálu ovlivňuje řada faktorů vzájemně propojených, včetně příjmu energie a bílkovin, pankreatické insuficience, jaterního onemocnění, opožděného pohlavního zrání, hypogonadismu, zánětlivého stavu, tělesné aktivity atd. Jako jeden z významných přispívajících faktorů je nutno zdůraznit pokrytí zvýšených energetických potřeb CF pacientů vysokoenergetickou dietou, také v závislosti na doprovodných komplikacích, společně se substitucí pankreatických enzymů. Vitamíny rozpustné v tucích jsou často potřebné ve zvýšené míře pro poruchy jejich absorpce a/nebo metabolismu a vysokou spotřebu v důsledku oxidativního stresu. Suplementace kalcia může být vhodná u pacientů s nízkým spontánní příjmem mléka a mléčných výrobků. Pravidlem je agresivní antibiotická léčba infekcí. Fyzická aktivita přizpůsobená možnostem pacienta by měla být součástí životního stylu pacientů s CF.

VII. ZÁVĚR A DOPORUČENÍ

VII.1 Závěry

1. Pacienti CF-Tübingen měli normální celotělovou denzitu kostního minerálu.
2. U pacientů CF-Tübingen byla zjištěna tenká vrstva kortikalis v oblasti proximálního radia, která proporcionálně souvisí s menším množstvím svalové hmoty.
3. CF-HK pacienti vykazovali nízkou denzitu kostního minerálu bederní páteře. Po korekci podle výšky nebo hmotnosti přetrvávala nízká denzita kostního minerálu bederních obratlů u pacientů CF-HK < 15 let věku.
4. U pacientů s CF lze tedy očekávat normální hodnoty celotělové BMD a snížené hodnoty denzity kostního minerálu v oblasti bederní páteře, a to i po korekci na tělesnou výšku.
5. Zvýšení suplementace vitamínu D a vápníku u CF pacientů na podkladě vyhodnocení močové exkrece kalcia vedlo k nárůstu kostní denzity vyššímu než očekávanému vzhledem k růstu u pacientů do 20 let věku.
6. U CF pacientů by mohla jako orientační vodítko ke korekci výsledku měření BMD metodou DXA sloužit hmotnost pacienta, s vědomím určitého zjednodušení a nepřesnosti.
7. pQCT je velmi dobrá komplementární denzitometrická metoda, která umožňuje komplexní náhled na vztah mezi kortikální kostí a svalem. I když není standardní metodou měření BMD, bylo by vhodné podpořit její větší rozšíření v klinické praxi.

VII.2 Doporučení pro praxi

1. Obecná **nespecifická opatření** s cílem minimalizovat nepříznivé vlivy na růst skeletu - plnohodnotná strava s dostatkem bílkovin a vápníku (3 porce mléčných výrobků denně), dostatečná substituce pankreatických enzymů u pankreaticky insuficientních pacientů, pravidelná fyzická aktivita nejméně 2x týdně, agresivní léčba plicních infekcí.
2. Pravidelné sledování **růstové křivky** a hmotnosti při kontrolách v ambulanci pro cystickou fibrózu.
3. Sledování **pubertálního vývoje** a včasná detekce případných odchylek.
4. Suplementace vitamínem D - 666 IU/den cholekalciferolu nebo 1600 IU/den ergokalciferolu, eventuálně více k zajištění normální hladiny 25-(OH)-vitamínu D v séru. Suplementace vitamínem K 2-5 mg/týden u všech pacientů s CF do 2 let věku a 5 mg 1-2x týdně u starších pacientů s CF hepatopatií.
5. **Sledování odpadu Ca a Na do moči** jistě 1x ročně, u pacientů se Z-skóre BMD L1-L4 menším než –1 kontroly á 3 měsíce, také při předchozím výsledku fU-Ca nižším než 0,03mmol/kg/24 hodin.
6. Při fU-Ca nižším než 0,03mmol/kg/24 hodin **zvýšení suplementace vitamínem D** o 1 kapku cholekalciferolu (666 IU) nebo 2 kapky ergokalciferolu (800 IU) za den a zavedení **suplementace vápníkem** u pacientů, kteří konzumují méně než 3 porce mléčných výrobků denně, zpočátku o 250-500mg/den.
7. Začít se **screeningovým vyšetřením BMD lumbální páteře** již od 6 let věku u všech pacientů s CF nezávisle na stavu výživy a plicních funkcí.
8. Opakování vyšetření DXA u dětí á 2 roky, u dětí se Z-skóre <-1 á 1 rok, u dospělých á 2 roky. U dětí důraz na sledování trendu přibývání denzity kostního minerálu, při nedostatečném přírůstku kostního minerálu také kontroly á 1 rok.
9. **Korekce BMD na tělesnou hmotnost u pacientů s CF.**
10. U pacientů s hypogonadismem – mužů i žen - **suplementace pohlavních hormonů**
11. Užití anabolických steroidů u pacientů s CF a nízkou BMD je dosud kontroverzní. Použití růstového hormonu u pacientů s CF se řídí stejnými indikacemi jako u dětí bez CF.
12. U dětí s CF je použití bisfosfonátů sporné, je možno je zvážit u dospělých pacientů s CF.

VIII. PODĚKOVÁNÍ

Děkuji všem lidem, kteří umožnili vznik této práce:

- všem zúčastněným pacientům
- panu doc.MUDr.Oldřichu Pozlerovi, CSc. - za odborné vedení za celou dobu studia, revizi textu a cenné rady
- panu Prof.Dr.Martinu Sternovi – za odborné vedení při plánování studie a jejím provádění
- panu MUDr.Hubertu Vaníčkovi, PhD. - za odborné rady a podporu
- panu ing.Josefu Bukačovi a paní RNDr.Evě Čermákové za statistické zpracování a cenné rady
- panu doc.MUDr.Pavlu Živnému, CSc. – za poskytnutí technických dat, spolupráci na interpretaci výsledků a připomínky k manuskriptu
- paní doc.MUDr.Evě Pařízkové, CSc., přednostce Dětské kliniky FNHK – za revizi textu a cenné připomínky
- CF-týmu Tübingen - za podporu při sběru dat
- pracovníkům Dětské kliniky FNHK – za výbornou spolupráci v rámci přípravy disertační práce i v běžném pracovním procesu a přátelské pracovní prostředí
- pracovníkům Ústavu klinické biochemie a diagnostiky FNHK – za provedení biochemických vyšetření
- pracovníkům I. interní kliniky FNHK – za provedení pletysmografických vyšetření

XI. SEZNAM VYOBRAZENÍ A TABULEK

VYOBRAZENÍ Stránka

Obr.č. 1 Přírůstek plochy projekce kosti a nárůst kostního minerálu 10

Obr.č. 2 Nárůst BMC v závislosti na věku a plocha projekce kostí v závislosti na výšce.....11

Obrázek č.3 Schéma rozdílu stavby normální a osteoporotické trabekulární kosti..... 29

Obrázek č.4 Typické hodnoty radiační zátěže při rutinních vyšetřeních 39

Obrázek č.5 Schéma k odlišení odlišení „neadekvátně nízké denzity kostního minerálu“ u dětí od „fyziologicky nízké denzity kostního minerálu“ 46

Obrázek č. 6 Stupňovité hodnocení BMC dle Schönau et al 47

Obrázek č.7 BIA měření 53

Obrázek č.8 Schéma zapojení bioelektrické impedanční spektroskopie 53

Obrázek č.9 Přístroj DPX 77

Obrázek č.10 Výsledný obraz získaný při DXA vyšetření, s vyznačenými hranicemi tělesných oblastí k vyhodnocení 78

Obrázek č.11 Přístroj XCT 2000 79

Obrázek č.12 Obraz získaný při vyšetření pQCT – řez v oblasti distálního předloktí s vyznačením ROI 79

Obrázek č. 13 DXA přístroj Delphi A, Hologic 84

Obrázek č. 14 Lumbální obratel shora.....122

GRAFY Stránka

Graf č.1 Procentuální zastoupení Z-skóre pro antropometrické parametry 89

Graf č.2 DXA a BIA odhad tělesného tuku..... 90

Graf č.3 Srovnání složení těla CF-Tübingen a referenčních dat (van der Sluis et al.).... 91

Graf č.4 DXA-Z-skóre pro celotělovou BMD dle věku..... 91

Graf č.5 Závislost celotělové BMD na hmotnosti 92

Graf č.6 Závislost DXA celotělového BMC na hmotnosti měkkých tkání bez tuku 93

Graf č.7 Plocha průřezu svalem proximálního předloktí vzhledem k referenční populaci dle věku a pohlaví 93

Graf č.8 Plocha průřezu svalem proximálního předloktí ve srovnání s výškově orientovanými referenčními hodnotami..... 94

Graf č.9 Závislost plochy průřezu kortikalis na ploše průřezu svalem 96
Graf č.10 Závislost BMC proximálního radia na CSA svalu 96
Graf č.11 Závislost plochy průřezu svalu proximálního předloktí na výšce 97
Graf č.12 Závislost průřezu svalem v oblasti proximálního předloktí na hmotnosti 97
Graf č.13 Vysoký index BMC/CSA svalu u pacientů s malou plochou průřezu svalem prox. předloktí 98
Graf č.14 CA/MA index a věk 99
Graf č.15 Procentuální zastoupení Z-skóre pro antropometrické parametry a denzitu kostního minerálu 103
Graf č.16 DXA BMD L1-L4 Z-skóre – 1.vyšetření 104
Graf č.17 BMD L1-L4 Z-skóre a korekce – histogram 104
Graf č.18 Závislost BMD L1-L4 na hmotnosti 105
Graf č.19 Závislost Z-skóre BMD L1-L4 na Z-skóre hmotnosti 106
Graf č.20 Z-skóre BMD L1-L4 podle věku 109
Graf č.21 Změna DXA- BMD Z-skóre dle věku 110
Graf č.22 BMD L1-L4 Z-skóre nekorigované a korigované původní (1) a po roce (2) .110
Graf č.23 BMD L1-L4 Z-skóre při 2.vyšetření a korekce – histogram 111
Graf č.24 BMD L1-L4 Z-skóre a korekce dle výšky a hmotnosti u pacientů CF-HK do 15 let věku 114
Graf č.25 DXA Z-skóre BMD L1-L4 u pacientů CF-HK do 15 let věku 115
Graf č.26 Závislost DXA L1-L4 BMD na hmotnosti u pacientů CF-HK do 15 let věku.....116

TABULKY **Stránka**

Tabulka č 1 Hranice typů kostní remodelace.....13
Tabulka č.2 Denní potřeba vápníku 18
Tabulka č.3 Rozdělení stavů s nepřiměřeně nízkou denzitou kostního minerálu.....30
Tabulka č.4 Faktory způsobující sekundární ztrátu kostní hmoty 31
Tabulka č.5 Přípravky pro prevenci a léčbu metabolických osteopatií 32
Tabulka č.6 Typické hodnoty radiační zátěže z různých zdrojů 38
Tabulka č.7 Diagnostické kategorie denzity kostního minerálu dle WHO 42
Tabulka č.8 Přehled biochemických markerů kostního metabolismu 48
Tabulka č.9 Souhrn studií kostní denzity u cystické fibrózy 67
Tabulka č.10 Celkový přehled souboru pacientů..... 74

Tabulka č. 11 Normální hodnoty CSA kortikalis/CSA svalu dle Schönau et al. 80

Tabulka č.12 Antropometrické, spirometrické a biochemické charakteristiky pacientů CF centra Tübingen 88

Tabulka č.13 Přehled parametrů zjištěných pQCT, vyjádřených jako Z-skóre..... 95

Tabulka č. 14 CF-HK – 1.vyšetření 101

Tabulka č.15 CF HK – 2. vyšetření 108

Tabulka č.16 Výsledky vyšetření 14 CF pacientů do 15 let věku 112

Tabulka č. 17 Přehled korigovaných a nekorigovaných BMD L1-L4 Z-skóre u pacientů do 15 let věku..... 114

X.LITERATURA

1. Ahmed N, Corey M, Forstner G, Zielenski J, Tsui LC, Ellis L, Tullis E, Durie P. Molecular consequences of cystic fibrosis transmembrane regulator (CFTR) gene mutations in the exocrine pancreas. Gut 2003; 52: 1159-1164.

2. Alex G, Catto-Smith AG, Ditchfield M, Roseby R, Robinson PJ, Cameron FJ, Oliver MR. Is significant cystic fibrosis-related liver disease a risk factor in the development of bone mineralization abnormalities? Pediatr Pulmonol. 2006;41:338-44.

3. Aris R, Lester G, Ontjes D. Treatment of bone disease in cystic fibrosis. Curr Opin Pulm Med. 2004;10:524-30.

4. Aris RM, Guise TA. Cystic fibrosis and bone disease: are we missing a genetic link? Eur Respir J. 2005;25:9-11.

5. Aris RM, Lester GE, Caminiti M, Blackwood AD, Hensler M, Lark RK, Hecker TM, Renner JB, Guillen U, Brown SA, Neuringer IP, Chalermskulrat W, Ontjes DA. Efficacy of alendronate in adults with cystic fibrosis with low bone density. Am J Respir Crit Care Med. 2004;169:77-82.

6. Aris RM, Lester GE, Dingman S, Ontjes DA. Altered calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. Osteoporos Int. 1999;10:102-8.

7. Aris RM, Merkel PA, Bachrach LK, Borowitz DS, Boyle MP, Elkin SL, Guise TA, Hardin DS, Haworth CS, Holick MF, Joseph PM, O'brien K, Tullis E, Watts NB, White TB. Consensus Conference Report: Guide to Bone Health and Disease in Cystic Fibrosis. 2005;90:1888-96.

8. Aris RM, Ontjes DA, Brown SA, Chalermskulrat W, Neuringer I, Lester GE. Carboxylated osteocalcin levels in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med. 2003;168:1129.

9. Aris RM, Ontjes DA, Buell HE, Blackwood AD, Lark RK, Caminiti M, Brown SA, Renner JB, Chalermskulrat W, Lester GE. Abnormal bone turnover in cystic fibrosis adults. Osteoporos Int. 2002;13:151-7.

10. Aris RM, Renner JB, Winders AD, Buell HE, Riggs DB, Lester GE, Ontjes DA. Increased rate of fractures and severe kyphosis: sequelae of living into adulthood with cystic fibrosis. Ann Intern Med 1998;128:186-193.

11. Aris RM, Stephens AR, Ontjes DA, Denene Blackwood A, Lark RK, Hensler MB, Neuringer IP, Lester GE. Adverse alterations in bone metabolism are associated with lung infection in adults with cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162:1674-1678.

12. Armas LA, Hollis BW, Heaney RP. Vitamin D2 is much less effective than vitamin D3 in humans. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89(11):5387-91.

13. Aubin JE, Bonnelye E. Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. Osteoporos Int. 2000;11:905-13.

14. Azcue M, Fried M, Pencharz PB. Use of bioelectrical impedance analysis to measure total body water in patients with cystic fibrosis. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1993;16:440-5.

15. Back EI, Frindt C, Nohr D, Frank J, Ziebach R, Stern M, Ranke M, Biesalski HK. Antioxidant deficiency in cystic fibrosis: when is the right time to take action?Am J Clin Nutr. 2004;80:374-84.

16. Bachrach LK, Loutit CW, Moss RB. Osteopenia in adults with cystic fibrosis. Am J Med. 1994;96:27-34.

17. Bachrach LK, Neely EK. Pitfalls in the hunt for osteoporosis. Am J Med. 2003;115:322-3.

18. Bachrach LK. Bare-bones fact--children are not small adults.N Engl J Med. 2004;351:924-6.

19. Bachrach LK. Acquisition of optimal bone mass in childhood and adolescence. Trends Endocrinol Metab. 2001;12(1):22-8.

20. Bailey DA, McKay HA, Mirwald RL, Crocker PR, Faulkner RA. A six-year longitudinal study of the relationship of physical activity to bone mineral accrual in growing children: the university of Saskatchewan bone mineral accrual study. J Bone Miner Res. 1999;14:1672-9.

21. Ballabriga A. Morphological and physiological changes during growth: an update. Eur J Clin Nutr. 2000;54 Suppl 1:S1-6.

22. Barnes C, Newall F, Ignjatovic V, Wong P, Cameron F, Jones G, Monagle P. Reduced bone density in children on long-term warfarin. Pediatr Res. 2005;57:578-81.

23. Baroncelli GI, De Luca F, Magazzu G, Arrigo T, Sferlazzas C, Catena C, Bertelloni S, Saggese G. Bone demineralization in cystic fibrosis: evidence of imbalance between bone formation and degradation. Pediatr Res. 1997;41:397-403.

24. Baxter-Jones AD, Mirwald RL, McKay HA, Bailey DA. A longitudinal analysis of sex differences in bone mineral accrual in healthy 8-19-year-old boys and girls.Ann Hum Biol. 2003;30:160-75.

25. Bayer M, Kutílek Š, Feber J, Gut J. Metabolická onemocnění skeletu u dětí. Praha: GRADA Publishing, 2002.

26. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Nelson Textbook of Pediatrics. 16th edition. WB Saunders Company, Philadelphia, 2000.

27. Bernstein CN, Leslie WD, Leboff MS. AGA technical review on osteoporosis in gastrointestinal diseases. Gastroenterology. 2003;124(3):795-841.

28. Bhudhikanok GS, Lim J, Marcus R, Harkins A, Moss RB, Bachrach LK. Correlates of osteopenia in patients with cystic fibrosis. Pediatrics 1996; 97:103-111.

29. Bhudhikanok GS, Wang MC, Marcus R, Harkins A, Moss RB, Bachrach LK. Bone acquisition and loss in children and adults with cystic fibrosis. J Pediatr 1998; 133:18-27.

30. Bianchi ML, Romano G, Saraifoger S, Costantini D, Limonta C, Colombo C. BMD and body composition in children and young patients affected by cystic fibrosis. J Bone Miner Res. 2006;21:388-96.

31. Blake GM, Wahner HW, Fogelman I. The Evaluation of Osteoporosis: Dual energy X-ray Absorptiometry and Ultrasound in Clinical Practice. 2nd Edition. Martin Danitz Ltd., London 1999.

32. Bolton CE, Ionescu AA, Evans WD, Pettit RJ, Shale DJ. Altered tissue distribution in adults with cystic fibrosis. Thorax. 2003;58:885-9.

33. Borowitz D, Conboy K. Are bioelectric impedance measurements valid in patients with cystic fibrosis? J Pediatr Gastroenterol Nutr. 1994;18:453-6.

34. Botton E, Saraux A, Laselve H, Jousse S, Le Goff P. Musculoskeletal manifestations in cystic fibrosis.Joint Bone Spine. 2003;70:327-35.

35. Bouillon R, Bex M, Vanderschueren D, Boonen S. Estrogens are essential for male pubertal periosteal bone expansion. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:6025-9.

36. Bounds W, Skinner J, Carruth BR, Ziegler P. The relationship of dietary and lifestyle factors to bone mineral indexes in children. J Am Diet Assoc. 2005;105:735-41.

37. Boyle MP, Noschese ML, Watts SL, Davis ME, Stenner SE, Lechtzin N. Failure of high-dose ergocalciferol to correct vitamin D deficiency in adults with cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med. 2005;172:212-7.

38. Bray GA, DeLany JP, Volaufova J, Harsha DW, Champagne C. Prediction of body fat in 12-y-old African American and white children: evaluation of methods. Am J Clin Nutr. 2002;76:980-90.

39. Brenckmann C, Papaioannou A, Freitag A, Hennessey R, Hansen S, Ioannidis G, Webber C, Adachi J. Osteoporosis in Canadian adult cystic fibrosis patients: a descriptive study. BMC Musculoskelet Disord. 2003;4:13.

40. Brown SA, Ontjes DA, Lester GE, Lark RK, Hensler MB, Blackwood AD, Caminiti MJ, Backlund DC, Aris RM. Short-term calcitriol administration improves calcium homeostasis in adults with cystic fibrosis. Osteoporos Int. 2003;14:442-9.

41. Buntain HM, Greer RM, Schluter PJ, Wong JC, Batch JA, Potter JM, Lewindon PJ, Powell E, Wainwright CE, Bell SC. Bone mineral density in Australian children, adolescents and adults with cystic fibrosis: a controlled cross sectional study. Thorax. 2004;59:149-55.

42. Buntain HM, Greer RM, Wong JC, Schluter PJ, Batch J, Lewindon P, Bell SC, Wainwright CE. Pubertal development and its influences on bone mineral density in Australian children and adolescents with cystic fibrosis.J Paediatr Child Health. 2005;41:317-22.

43. Buntain HM, Schluter PJ, Bell SC, Greer RM, Wong JC, Batch J, Lewindon P, Wainwright CE. Controlled longitudinal study of bone mass accrual in children and adolescents with cystic fibrosis. Thorax. 2006;6:146-54.

44. Capozza RF, Cointry GR, Cure-Ramirez P, Ferretti JL, Cure-Cure C. A DXA study of muscle-bone relationships in the whole body and limbs of 2512 normal men and pre- and post-menopausal women. Bone. 2004;35:283-95.

45. Castellani C, Malerba G, Sangalli A, Delmarco A, Petrelli E, Rossini M, Assael BM, Mottes M. The genetic background of osteoporosis in cystic fibrosis: Association analysis with polymorphic markers in four candidate genes. J Cyst Fibros. 2006 May 16.

46. Cawood TJ, McKenna MJ, Gallagher CG, Smith D, Wen YC, Gibney J, Dodd JD, O'Shea D. Oral bisphosphonates improve Bone Mineral Density in adults with cystic fibrosis. Ir Med J. 2005;98:270-3.

47. Cointry GR, Capozza RF, Ferretti JL, Frost HM. [Toward an anthropometric diagnosis of osteopenia and a biochemical diagnosis of osteoporoses]. Medicina (B Aires). 2003;63:737-47. Anglický abstrakt článku ve španělštině.

48. Conway SP. Bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Thorax. 1999;54:957.

49. Conway SP, Morton AM, Oldroyd B, Truscott JG, White H, Smith AH, Haigh I. Osteoporosis and osteopenia in adults and adolescents with cystic fibrosis: prevalence and associated factors. Thorax 2000; 55:798-804.

50. Conway SP, Wolfe SP, Brownlee KG, White H, Oldroyd B, Truscott JG, Harvey JM, Shearer MJ. Vitamin K status among children with cystic fibrosis and its relationship to bone mineral density and bone turnover. Pediatrics. 2005;115:1325-31.

51. Deurenberg P. Validation of body composition methods and assumptions. Br J Nutr. 2003;90:485-6.

52. Dif F, Marty C, Baudoin C, de Vernejoul MC, Levi G. Severe osteopenia in CFTR-null mice. Bone. 2004; 35:595-603.

53. Donovan DS Jr, Papadopoulos A, Staron RB, Addesso V, Schulman L, McGregor C, Cosman F, Lindsay RL, Shane E. Bone mass and vitamin D deficiency in adults with advanced cystic fibrosis lung disease. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157:1892-9.

54. Duveau E, Beringue F, Pellier I, Audran M, Ginies JL. Étude de la mineralisation osseuse de patients mucoviscidosiques par absorptiométrie biphotonique à rayons X. [Bone mineral density in patients with cystic fibrosis by dual-energy X-ray absorptiometry] Arch Pediatr. 1999 Jul;6(7):720-4. Anglický abstrakt článku ve francouzštině.

55. Elberg J, McDuffie JR, Sebring NG, Salaita C, Keil M, Robotham D, Reynolds JC, Yanovski JA. Comparison of methods to assess change in children's body composition. Am J Clin Nutr. 2004;80:64-9.

56. Elkin SL, Vedi S, Bord S, Garrahan NJ, Hodson ME, Compston JE. Histomorphometric analysis of bone biopsies from the iliac crest of adults with cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med. 2002;166:1470-4.

57. Elkin SL, Williams L, Moore M, Hodson ME, Rutherford OM. Relationship of skeletal muscle mass, muscle strength and bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Clin Sci (Lond). 2000;99:309-14.

58. Ellis KJ. Human body composition: in vivo methods. Physiol Rev. 2000;80:649-80.

59. Ellis KJ, Shypailo RJ, Hardin DS, Perez MD, Motil KJ, Wong WW, Abrams SA. Z score prediction model for assessment of bone mineral content in pediatric diseases. J Bone Miner Res. 2001;16:1658-64.

60. Estepa JC, Aguilera-Tejero E, Lopez I, Almaden Y, Rodriguez M, Felsenfeld AJ. Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. J Bone Miner Res. 1999;14:1848-54.

61. Eubanks V, Koppersmith N, Wooldridge N, Clancy JP, Lyrene R, Arani RB, Lee J, Moldawer L, Atchison J, Sorscher EJ, Makris CM. Effects of megestrol acetate on weight gain, body composition, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. J Pediatr. 2002;140:439-44.

62. Fain O. Musculoskeletal manifestations of scurvy. Joint Bone Spine. 2005;72:124-8.

63. Faulkner KG. The tale of the T-score: review and perspective. Osteoporos Int. 2005;16:347-52.

64. Faulkner RA, Bailey DA, Drinkwater DT, Wilkinson AA, Houston CS, McKay HA. Regional and total body bone mineral content, bone mineral density, and total body tissue composition in children 8-16 years of age. Calcif Tissue Int. 1993;53:7-12.

65. Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R. Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men.J Clin Endocrinol Metab. 2005;90(3):1519-24.

66. Ferretti JL, Capozza RF, Zanchetta JR. Mechanical validation of a tomographic (pQCT) index for noninvasive estimation of rat femur bending strength. Bone. 1996 Feb;18(2):97-102.

67. Ferretti JL, Cointry GR, Capozza RF, Frost HM. Bone mass, bone strength, muscle-bone interactions, osteopenias and osteoporoses. Mech Ageing Dev. 2003;124:269-79.

68. Flohr F, Lutz A, App EM, Matthys H, Reincke M. Bone mineral density and quantitative ultrasound in adults with cystic fibrosis. Eur J Endocrinol. 2002;146:531-6.

69. Fok J, Brown NE, Zuberbuhler P, Tabak J, Tom M. Low bone mineral density in cystic fibrosis patients. Can J Diet Pract Res. 2002;63:192-7.

70. Foster BJ, Shults J, Zemel BS, Leonard MB. Interactions between growth and body composition in children treated with high-dose chronic glucocorticoids. Am J Clin Nutr. 2004;80:1334-41.

71. Frangolias DD, Pare PD, Kendler DL, Davidson AG, Wong L, Raboud J, Wilcox PG. Role of exercise and nutrition status on bone mineral density in cystic fibrosis. J Cyst Fibros. 2003;2:163-70.

72. Frost HM, Schonau E. The "muscle-bone unit" in children and adolescents: a 2000 overview. J Pediatr Endocrinol Metab. 2000;13:571-90.

73. Frost HM. Why do bone strength and "mass" in aging adults become unresponsive to vigorous exercise? Insights of the Utah paradigm. J Bone Miner Metab. 1999;17:90-7.

74. Frost HM. On the estrogen-bone relationship and postmenopausal bone loss: A new model. J Bone Miner Res. 1999;14:1473-7.

75. Frost HM. Bone's mechanostat: a 2003 update. Anat Rec. 2003;275:1081-101.

76. Frost HM. A 2003 update of bone physiology and Wolff's Law for clinicians. Angle Orthod. 2004;74:3-15.

77. Gafni RI, Baron J. Overdiagnosis of osteoporosis in children due to misinterpretation of dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA). J Pediatr. 2004;144:253-7.

78. Gibbens DT, Gilsanz V, Boechat MI, Dufer D, Carlson ME, Wang CI. Osteoporosis in cystic fibrosis. J Pediatr. 1988;113:295-300.

79. Giron RM, Sanchez Molini P, Almonacid C, Jiménez I, Rodriguez Salvanes F, Garcia Vadillo A, Quintana ML, Hurtado J, Ancochea J. A study of bone mineral density in adult patients with cystic fibrosis] Med Clin (Barc). 2004;123:81-4. Anglický abstrakt článku ve španělštině.

80. Giron RM, Sanchez Molini P, Garcia Vadillo A, Quintana ML, Rodriguez Salvanes F, Jimenez I, Mancha A, Cisneros C, Ancochea J. Efectividad en la aplicación de tres protocolos de prevención y tratamiento de la osteoporosis en pacientes adultos con fibrosis quística. [Protocol for prevention and treatment of osteoporosis in patients with cystic fibrosis]Med Clin (Barc). 2005;125:325-8.

81. Gordon CM, Binello E, Leboff MS, Wohl ME, Rosen CJ, Colin AA. Relationship between insulin-like growth factor I, dehydroepiandrosterone sulfate and proresorptive cytokines and bone density in cystic fibrosis. Osteoporos Int. 2006;17:783-790.

82. Goulding A, Taylor RW, Jones IE, McAuley KA, Manning PJ, Williams SM. Overweight and obese children have low bone mass and area for their weight. Int J Obes Relat Metab Disord. 2000;24:627-32.

83. Greer RM, Buntain HM, Potter JM, Wainwright CE, Wong JC, O'Rourke PK, Francis PW, Bell SC, Batch JA. Abnormalities of the PTH-vitamin D axis and bone turnover markers in children, adolescents and adults with cystic fibrosis: comparison with healthy controls. Osteoporos Int. 2003;14:404-11.

84. Gronowitz E, Garemo M, Lindblad A, Mellstrom D, Strandvik B. Decreased bone mineral density in normal-growing patients with cystic fibrosis. Acta Paediatr. 2003;92:688-93.

85. Gutin B, Litaker M, Islam S, Manos T, Smith C, Treiber F. Body-composition measurement in 9-11-y-old children by dual-energy X-ray absorptiometry, skinfold-thickness measurements, and bioimpedance analysis. Am J Clin Nutr. 1996;63:287-92.

86. Hahn TJ, Squires AE, Halstead LR, Strominger DB. Reduced serum 25-hydroxyvitamin D concentration and disordered mineral metabolism in patients with cystic fibrosis. J Pediatr. 1979;94:38-42.

87. Hall SL, Greendale GA. The relation of dietary vitamin C intake to bone mineral density: results from the PEPI study. Calcif Tissue Int. 1998;63:183-9.

88. Hammami M, Koo WW, Hockman EM. Technical considerations for fan-beam dual-energy x-ray absorptiometry body composition measurements in pediatric studies. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2004;28:328-33.

89. Hanly JG, McKenna MJ, Quigley C, Freaney R, Muldowney FP, FitzGerald MX. Hypovitaminosis D and response to supplementation in older patients with cystic fibrosis. Q J Med. 1985;56:377-85.

90. Hardin DS, Ahn C, Prestidge C, Seilheimer DK, Ellis KJ. Growth hormone improves bone mineral content in children with cystic fibrosis. J Pediatr Endocrinol Metab. 2005;18:589-95.

91. Hardin DS, Arumugam R, Seilheimer DK, LeBlanc A, Ellis KJ. Correlates of prepubertal bone mineral density in cystic fibrosis. Arch Dis Child. 2001;85:166-71.

92. Hardin DS, Arumugam R, Seilheimer DK, LeBlanc A, Ellis KJ. Normal bone mineral density in cystic fibrosis. Arch Dis Child 2001; 84:363-368.

93. Hardin DS, Ferkol T, Ahn C, Dreimane D, Dyson M, Morse M, Prestidge C, Rice J, Seilheimer DK. A retrospective study of growth hormone use in adolescents with cystic fibrosis. Clin Endocrinol (Oxf). 2005;62:560-6.

94. Hardin DS, Rice J, Ahn C, Ferkol T, Howenstine M, Spears S, Prestidge C, Seilheimer DK, Shepherd R. Growth hormone treatment enhances nutrition and growth in children with cystic fibrosis receiving enteral nutrition. J Pediatr. 2005;146:324-8.

95. Hardin DS. GH improves growth and clinical status in children with cystic fibrosis -- a review of published studies.Eur J Endocrinol. 2004;151 Suppl 1:S81-5.

96. Haslam RH, Borovnicar DJ, Stroud DB, Strauss BJ, Bines JE. Correlates of prepubertal bone mineral density in cystic fibrosis. Arch Dis Child. 2001;85:166-71.

97. Haworth CS, Jones AM, Adams JE, Selby PL, Webb AK. Randomised double blind placebo controlled trial investigating the effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density and bone metabolism in adult patients with cystic fibrosis. J Cyst Fibros. 2004;3:233-6.

98. Haworth CS, Selby PL, Adams JE, Mawer EB, Horrocks AW, Webb AK. Effect of intravenous pamidronate on bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Thorax. 2001;56:314-6.

99. Haworth CS, Selby PL, Webb AK, Dodd ME, Musson H, McL Niven R, Economou G, Horrocks AW, Freemont AJ, Mawer EB, Adams JE Low bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Thorax. 1999;54:961–967.

100. Haworth CS, Webb AK, Egan JJ, Selby PL, Hasleton PS, Bishop PW, Freemont TJ. Bone histomorphometry in adult patients with cystic fibrosis. CHEST 2000; 118:434-439.

101. Haworth CS, Selby PL, Horrock, AW, Mawer EB, Adams JE, Webb AK. A prospective study of change in bone mineral density over one year in adults with cystic fibrosis. Thorax, 2002;57:719-23.

102. Haworth CS, Selby PL, Webb AK, Martin L, Elborn JS, Sharples LD, Adams, J.E. Inflammatory related changes in bone mineral content in adults with cystic fibrosis. Thorax. 2004;59:613-7.

103. Hayden JM, Mohan S, Baylink DJ. The insulin-like growth factor system and the coupling of formation to resorption. Bone. 1995;17(2 Suppl):93S-98S.

104. Heiss C, Hoesel LM, Wehr U, Keller T, Horas U, Meyer C, Rambeck W, Schnettler R. Vitamin K in combination with other biochemical markers to diagnose osteoporosis. Biomarkers. 2004;9:479-88.

105. Henderson RC, Kairalla J, Abbas A, Stevenson RD. Predicting low bone density in children and young adults with quadriplegic cerebral palsy. Dev Med Child Neurol. 2004;46:416-9.

106. Henderson RC, Lark RK, Gurka MJ, Worley G, Fung EB, Conaway M, Stallings VA, Stevenson RD. Bone density and metabolism in children and adolescents with moderate to severe cerebral palsy. Pediatrics. 2002;110(1 Pt 1):e5.

107. Henderson RC, Madsen CD. Bone density in children and adolescents with cystic fibrosis. J Pediatr. 1996;128:28-34.

108. Henderson RC, Madsen CD. Bone mineral content and body composition in children and young adults with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol. 1999;27:80-4.

109. Hogler W, Briody J, Woodhead HJ, Chan A, Cowell CT. Importance of lean mass in the interpretation of total body densitometry in children and adolescents. J Pediatr. 2003;143:81-8.

110. Holt TL, Cui C, Thomas BJ, Ward LC, Quirk PC, Crawford D, Shepherd RW. Clinical applicability of bioelectric impedance to measure body composition in health and disease. Nutrition. 1994;10:221-4.

111. Hudelmaier M, Kuhn V, Lochmuller EM, Well H, Priemel M, Link TM, Eckstein F. Can geometry-based parameters from pQCT and material parameters from quantitative ultrasound (QUS) improve the prediction of radial bone strength over that by bone mass (DXA)? Osteoporos Int. 2004;15:375-81.

112. Chen JL, Yao W, Frost HM, Li CY, Setterberg RB, Jee WS. Bipedal stance exercise enhances antiresorption effects of estrogen and counteracts its inhibitory effect on bone formation in sham and ovariectomized rats. Bone. 2001;29:126-33.

113. Chen RA, Goodman WG. Role of the calcium-sensing receptor in parathyroid gland physiology. Am J Physiol Renal Physiol. 2004;286:F1005-11.

114. Ionescu AA, Nixon LS, Evans WD, Stone MD, Lewis-Jenkins V, Chatham K, Shale DJ. Bone density, body composition, and inflammatory status in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2000; 162:789-794.

115. Ionescu AA, Evans WD, Pettit RJ, Nixon LS, Stone MD, Shale DJ. Hidden depletion of fat-free mass and bone mineral density in adults with cystic fibrosis. Chest. 2003;124:2220-8.

116. Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effects of vitamin K2 on osteoporosis. Curr Pharm Des. 2004;10:2557-76.

117. Johannesson M, Landgren BM, Csemiczky G, Hjelte L, Gottlieb C. Female patients with cystic fibrosis suffer from reproductive endocrinological disorders despite good clinical status. Hum Reprod. 1998;13:2092-7.

118. Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. Lancet. 2002;359:1929-36.

119. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. Science 1989; 245: 1073-1080.

120. Kerem E, Conway S, Elborn S, Heijerman H. Standards of care for patients with cystic fibrosis: a European consensus. J Cyst Fibros. 2005;4:7–26.

121. Khan AA, Brown JP, Kendler DL, Leslie WD, Lentle BC, Lewiecki EM, Miller PD, Nicholson RL, Olszynski WP, Watts NB. The 2002 Canadian bone densitometry recommendations: take-home messages. CMAJ. 2002;167:1141-5.

122. King SJ, Topliss DJ, Kotsimbos T, Nyulasi IB, Bailey M, Ebeling PR, Wilson JW. Reduced bone density in cystic fibrosis: DeltaF508 mutation is an independent risk factor. Eur Respir J. 2005;25:54-61.

123. Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. J Cell Biochem. 2003;89(4):771-7.

124. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D. et al. Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. Monatsschr Kinderheilkd 2001,149:807-818.

125. Krupa B. [Evaluation of bone mineral density and selected metabolic markers of bone in boys with constitutional delay of growth and puberty] Ann Acad Med Stetin. 2000;46:165-76. Anglický abstrakt článku v poštině.

126. Laitinen K, Välimäki M, Pekka K. Bone mineral density measured by dual-energy x-ray absorptiometry in healthy Finnish women. Calcif Tissue Int 1991; 48:224-231.

127.. Landon C, Rosenfeld RG. Short stature and pubertal delay in male adolescents with cystic fibrosis. Androgen treatment. Am J Dis Child. 1984;138:388-91.

128. Lands LC, Gordon C, Bar-Or O, Blimkie CJ, Hanning RM, Jones NL, Moss LA, Webber CE, Wilson WM, Heigenhauser GJ. Comparison of three techniques for body composition analysis in cystic fibrosis. J Appl Physiol. 1993;75:162-6.

129. Lang SM, Fischer R, Stratakis DF, Huber RM. Hohe Osteoporose-Prävalenz bei erwachsenen Patienten mit zystischer Fibrose [High prevalence of osteoporosis in adult cystic fibrosis patients] Dtsch Med Wochenschr. 2004;129:1551-5.

130. Lark RK, Lester GE, Ontjes DA, Blackwood AD, Hollis BW, Hensler MM, Aris RM. Diminished and erratic absorption of ergocalciferol in adult cystic fibrosis patients. Am J Clin Nutr 2001; 73:602-6

131. Laursen EM, Molgaard C, Michaelsen KF, Koch C, Muller J. Bone mineral status in 134 patients with cystic fibrosis. Arch Dis Child. 1999;81:235-240.

132. Lebl J. Vývoj druhu Homo sapiens, sekulární akcelerace a nové růstové grafy. Pediatrie po promoci. 2005;1:38-41.

133. Leifke E, Friemert M, Heilmann M, Puvogel N, Smaczny C, von zur Muhlen A, Brabant G. Sex steroids and body composition in men with cystic fibrosis. Eur J Endocrinol. 2003;148:551-7.

134. Leonard MB, Shults J, Elliott DM, Stallings VA, Zemel BS. Interpretation of whole body dual energy X-ray absorptiometry measures in children: comparison with peripheral quantitative computed tomography.Bone. 2004;34:1044-52.

135. Leonard MB, Shults J, Wilson BA, Tershakovec AM, Zemel BS. Obesity during childhood and adolescence augments bone mass and bone dimensions. Am J Clin Nutr. 2004;80:514-23.

136. Lesný P, Krásničanová H. Růst 2 - počítačový program pro hodnocení růstu dětí. In: Kompendium pediatrické auxologie, Novo Nordisk s. r. o., 1998.

137. Lewiecki EM, Watts NB, McClung MR, Petak SM, Bachrach LK, Shepherd JA, Downs RW Jr; International Society for Clinical Densitometry. Official positions of the international society for clinical densitometry. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:3651-5.

138. Lonzer MD, Imrie R, Rogers D, Worley D, Licata A, Secic M. Effects of heredity, age, weight, puberty, activity, and calcium intake on bone mineral density in children. Clin Pediatr (Phila). 1996;35:185-9.

139.. Loud KJ, Gordon CM. Bone and Nutrition in Health and Diesease. International Seminars in Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2002;11:2.

140. Madarasi A, Lugassi A, Greiner E, Holics K, Biro L, Mozsary E. Antioxidant status in patients with cystic fibrosis. Ann Nutr Metab. 2000;44:207-11.

141. Marin VB, Velandia S, Hunter B, Gattas V, Fielbaum O, Herrera O, Diaz E. Energy expenditure, nutrition status, and body composition in children with cystic fibrosis.Nutrition. 2004;20:181-6.

142. Marone MM, Lewin S, Bianco AC, Correa PH. [Diagnosis of osteoporosis using dual photon densitometry]. AMB Rev Assoc Med Bras. 1989;35:57-62.

143.. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. BMJ. 1996;312:1254-9.

144.. Massey LK, Whiting SJ. Dietary salt, urinary calcium and bone loss. Journal of Bone Mineral Research. 1996; 11, 731–736.

145. Mast M, Sonnichsen A, Langnase K, Labitzke K, Bruse U, Preub U, Muller MJ. Inconsistencies in bioelectrical impedance and anthropometric measurements of fat mass in a field study of prepubertal children. Br J Nutr. 2002;87:163-75.

146. Mautalen C, Tau C, Casco C, Fromm G. [Mineral bone content in a normal population of Buenos Aires]. Medicina (B Aires). 1984;44(4):356-60.

147. Mazess RB et al. Spine and femur density using dual-photon absorptiometry in normal U.S. white women. Bone and Mineral 1987;2:211-219.

148. McKay HA, Bailey DA, Mirwald RL, Davison KS, Faulkner RA. Peak bone mineral accrual and age at menarche in adolescent girls: a 6-year longitudinal study. J Pediatr. 1998;133:682-7.

149. McKone EF, Tonelli MR, Aitken ML. Adrenal insufficiency and testicular failure secondary to megestrol acetate therapy in a patient with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol. 2002;34:381-3.

150. Mischler EH, Chesney PJ, Chesney RW, Mazess RB. Demineralization in cystic fibrosis detected by direct photon absorptiometry. Am J Dis Child. 1979;133:632-5.

151. Molgaard C, Thomsen BL, and Fleischer Michaelsen K. Whole body bone mineral accretion in healthy children and adolescents. Arch Dis Child. 1999;81;10-15

152. Molgaard C, Thomsen BL, Prentice A, Cole TJ, Michaelsen KF. Whole body bone mineral content in healthy children and adolescents. Arch Dis Child. 1997;76:9-15.

153. Mora S, Goodman WG, Loro ML, Roe TF, Sayre J, Gilsanz V. Age-related changes in cortical and cancellous vertebral bone density in girls: assessment with quantitative CT. AJR Am J Roentgenol. 1994;162:405-9.

154. Moreira-Andres MN, Canizo FJ, Papapietro K, Rejas J, Hawkins FG. Comparison between spinal and radial bone mineral density in children measured by X-ray absorptiometry. J Pediatr Endocrinol Metab. 1995;8:35-41.

155. Mortensen LA, Chan GM, Alder SC, Marshall BC. Bone mineral status in prepubertal children with cystic fibrosis. J Pediatr 2000; 136:648-52

156. Mortimer KJ, Harrison TW, Tattersfield AE. Effects of inhaled corticosteroids on bone. Ann Allergy Asthma Immunol. 2005;94:15-21; quiz 22-3, 79.

157. Moshang T, Holsclaw DS Jr. Menarchal determinants in cystic fibrosis. Am J Dis Child. 1980;134:1139-42.

158. Murphy AJ, Buntain HM, Wong JC, Greer RM, Wainwright CE, Davies PS. The use of air displacement plethysmography in children and adolescents with cystic fibrosis.Eur J Clin Nutr. 2004;58:985-9.

159. Nelson DA, Simpson PM, Johnson CC, Barondess DA, Kleerekoper M. The accumulation of whole body skeletal mass in third- and fourth-grade children: effects of age, gender, ethnicity, and body composition. Bone. 1997;20:73-8.

160. Neu CM, Manz F, Rauch F, Merkel A, Schoenau E. Bone densities and bone size at the distal radius in healthy children and adolescents: a study using peripheral quantitative computed tomography. Bone. 2001;28:227-32.

161. Neu CM, Rauch F, Manz F, Schoenau E. Modeling of cross-sectional bone size, mass and geometry at the proximal radius: a study of normal bone development using peripheral quantitative computed tomography. Osteoporos Int. 2001;12:538-47.

162. Neu CM, Rauch F, Rittweger J, Manz F, Schoenau E. Influence of puberty on muscle development at the forearm. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;283:E103-7.

163. Nicolaidou P, Stavrinadis I, Loukou I, Papadopoulou A, Georgouli H, Douros K, Priftis KN, Gourgiotis D, Matsinos YG, Doudounakis S. The effect of vitamin K supplementation on biochemical markers of bone formation in children and adolescents with cystic fibrosis. Eur J Pediatr. 2006 Apr 19.

164. Ninkovic M, Love SA, Tom B, Alexander GJ, Compston JE. High prevalence of osteoporosis in patients with chronic liver disease prior to liver transplantation. Calcif Tissue Int. 2001;69:321-6.

165. Ogle GD, Allen JR, Humphries IR, Lu PW, Briody JN, Morley K, Howman-Giles R, Cowell CT. Body-composition assessment by dual-energy x-ray absorptiometry in subjects aged 4-26 y.Am J Clin Nutr. 1995;61:746-53.

166. O'Rawe A, McIntosh I, Dodge JA, Brock DJ, Redmond AO, Ward R, Macpherson AJ. Increased energy expenditure in cystic fibrosis is associated with specific mutations. Clin Sci (Lond). 1992;82:71-6.

167. Palumbo C, Ferretti M, Marotti G. Osteocyte dendrogenesis in static and dynamic bone formation: an ultrastructural study. Anat Rec. 2004;278A(1):474-80.

168. Parker L, Reilly JJ, Slater C, Wells JC, Pitsiladis Y. Validity of six field and laboratory methods for measurement of body composition in boys. Obes Res. 2003;11:852-8.

169. Paunier L. Effect of magnesium on phosphorus and calcium metabolism. Monatsschr Kinderheilkd. 1992;140(9 Suppl 1):S17-20.

170. Pedreira CC, Robert RG, Dalton V, Oliver MR, Carlin JB, Robinson P, Cameron FJ. Association of body composition and lung function in children with cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol. 2005;39:276-80.

171. Pennisi P, Trombetti A, Rizzoli R. Glucocorticoid-induced osteoporosis and its treatment.Clin Orthop Relat Res. 2006;443:39-47.

172. Pietrobelli A, Peroni DG, Faith MS. Pediatric body composition in clinical studies: which methods in which situations? Acta Diabetol. 2003;40 Suppl 1:S270-3.

173. Pichard C, Kyle UG, Slosman DO. Fat-free mass in chronic illness: comparison of bioelectrical impedance and dual-energy x-ray absorptiometry in 480 chronically ill and healthy subjects. Nutrition. 1999;15:668-76.

174. Pocock NA et al. Dual-photon bone densitometry in normal Australian women: a cross-sectional study. Medical Journal of Australia 1987;146:293-297.

175. Quinton PM. Chlorid impermeability in cystic fibrosis. Nature 1983; 301: 421-422.

176. Quirk PC, Ward LC, Thomas BJ, Holt TL, Shepherd RW, Cornish BH. Evaluation of bioelectrical impedance for prospective nutritional assessment in cystic fibrosis. Nutrition. 1997;13:412-6.

177. Rashid M, Durie P, Andrew M, Kalnins D, Shin J, Corey M, Tullis E, Pencharz PB. Prevalence of vitamin K deficiency in cystic fibrosis. Am J Clin Nutr. 1999;70:378-82.

178. Rauch F, Bailey DA, Baxter-Jones A, Mirwald R, Faulkner R.The 'muscle-bone unit' during the pubertal growth spurt. Bone. 2004;34:771-5.

179. Rauch F, Schoenau E. The Developing Bone: Slave or Master of its Cells and Molecules? Pediatric Research 2001;3:309-314.

180. Recker RR, Davies KM, Hinders SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB. Bone gain in young adult women. JAMA. 1992;268:2403-8.

181. Reilly JJ. Assessment of body composition in infants and children. Nutrition. 1998;14:821-5.

182. Reinken L, van Oost G. Longitudinale Körperentwicklung gesunder Kinder von 0 bis 18 Jahren. Klin Pädiatr 1992; 204:129-133.

183. Reiter EO, Brugman SM, Pike JW, Pitt M, Dokoh S, Haussler MR, Gerstle RS, Taussig LM. Vitamin D metabolites in adolescents and young adults with cystic fibrosis: effects of sun and season. J Pediatr. 1985;106:21-6.

184. Ringuier B, Leboucher B, Leblanc M, Troussier F, Duveau E, Audran M, Ginies JL. [Effect of oral biphosphonates in patients with cystic fibrosis and low bone mineral density] Arch Pediatr. 2004 Dec;11(12):1445-9. Anglický abstrakt článku ve francouzštině.

185. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. Science 1989; 245: 1066-1073.

186. Rodriguez G, Moreno LA, Blay MG, Blay VA, Garagorri JM, Sarria A, Bueno M. Body composition in adolescents: measurements and metabolic aspects. Int J Obes Relat Metab Disord. 2004;28 Suppl 3:S54-8.

187. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. J Pediatr. 1998;132:589-95.

188. Rossini M, Del Marco A, Dal Santo F, Gatti D, Braggion C, James G, Adami S. Prevalence and correlates of vertebral fractures in adults with cystic fibrosis. Bone. 2004;35:771-6.

189. Roth J, Palm C, Scheunemann I, Ranke MB, Schweizer R, Dannecker GE. Musculoskeletal abnormalities of the forearm in patients with juvenile idiopathic arthritis relate mainly to bone geometry. Arthritis Rheum. 2004;50:1277-85.

190. Rovner AJ, Zemel BS, Leonard MB, Schall JI, Stallings VA. Mild to moderate cystic fibrosis is not associated with increased fracture risk in children and adolescents. J Pediatr. 2005;147:327-31.

191. Rubinacci A, Covini M, Bisogni C, Villa I, Galli M, Palumbo C, Ferretti M, Muglia MA, Marotti G. Bone as an ion exchange system: evidence for a link between mechanotransduction and metabolic needs. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2002;282:E851-64.

192. Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. Calcif Tissue Int. 2003;72:32-41.

193. Rude RK, Gruber HE. Magnesium deficiency and osteoporosis: animal and human observations. J Nutr Biochem. 2004 Dec;15(12):710-6.

194. Rude RK. Magnesium deficiency: a cause of heterogeneous disease in humans. J Bone Miner Res. 1998;13:749-58.

195. Sakamoto W, Isomura H, Fujie K, Iizuka T, Nishihira J, Tatebe G, Takahashi K, Osaki Y, Komai M, Tamai H. The effect of vitamin K2 on bone metabolism in aged female rats. 2005;16:1604-10.

196. Salamoni F, Roulet M, Gudinchet F, Pilet M, Thiebaud D, Burckhardt P. Bone mineral content in cystic fibrosis patients: correlation with fat-free mass. Arch Dis Child 1996; 74:314-318.

197. Sasaki N, Kusano E, Takahashi H, Ando Y, Yano K, Tsuda E, Asano Y. Vitamin K2 inhibits glucocorticoid-induced bone loss partly by preventing the reduction of osteoprotegerin (OPG). J Bone Miner Metab. 2005;23:41-7.

198. Semeao EJ, Jawad AF, Stouffer NO, Zemel BS, Piccoli DA, Stallings VA. Risk factors for low bone mineral density in children and young adults with Crohn's disease. J Pediatr. 1999;135:593-600.

199. Shane E, Papadopoulos A, Staron RB, Addesso V, Donovan D, McGregor C, Schulman LL. Bone loss and fracture after lung transplantation. Transplantation. 1999;68:220-7.

200. Shane E, Silverberg SJ, Donovan D, Papadopoulos A, Staron RB, Addesso V, Jorgesen B, McGregor C, Schulman L. Osteoporosis in lung transplantation candidates with end-stage pulmonary disease. Am J Med. 1996;101:262-9.

201. Shead EF, Haworth CS, Gunn E, Bilton D, Scott MA, Compston JE. Osteoclastogenesis during Infective Exacerbations in Patients with Cystic Fibrosis. Am J Respir Crit Care Med. 2006 May 4.

202. Shepherd R. Achieving genetic potential for nutrition and growth in cystic fibrosis. J Pediatr. 2002;140:393-5.

203. Shore RM, Langman CB, Donovan JM, Conway JJ, Poznanski AK. Bone mineral disorders in children: evaluation with dual x-ray absorptiometry. Radiology. 1995;196:535-40.

204. Shore RM, Langman CB, Poznanski AK. Lumbar and radial bone mineral density in children and adolescents with X-linked hypophosphatemia: evaluation with dual X-ray absorptiometry. Skeletal Radiol. 2000;29:90-3.

205. Schiavi SC, Kumar R. The phosphatonin pathway: new insights in phosphate homeostasis. Kidney Int. 2004;65:1-14.

206. Schibler A, von der Heiden R, Birrer P, Mullis PE. Prospective randomised treatment with recombinant human growth hormone in cystic fibrosis. Arch Dis Child. 2003;88:1078-81.

207. Schmelzle H, Schroder C, Armbrust S, Unverzagt S, Fusch C. Resting energy expenditure in obese children aged 4 to 15 years: measured versus predicted data.Acta Paediatr. 2004;93:739-46.

208. Schneider P, Reiners C. Peripheral Quantitative Computed Tomography. In. HK Genant, G Guglielmi, M Jergas Bone Densitometry and Osteoporosis Springer 1998.

209. Schneider P, Reiners C, Cointry GR, Capozza RF, Ferretti JL. Bone quality parameters of the distal radius as assessed by pQCT in normal and fractured women. Osteoporos Int. 2001;12:639-46.

210. Schneider S, Breit SM, Grampp S, Kunzel WW, Liesegang A, Mayrhofer E, Zentek J. Comparative assessment of bone mineral measurements obtained by use of dual-energy x-ray absorptiometry, peripheral quantitative computed tomography, and chemical-physical analyses in femurs of juvenile and adult dogs. Am J Vet Res. 2004;65:891-900.

211. Schoenau E, Neu CM, Beck B, Manz F, Rauch F. Bone mineral content per muscle cross-sectional area as an index of the functional muscle-bone unit. J Bone Miner Res. 2002;17:1095-101.

212. Schoenau E, Neu CM, Mokov E, Wassmer G, Manz F. Influence of puberty on muscle area and cortical bone area of the forearm in boys and girls. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85:1095-8.

213.. Schoenau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. Gender-specific pubertal changes in volumetric cortical bone mineral density at the proximal radius. Bone. 2002;31:110-3.

214. Schoenau E, Neu CM, Rauch F, Manz F. The development of bone strength at the proximal radius during childhood and adolescence. J Clin Endocrinol Metab. 2001;86:613-8.

215. Schönau E. Problems of bone analysis in childhood and adolescence. Pediatr Nephrol 1998;12:420-429.

216. Schulze KJ, Cutchins C, Rosenstein BJ, Germain-Lee EL, O'Brien KO. Calcium acquisition rates do not support age-appropriate gains in total body bone mineral content in prepuberty and late puberty in girls with cystic fibrosis. Osteoporos Int. 2006;17:731-40.

217. Schulze KJ, O'Brien KO, Germain-Lee EL, Baer DJ, Leonard A, Rosenstein BJ. Efficiency of calcium absorption is not compromised in clinically stable prepubertal and pubertal girls with cystic fibrosis. Am J Clin Nutr. 2003;78:110-6.

218. Schulze KJ, O'Brien KO, Germain-Lee EL, Baer DJ, Leonard AL, Rosenstein BJ. Endogenous fecal losses of calcium compromise calcium balance in pancreatic-insufficient girls with cystic fibrosis. J Pediatr. 2003;143:765-71.

219. Schulze KJ, O'Brien KO, Germain-Lee EL, Booth SL, Leonard A, Rosenstein BJ. Calcium kinetics are altered in clinically stable girls with cystic fibrosis. J Clin Endocrinol Metab. 2004;89:3385-91.

220. Schweizer R, Martin DD, Schwarze CP, Binder G, Georgiadou A, Ihle J, Ranke MB. Cortical bone density is normal in prepubertal children with growth hormone (GH) deficiency, but initially decreases during GH replacement due to early bone remodeling. J Clin Endocrinol Metab. 2003;88:5266-72.

221. Siervogel RM, Demerath EW, Schubert C, Remsberg KE, Chumlea WC, Sun S, Czerwinski SA, Towne B. Puberty and body composition. Horm Res. 2003;60(Suppl 1):36-45.

222. Sinaasappel M, Stern M, Littlewood J, Wolfe S, Steinkamp G, Heijerman HG, Robberecht E, Doring G. Nutrition in patients with cystic fibrosis: A European consensus. J Cystic Fibrosis 2002;1:51-75.

223. Singh RF, Muskelly CC. Inhaled corticosteroid-induced bone loss and preventive strategies. J Am Osteopath Assoc. 2000;100(7 Suppl):S14-7.

224. Siu WS, Qin L, Leung KS. pQCT bone strength index may serve as a better predictor than bone mineral density for long bone breaking strength. J Bone Miner Metab. 2003;21:316-22.

225. Slosman DO, Casez JP, Pichard C, Rochat T, Fery F, Rizzoli R, Bonjour JP, Morabia A, Donath A. Assessment of whole-body composition with dual-energy X-ray absorptiometry. Radiology 1992;185:593-598.

226. Solomons NW, Wagonfeld JB, Rieger C, Jacob RA, Bolt M, Horst JV, Rothberg R, Sandstead H. Some biochemical indices of nutrition in treated cystic fibrosis patients. Am J Clin Nutr. 1981;34:462-74.

227. Sood M, Hambleton G, Super M, Fraser WD, Adams JE, Mughal MZ. Bone status in cystic fibrosis. Arch Dis Child. 2001;84:516-20.

228. Southard RN, Morris JD, Mahan JD, Hayes JR, Torch MA, Sommer A, Zipf WB. Bone mass in healthy children: measurement with quantitative DXA. Radiology. 1991;179:735-8.

229. Spicher V, Roulet M, Schaffner C, Schutz Y. Bio-electrical impedance analysis for estimation of fat-free mass and muscle mass in cystic fibrosis patients. Eur J Pediatr. 1993;152:222-5.

230. Srivastava T, Alon US. The role of bisphosphonates in diseases of childhood. Eur J Pediatr. 2003;162:735-51.

231. Stead RJ, Hodson ME, Batten JC, Adams J, Jacobs HS. Amenorrhoea in cystic fibrosis. Clin Endocrinol (Oxf). 1987;26:187-95.

232. Stead RJ, Houlder S, Agnew J, Thomas M, Hodson ME, Batten JC, Dandona P. Vitamin D and parathyroid hormone and bone mineralisation in adults with cystic fibrosis. Thorax. 1988;43:190-4.

233. Stern M, Sens B, Wiedemann B, Busse O. Qualitätssicherung Mukoviszidose - Überblick über den Gesundheitszustand der Patienten in Deutschland 2001. Zwickau: Verlag Wissenschaftliche Scripten, 2002.

234. Šašinka M, Šagát T et al. Pediatria I, II. Satus, Košice 1998.

235. Štěpán J. Osteoporóza v praxi. Triton, Praha 1997.

236. Štěpán J. Kvalita kosti: které účinky léčby můžeme monitorovat a co to předpokládá? Osteologický bulletin 2003;8:75-81.

237. Thiagarajah JR, Verkman AS. CFTR pharmacology and its role in intestinal fluid secretion. Curr Opin Pharmacol. 2003;3:594-9.

238. Tomezsko JL, Stallings VA, Kawchak DA, Goin JE, Diamond G, Scanlin TF. Energy expenditure and genotype of children with cystic fibrosis. Pediatr Res. 1994;35(4 Pt 1):451-60.

239.Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. Evidence that vitamin D3 increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D2. Am J Clin Nutr. 1998;68:854-8.

240. Tyrrell VJ, Richards G, Hofman P, Gillies GF, Robinson E, Cutfield WS. Foot-to-foot bioelectrical impedance analysis: a valuable tool for the measurement of body composition in children. Int J Obes Relat Metab Disord. 2001;25:273-8.

241. Ujhelyi R, Treszl A, Vasarhelyi B, Holics K, Toth M, Arato A, Tulassay T, Tulassay Z, Szathmari M. Bone mineral density and bone acquisition in children and young adults with cystic fibrosis: a follow-up study. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2004;38:401-6.

242. Uusi-Rasi K, Haapasalo H, Kannus P, Pasanen M, Sievanen H, Oja P, Vuori I. Determinants of bone mineralization in 8 to 20 year old Finnish females. Eur J Clin Nutr. 1997;51:54-9.

243. van der Sluis IM, de Ridder MA, Boot AM, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults.Arch Dis Child. 2002;87:341-7.

244. van Langendonck L, Claessens AL, Lysens R, Koninckx PR, Beunen G. Association between bone, body composition and strength in premenarcheal girls and postmenopausal women. Ann Hum Biol. 2004;31:228-44.

245. Vaníček H, Brátová M, Pozler O, Kohout P. Intestinal Permeability in Cystic Fibrosis Patients. Book of Abstracts, 22.European CF Conference, Berlin 1998; PS2-20: 85.

246. Vávrová V et al. Cystická fibróza v praxi. Kreace, Praha, 1999.

247. Vávrová V et al. Cystická fibróza. Praha: GRADA Publishing, 2006.

248. Vedi S, Elkin SL, Compston JE. A histomorphometric study of cortical bone of the iliac crest in patients treated with glucocorticoids.Calcif Tissue Int. 2005;77:79-83.

249. Wachter NJ, Augat P, Krischak GD, Mentzel M, Kinzl L, Claes L. Prediction of Cortical Bone Porosity In Vitro by Microcomputed Tomography. Calcif. Tissue Int. 2000;68:38-42.

250. Wang MC, Crawford PB, Hudes M, Van Loan M, Siemering K, Bachrach LK. Diet in midpuberty and sedentary activity in prepuberty predict peak bone mass. Am J Clin Nutr. 2003;77:495-503.

251. Weber. Vitamin K and bone health. Nutrition 2001, 17, 880–887.

252. Whiting SJ, Vatanparast H, Baxter-Jones A, Faulkner RA, Mirwald R, Bailey DA. Factors that affect bone mineral accrual in the adolescent growth spurt. J Nutr. 2004;134:696S-700S.

253. Wilmshurst S, Ward K, Adams JE, Langton CM, Mughal MZ.Mobility status and bone density in cerebral palsy. Arch Dis Child. 1996;75:164-5.

254. Wong WW, Hergenroeder AC, Stuff JE, Butte NF, Smith EO, Ellis KJ. Evaluating body fat in girls and female adolescents: advantages and disadvantages of dual-energy X-ray absorptiometry. Am J Clin Nutr. 2002;76:384-9.

255. Wood LG, Fitzgerald DA, Gibson PG, Cooper DM, Collins CE, Garg ML. Oxidative stress in cystic fibrosis: dietary and metabolic factors. J Am Coll Nutr. 2001;20(2 Suppl):157-65.

256. Yeste D, Linan S, Cobos N, Gussinye M, del Rio L, Carrascosa A. [Bone mass in patients with cystic fibrosis of the pancreas. Relationship with anthropometric parameters and genotype] Med Clin (Barc). 1998 Oct 24;111(13):485-8.

257. Young D, Hopper JL, Nowson CA, Green RM, Sherwin AJ, Kaymakci B, Smid M, Guest CS, Larkins RG, Wark JD. Determinants of bone mass in 10- to 26-year-old females: a twin study. J Bone Miner Res. 1995;10:558-67.

258. Zanchetta JR, Plotkin H, Alvarez Filgueira ML. Bone mass in children: normative values for the 2-20-year-old population. Bone. 1995;16:393S-399S.

259. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. Respiration 2000; 67: 117-1.

Internetové stránky

I-1. http://www.teaching.anhb.uwa.edu.au/mb140/CorePages/Bone/Bone.htm
I-2. http://www.iscd.org/Visitors/pdfs/ISCD_OP2005.pdf
I-3. http://www.rheumatology.org/public/factsheets/osteopor_new.asp?aud=pat
I-4. http://www-medlib.med.utah.edu/WebPath/TUTORIAL/OSTEO/OSTEOPOR.html
I-5. http://myweb.lsbu.ac.uk/~dirt/museum/p4-571.html
I-6. http://courses.washington.edu/bonephys/hypercalU/opmal2.html
I-7. www.bcm.tmc.edu/cnrc/bodycomplab
I-8. http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/
I-9. https://www.stu.qmul.ac.uk/SMD/kb/grossanatomy/basic_anat/typical_lumbar_vertebra.htm