

POSTGRADUÁLNÍ NEFROLOGIE

VÝBĚR ZE SVĚTOVÉ LITERATURY S KLINICKÝMI KOMENTÁŘI

Ročník VI Číslo 5

Listopad 2008

Řídí redakční rada:

Předseda:

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.
Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Členové:

Prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc.
Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.
Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN, Praha

Prof. MUDr. Vladimír Teplán, DrSc.
Klinika nefrologie TC IKEM, Praha

Doc. MUDr. Ondřej Vlkický, CSc.
Klinika nefrologie TC IKEM, Praha

MUDr. Štefan Vítko, CSc.
Transplantcentrum IKEM, Praha

Informační bulletin
Postgraduální nefrologie

Vydává 6x ročně

 **MEDICAL TRIBUNE CZ**

Redakce:

Mgr. D. Lipovská, Bc. J. Štěrbová

Vydání umožňuje vzdělávací grant
společnosti Roche, s. r. o.

Zástupce:

MUDr. Helena Pikartová

Názory publikované v tomto periodiku
se nemusí nutně shodovat s názory
nakladatele nebo sponsora.

Copyright © 2008

MEDICAL TRIBUNE CZ, s. r. o.

Žádná část tohoto časopisu nesmí být
kopírována ani rozmnožována za účelem
dalšího rozšiřování v jakékoli formě či
jakýmkoli způsobem bez písemného
souhlasu vlastníka autorských práv.

Registrováno pod č. MK ČR E 14238

ISSN: 1214-178X

OBSAH

- *Perspektivy: Interpretace změn v Banffské klasifikaci hodnocení morfologických nálezů v transplantované ledvině* 66
- *Detekce anti-HLA protilátek pomocí metody Luminex®* 68
- *Zvýšené koncentrace kyseliny močové v séru zvyšují riziko chronického onemocnění ledvin* 70
- *Nízké koncentrace vitamínu D jsou spojeny s nepříznivou prognózou pacientů s chronickým onemocněním ledvin*..... 71
- *Jaký prostor věnují média prevenci a časné detekci chronického onemocnění ledvin* 72
- *Močový cystatin C jako časný biomarker akutního poškození ledvin při kardiovaskulární chirurgii* 73
- *Nové poznatky o tukové tkáni u chronických chorob ledvin* 75
- *FSP1 jako možný prediktor odpovědi na kortikosteroidy u nemocných s IgA nefropatií*..... 77
- *Využití metody QuantiFERON v diagnostice tuberkulózy u dialyzovaných nemocných* 79
- *Testové otázky* 80



www.nefrol.cz

Vydávají:

Česká nefrologická společnost a Česká transplantační společnost
Vychází díky vzdělávacímu grantu společnosti ROCHE s. r. o.



Česká
Transplantační
Společnost

www.transplant.cz

Perspektivy: Interpretace změn v Banffské klasifikaci hodnocení morfoloických nálezů v transplantované ledvině

MUDr. Eva Honsová, Ph.D.

Pracoviště klinické a transplantační patologie IKEM, Praha

K hodnocení rejekčních a nerejekčních změn v ledvinných štěpech se nejčastěji používá tzv. *Banffská klasifikace*. Jde o klasifikační systém, který definuje a standardizuje interpretaci morfoloických znaků v biopsiích ledvinných štěpů, který byl poprvé dohodnut na pracovním setkání v kanadském Banffu v roce 1991.¹⁻³ Od té doby se periodicky ve dvouletých intervalech tato pracovní jednání opakují. Krátký interval umožňuje rychlou reakci a event. změnu klasifikačních systémů i terapeutických přístupů podle toho, jak se zlepšují znalosti patofyziologie rejekce. Protože se na poškození ledvinného štěpu podílejí velmi různorodé příčiny, které jsou navíc často přítomné v kombinacích, zůstává biopsie štěpu nejdůležitější metodou přinášející zásadní diagnostickou informaci, která vede ke zlepšení péče o pacienty. Včasná indikace k biopsii mnohdy významně ovlivňuje budoucí funkci štěpu. Podle výsledků jedné prospektivní studie, se klinická diagnóza před biopsií liší ve 42 % případů od biopsiíky verifikovaného diagnostického závěru a biopsická diagnóza často vede k významné změně v péči o pacienta.⁴ Současně platná klasifikace (2007) je v uvedena tabulce 1.

První Banffské klasifikace navrhly kritéria pro definování celulární (zprostředkované lymfocyty T) rejekce, která prakticky nezměněna platí dosud. Klíčovým znakem je rozpoznání zánětlivé celulizace a její a semikvantitativní zhodnocení (intersticiální celulizace: i, tubulitida: t, endotelialitida: v). Od počátku bylo jasné, že tubulitida a zánětlivá celulizace v intersticiu není specifická pro celulární rejekci a je současně diagnostickým znakem infekčních i léky navozených intersticiálních nefritid, pokročilé akutní tubulární nekrózy nebo lymfoproliferativních onemocnění. Z obav před nadměrnou imunosupresivní terapií byly definovány prahové hodnoty pro skórování (nejméně 25 % zánětlivé celulizace v intersticiu a nejméně 4–5 lymfocytů v epitelu tubulů, při absenci endoteliality). V posledních letech s novými účinnými imunosupresivními protokoly ubýlo těžších forem celulárních rejekcí a vedle toho narůstá počet případů tzv. hraničních změn s ne úplně jasným klinickým významem, a to zvláště u pacientů s normální funkcí štěpu. To vede k úvahám, zda dokážeme tento typ celulizace správně interpretovat a zda někdy vedle zvažované subklinické rejekce nejde u některých pacientů spíše o „hodně“ tzv. regulační lymfocyty. Otázka zůstává zatím otevřená. Autoři některých studií tvrdí, že většina případů s morfologií hraničních změn představuje celulární rejekce. Na druhé straně jsou velké rozdíly ve výsledcích různých studií, které udávají rozptyl 30–80 % u případů hraničních změn, které bez léčby skutečně do rejekce progredovaly.

Zásadní změny v nahlížení na mechanismus rejekčního poškození štěpů vedly k významným modifikacím klasifikačního schématu v letech 2001–2005. V roce 2001 byla opuštěna kategorie hyperakutní rejekce a současně byla nově formulována kritéria *pro protilátkami zprostředkovanou rejekci* (humorální rejekci). Humorální mechanismy byly dlouho považovány za základ pouze hyperakutní rejekce, která byla příčinou velmi rychlé destrukce štěpu (během minut), a to v případech, kdy byly protilátky proti systému HLA dárce přítomny již před transplantací. Po zavedení citlivějších metod detekce protilátek do vyšetřovacích protokolů tento typ rejekce z klinické praxe téměř vymizel. Od 90. let 20. století

H. Feucht a spol. začali publikovat práce s důkazy o vztahu mezi přítomností depozit C4d frakce komplementu v peritubulárních kapilárách a horší funkcí štěpů.⁵ Současně P. Halloran uveřejnil výsledky studie se skupinou příjemců s „de novo“ protilátkami (proti antigenům dárce) a s horší funkcí štěpů. To byly dva zásadní milníky, které předznamenaly rozsáhlé aktivity v klinickém výzkumu, který během několika let umožnil definici kritérií humorální rejekce a její začlenění do Banffské klasifikace. Základními kritérii jsou: pozitivní průkaz depozit C4d v peritubulárních kapilárách, současná přítomnost protilátek proti antigenům dárce v séru a znaky morfoloického poškození tkáně. Nejprve byla definována kategorie „Akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami“ (viz tabulka 1).

Tab. 1 Diagnostické kategorie pro ledvinné štěpy (Banff 97 – 2007 update;¹)

1. Normální nález

2. Změny zprostředkované protilátkami (může být současně s 3, 4, 5 a 6)

2a) C4d depozita bez morfoloického průkazu aktivní rejekce

C4d+, přítomnost cirkulujících protilátek (DSA), bez známek akutní nebo chronické rejekce (g0, cg0, ptc0, bez laminace bazálních membrán ptc)

2b) Akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami

C4d+, přítomnost cirkulujících protilátek (DSA), morfoloický průkaz akutního poškození tkáně

I. ATN-like minimum zánětu

II. Zánětlivé elementy v kapilárách (ptc/g > 0) a/nebo trombózy

III. Arteriální v3

2c) Chronická aktivní rejekce zprostředkovaná protilátkami

C4d+, přítomnost cirkulujících protilátek (DSA), morfoloický průkaz chronického poškození tkáně, takového jako dvojité kontury GBM a/nebo vrstvení bazálních membrán PTC a/nebo intersticiální fibróza/tubulární atrofie a/nebo fibrózní ztlustění intimy arterií.

3. Hraniční změny

Podezření na akutní rejekci zprostředkovanou lymfocyty T (může být současně s 2, 5 a 6). Tato kategorie se užívá, když není přítomna intimální arteriitida, ale jsou ložiska tubulitidy (t1, t2, t3) s minimální celulizací v intersticiu (i0 nebo i1). Nebo obráceně, když je intersticiální zánět (i2, i3) s mírnou tubulitidou (t1).

4. Rejekce zprostředkovaná lymfocyty T (může být současně s 2, 5 a 6)

4a) Akutní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T (typ/grade)

IA. Případy se zánětem v intersticiu >25 % a středně těžké tubulitidy (t2)

IB. Případy se zánětem v intersticiu >25 % a těžké tubulitidy (t3)

IIA. S v1 (stenóza lumina <25 % nejméně v jedné arterii)

IIB. S v2 (stenóza lumina >25 %)

III. Případy s transmuralní arteriitidou, v3

4b) Chronická aktivní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T

Chronická alograft arteriopatie (arteriální intimální fibróza s mononukleární celulizací tamtéž a s formací neointimy).

5. Intersticiální fibróza a tubulární atrofie bez průkazu jiné specifické etiologie

(může obsahovat nespecifické vaskulární změny a glomerulární sklerózu, stupeň změn je určen podle postižení intersticia)

Grade

I. Mírná intersticiální fibróza a tubulární atrofie (<25 % kůry)

II. Střední intersticiální fibróza a tubulární atrofie (26–50 % kůry)

III. Těžká intersticiální fibróza a tubulární atrofie (>50 % kůry)

6. Jiné: Změny, které nejsou považovány za rejekční (mohou být současně s 2, 3, 4 a 5)

C4d je koncový štěpný produkt aktivace klasické cesty komplementu. Klasická cesta komplementu je aktivována protilátkami. Během aktivace C4 dochází ke štěpení do několika fragmentů, z nichž C4d se kovalentně váže na cílové struktury (tj. buněčné membrány). Kovalentní vazba je stabilní a relativně dlouhodobá, a proto se C4d stává velmi vhodným markerem pro detekci a současně představuje otisk proběhlé reakce spuštěné protilátkami přímo ve tkáni. Cílovou strukturou je endotel a depozita se hodnotí v endotelu peritubulárních kapilár (PTC). C4d má navíc i další výhodu, kterou je fakt, že je jen velmi zřídka detekován v peritubulárních kapilárách v průběhu jiných ledvinových onemocnění.

Depozita C4d mohou být prokazována imunofluorescencí (vyžaduje nefixovanou tkáň) nebo imunohistochemicky (lze z tkáně fixované formolem). Průkaz imunofluorescencí je citlivější a v současně platné klasifikaci je návrh rozdílného hodnocení podle použité metodiky (tab. 2).

Pozitivní detekci C4d časně po transplantaci obvykle doprovází zánětlivá celulizace v lumenech peritubulárních kapilár. Část případů časně po transplantaci tyto morfologické znaky nemá, stejně tak jako většina biopsií provedených déle než rok po transplantaci. Protože neexistují žádné jiné morfologické znaky, které by byly přítomny společně s depozity C4d, měl by být průkaz C4d proveden v každé biopsii štěpu. Klasifikovat by se měla i peritubulární kapilaritida (znak ptc, tj. přítomnost zánětlivých elementů v peritubulárních kapilárách).

Vedle termínu akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami zařadila poslední klasifikace do schématu kategorií: C4d depozita bez morfologického průkazu aktivní rejekce. Kritéria této kategorie jsou: přítomnost depozit C4d v peritubulárních kapilárách, cirkulující protilátky proti antigenům dárce a žádné histologické znaky aktivní rejekce (tj. g0, cg0, ptc0 a nepřítomnost štěpení bazálních membrán peritubulárních kapilár). Většinou jsou obdobné nálezy přítomny u příjemců s nestejno-skupinovým štěpem (v systému ABO), kteří mají v době biopsie dobrou a dlouhodobě stabilní funkci štěpu. Teoretickou otázkou zůstává, zda tito příjemci mají jen částečně aktivovanou komplementovou kaskádu, která je v některém dalším kroku přerušena, či zda jde u nich o tzv. doutnající rejekci. Protože v současnosti nemáme dost důkazů a znalostí, abychom na takto položenou otázku dokázali odpovědět, bylo doporučeno nepoužívat termín „akomodace“, který by předpovídal neškodný proces.

Modifikace Banffské klasifikace z roku 2005 se věnovala eliminaci termínu chronická alograft nefropatie (CAN). Pozměnila klasifikační schéma definováním chronických rejekčních (aloantigen dependentních) změn. Nově vznikla kategorie: chronická aktivní rejekce zprostředkovaná protilátkami a chronická aktivní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T.

Pojem chronická alograft nefropatie představoval velmi nesourodou skupinu, kde se mísily a byly bez bližší interpretace zařazeny imunitně podmíněné (rejekční) i zcela patogeneticky odlišné nerejekční příčiny, které vedly k fibróze intersticia. Byl to termín, který zahrnoval do jedné skupiny pozdní následky řady patologic-

kých procesů, a přestože i v minulých klasifikačních schématech zřetelně představoval diagnostický „odpadkový koš“, byl překvapivě velmi oblíben a často interpretován jako jednotka.

Zavedení detekce průkazu C4d do rutinní praxe přineslo lepší pochopení humorální rejekce jako procesu, a ne pouze jako jednorázové ataky, a umožnilo definovat znaky chronické aktivní rejekce zprostředkované protilátkami. Většina transplantačních center postupně získala zkušenosti s fakty, že humorální rejekce se může objevit kdykoli po transplantaci, že pozitivní průkaz depozit C4d má svoji dynamiku, že může přetrvávat a že čím déle od transplantace je detekován, tím obtížněji se na tuto skutečnost terapeuticky reaguje. Současně s tím byly přiřazeny morfologické znaky poškození endotelu v různých lokalitách ve tkáni k humorálnímu poškození. Tak se kritérii chronické aktivní humorální rejekce staly vedle pozitivního průkazu C4d a cirkulujících protilátek proti antigenům dárce také morfologické znaky děletrvajícího (chronického) poškození tkáně, v první řadě endotelu v glomerulech, v peritubulárních kapilárách a ve svalových arteriích. V glomerulech se děletrvající poškození endotelu projevuje tvorbou dvojkontur glomerulárních bazálních membrán, což je podkladem tzv. transplantační glomerulopatie, znak cg. V peritubulárních kapilárách je morfologickým znakem děletrvajícího poškození laminace bazálních membrán. Ve svalových arteriích dochází k ztlustění, proliferaci intimy, která je prostoupena různým množstvím zánětlivých elementů. Proliferace intimy svalových arterií vede ke stenóze cévního průsvitu a důsledkem takového stavu je chronická ischemizace ledvinové tkáně. Dlouhotrvající chronická ischemie poškozuje intersticiu (tubuly) i glomeruly a je-li významná, nastartuje začarovaný kruh změn podmíněný neimunitními mechanismy. Úbytek glomerulů podmíněný ischemickými kolapsy vede k prohloubení ischemizace intersticia a hypertrofii zbývajících glomerulů, které rychleji podléhají kolapsům a sklerotizaci (z přetížení). V klinice narůstá proteinurie a zhoršuje se funkce štěpu. Výše popsaná situace dobře ilustruje komplexnost chronických změn v ledvinové tkáni, kdy může být proces nastartován a dlouhodobě zapříčiněn imunitním mechanismem (jako zde chronickou aktivní rejekcí zprostředkovanou protilátkami), ale v určité fázi se začne kombinovat s neimunitními mechanismy, které nakonec mohou převážit a stát se rozhodujícím faktorem ovlivňujícím další funkci štěpu. Experimenty na primátech ukázaly vývojová stadia v procesu chronické aktivní rejekce zprostředkované protilátkami. Jako první jsou detekovány protilátky proti antigenům dárce v séru, poté následuje depozice komplementu C4d v peritubulárních kapilárách. Později se objeví histologicky zjevné poškození tkáně, a teprve potom dojde k dysfunkci štěpu. Obdobné zkušenosti s biopsiemi pozitivními na C4d má většina patologů z rutinní diagnostické praxe; první biopsie mají často pouze pozitivní průkaz depozit C4d a následující biopsie v odstupu několika měsíců i let začnou postupně vykazovat znaky poškození tkáně, zvl. transplantační glomerulopatii.

Obdobnou morfologii změn intimy arterií svalového kalibru lze pozorovat i v případech, které jsou negativní na C4d a podle současných kritérií je nelze klasifikovat jako chronickou aktivní rejekci zprostředkovanou protilátkami. Protože takovou morfologii nemají jiná cévní onemocnění, jde téměř s jistotou o rejekční imunitně podmíněný mechanismus a afekce je hodnocena jako chronická aktivní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T. Z morfologického hlediska není překvapivé, že stejný morfologický obraz vyvolávají různé příčiny, naopak v ledvinové patologii jsou takové situace běžné (např. příčiny membranoproliferativní glomerulonefritidy). Úvahy, zda jde skutečně o proces zprostředkovaný lymfocyty T,

Tab. 2 Hodnocení C4d v peritubulárních kapilárách a vliv použité metody

C4d	% biopsie (kúra a/nebo dřeň)	Význam a interpretace podle metody	
		Imunofluorescence	Imunohistochemie
C4d0 negativní	0	Negativní	Negativní
C4d1 minimální	>10	Negativní	Neznámé
C4d2 fokální	10–50	Neznámé	? Pozitivní
C4d3 difúzní	>50	Pozitivní	Pozitivní

vyvolávají data z experimentů. Již dlouho jsou známy experimenty na hlodavcích, které prokazují, že zvířata bez lymfocytů B (tj. bez možnosti tvorby protilátek a humorální rejekce) nejsou schopna vyvinout rozšíření intimy arterií, i když ničí štep klasickou rejekcí zprostředkovanou lymfocyty T. Navíc po podání protilátek začnou intimální proliferaci tvořit. To je svým způsobem alarmující zjištění, které volá po dalším experimentálním i klinicky orientovaném výzkumu, abychom dokázali jednoznačně rozhodnout, zda jde skutečně o dva různé mechanismy, nebo zda je vždy přítomna humorální rejekční složka, kterou nyní nedokážeme z různých důvodů detekovat. Možností, proč v současnosti nejsme schopni humorální rejekční složku vždy odhalit, je několik. Jednou z nich je fakt, že v diagnostice detekujeme pouze protilátky, které fixují komplement, a tím startují klasickou komplementovou kaskádu s depozicí C4d. Existují i protilátky, které poškozují endotel a komplement nefixují (biopsie budou C4d negativní). Další známou příčinou může být, že koncentrace protilátek v séru je pro dnešní detekce příliš nízká a protilátky jsou deponované v tkáni. Je známo, že až ze 70 % biopsií s diagnózou akutní rejekce lze získat protilátky proti antigenům dárce a že jen 30 % z nich má současně protilátky detekovatelné v séru. Navíc koncentrace protilátek i detekce C4d v tkáni mají svoji dynamiku a mohou v čase kolísat. Část pacientů s průkazem pozitivních C4d, která nemá v séru identifikovatelné protilátky, může mít protilátky proti jiným než HLA nebo AB0 antigenům dárce.

V současném klasifikačním systému nejvíce diagnostických problémů představuje kategorie *Intersticiální fibróza a tubulární atrofie bez průkazu jiné specifické etiologie (IF/TA)*. Definice této kategorie představuje snahu o vyloučení pokud možno všech příčin morfologických změn závislých na aloantigenech do jiných kategorií tak, aby zde zůstaly pouze „nespecifické“ (spíše morfologicky necharakteristické) změny. Interpretace fibrotických změn je stejně komplikovaná jako důvody vzniku fibrózy. IF/TA je jizva a představuje reziduum po předcházejících atakách jakékoli etiologie (epizoda léčené rejekce stejně jako infarkt), a pokud původní příčina nepokračuje, nelze podle našich současných znalostí identifikovat původ jizvy. IF/TA může být výsledkem jednorázového poškození (ataka pyelonefritidy), stejně tak jako přetrvávající afekce (např. stenózy lumen arterií nebo arteriol). Poškozené nefrony nemohou být nahrazeny a přesáhne-li poškození/úbytek nefronů kompenzatorní možnosti tkáně, dochází k akcelerovanému zániku. Ve většině případů (mimo infekce, obstrukci, lymfoproliferaci apod.) o funkci štepu v dlouhodobém horizontu rozhoduje stav arterií a arteriol. Na poškození arteriol se významnou měrou podílejí hlavně léková toxicita (toxicita kalcineurinových inhibitorů) a hypertenze. V morfologii je diagnóza cévní toxicity

diagnózou per exclusionem, protože nemá žádné jednoznačné specifické charakteristiky a např. od morfologie těžších hypertenzních změn je neodlišitelná. Na vývoji fibrózy ve štepu se běžně podílejí nejrůznější kombinace příčin, např. rejekce štepu u pacienta s hypertenzí a hyperplazií prostaty léčeného imunosupresí s kalcineurinovými inhibitory. Nutno podotknout, že stejně jako nejde IF/TA (jizvu) léčit, stejně tak většinou nelze diagnostikovat, co k jejímu vývoji vedlo.

Úloha patologa při posuzování morfologických změn v biopsiích ledvinných štěpů v delším časovém období od transplantace spočívá především v diagnostice chronických (tj. cévních) rejekčních změn (chronická aktivní rejekce zprostředkovaná protilátkami a chronická aktivní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T) a samozřejmě také v odlišení jiných příčin dysfunkce štepu, jako jsou infekce (polyoma virová nefropatie), hypertenzní změny nebo rekurence základních onemocnění.

Cílem je zabránit vzniku IF/TA a udržet co nejdéle fungující štep. Dnes v době poklesu epizod akutních rejekcí se zájem všech zainteresovaných v transplantační medicíně soustředí na zabránění chronických cévních změn. Ovlivnit se více či méně daří změny nerekční (hypertenze, diabetes mellitus, toxicita kalcineurinových inhibitorů), v případech chronických rejekčních změn (chronická aktivní rejekce zprostředkovaná lymfocyty T i chronické aktivní rejekce zprostředkované protilátkami) je situace komplikovanější a léčba chronické humorální rejekce není dosud definována.

V diagnostice se otevírají další možnosti s novými stále dostupnějšími technikami (analýzy genových expresí), které stojí na biologických základech a dokáží rozpoznat mnohem citlivěji než histologie např. „zlé a hodné“ lymfocyty. A také velmi pravděpodobně umožní zjistit změny, na které se bude terapeuticky reagovat mnohem dříve, než jsou rozpoznány v histologii. Začlenění těchto metod bude v budoucnosti velmi pravděpodobně významným způsobem doplňovat histologické vyšetření a možná ho i v některých typických případech dokáže nahradit.

Literatura

- Feucht H. Complement C4d in graft capillaries-the missing link in the recognition of humoral alloreactivity. *Am J Transplant* 2003;3:646–652.
- Pascual M, Vallhonrat H, Cosimi AB, et al. The clinical usefulness of the renal allograft biopsy in the cyclosporine era: a prospective study. *Transplantation* 1999; 67:737–741.
- Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection – an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplantation* 2003;3: 708–714.
- Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. Meeting report. *Am J Transpl* 2008;8: 753–760.
- Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '05 meeting report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy (CAN). *Am J Transpl* 2007;7:518–526.

Detekce anti-HLA protilátek pomocí metody Luminex®

Eng HS, Bennett G, Tsiopelas E, et al. Anti-HLA donor-specific antibodies detected in positive B-cell crossmatches by Luminex® predict late graft loss. *Am J Transplant* 2008;8:2335–2342.

Lymfocytotoxický cross-match (komplement-dependentní CDC) je běžně používanou metodou pro detekci dárcovských specifických anti-HLA protilátek po transplantacích. Přítomnost těchto protilátek před transplantací vede ke vzniku hyperakutní rejekce s následnou ztrátou štepu. V současnosti jsou již používá-

ny i citlivější metody než CDC cross-match. Luminex® je metoda využívající navázané HLA glykoproteiny na pevnou matrix a vazba protilátek je prokázána průtokovou cytometrií s dvojitým laserem. Luminex® má větší specifitu než CDC cross-match a není ovlivněn přítomností non-HLA protilátek, autoreaktivních protilátek nebo lymfocytotoxických protilátek (například ATG).

Pozitivní T lymfocytární CDC cross-match (TXM) prokazuje protilátky proti antigenům HLA I. třídy a představuje kontraindikaci provedení transplantace. Na druhou stranu pozitivní B lymfocytární cross-match (BXM) je odrazem přítomnosti protilátek proti antigenům HLA II. třídy nebo nízkých koncentrací protilátek proti antigenům HLA I. třídy. Negativní CDC cross-match snižuje

je významně riziko hyperakutní rejekce, ale i pokud je negativní, může se vyvinout časná akutní rejekce zprostředkovaná protilátkami, takže je možné, že CDC cross-match není schopen zachytit přítomnost nízkých koncentrací anti-HLA protilátek. Klinický význam T⁺ B⁺ CDC cross-match tak zatím není jasná. Cílem této komentované práce bylo pomocí metody Luminex® vyšetřit původ anti-HLA protilátek a osudy štěpů v případě, kdy nemocní podstoupili transplantaci ledviny při negativním TXM, ale pozitivním BXM.

Autoři analyzovali soubor 471 nemocných po transplantaci ledviny z let 1987–2005 v malém transplantacním centru v jihoaustralském Adelaide. Studovaný soubor tvořili nemocní, kteří měli T⁺ B⁺ CDC cross-match, kontrolní soubor pak pacienti s T⁺ B⁺ CDC cross-match.

Z uvedených 471 nemocných bylo 85 transplantováno přes T⁺ B⁺ CDC cross-match, jak bylo zjištěno vyšetřením aktuálních sér nemocných. Z těchto nemocných mělo 59 % (n = 50) vyšší frekvenci protilátek proti panelu (PRA > 10 %). Podobně skupina T⁺ B⁺ měla vyšší frekvence protilátek proti panelu oproti kontrolní skupině a rovněž v ní bylo zastoupeno více původních domorodých obyvatel Austrálie.

V této práci nebyli vyšetřováni nemocní s humorální rejekcí, protože tyto metody byly k dispozici v centru v Adelaide až v roce 2005. Výskyt akutních rejekcí v souboru byl 36 % v kontrolní skupině a 42 % ve sledované skupině. Autoři pozorovali vyšší výskyt vaskulárních rejekcí ve skupině T⁺ B⁺ CDC cross-match. Pomocí metody Luminex® bylo zjištěno, že nemocní ve skupině T⁺ B⁺ cross-match měli protilátky bez přítomnosti IgG anti-HLA (n = 30), s protilátkami IgG bez dárcovské specifity (n = 21) a konečně s dárcovsky specifickými anti-HLA protilátkami (n = 27). První dvě skupiny měly stejný výskyt rejekcí jako v kontrolní skupině, nemocní s dárcovsky specifickými protilátkami měli rejekce častější (41 % vs. 36 %). Dárcovsky specifické protilátky byly také rizikem pro vznik vaskulární rejekce. Autoři nepozorovali žádné rozdíly ve funkci transplantované ledviny ve skupině sledované a kontrolní. Celkové přežití štěpů bylo 88 % v prvním roce, 80 % ve třetím roce a 70 % v pátém roce po transplantaci ledviny. Přežití štěpů ve skupině kontrolní a sledované (T⁺ B⁺) bylo podobné. Rozdíly ale byly pozorovány mezi skupinami podle specifity protilátek uvnitř sledovaného souboru. Nemocní s dárcovsky specifickými protilátkami měli významně vyšší výskyt ztrát štěpů oproti kontrolní skupině (44 % vs. 27 %), jednorocní přežití štěpů bylo pouze 80 % a 58 % v pátém roce. Relativní riziko ztráty štěpu do pěti let bylo v této skupině 1,8 oproti kontrolní skupině. Dále autoři zjistili, že pozitivní prediktivní hodnota B⁺ cross-match na ztrátu štěpu byla 34 % a negativní prediktivní hodnota byla 69 %.

Tato studie prokázala, že protilátky odpovědné za B⁺ cross-match jsou heterogenní. Pouze jedna třetina z B⁺ cross-match byla způsobena dárcovsky specifickými protilátkami a tato podskupina byla spojena s horšími výsledky. Daleko lepší interpretaci významu B⁺ cross-match poskytuje vyšetření specifity protilátek pomocí metody Luminex®.

■ KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Ondřej Viklický, CSc.

Protilátková teorie rejekcí se v posledních třech letech stala ústředním tématem vědeckých diskusí transplantologů. I když Patel a Terasaki předpovídali ústřední roli dárcovsky specifických protilátek na osud štěpu již před více než 40 lety (Patel et al., 1969), byla jimi vysvětlována tzv. hyperakutní rejekce. Buněčná teorie se následně stala ústředním dogmatem transplantacní imunologie,

a také imunosupresivní terapie bylo vždy cílena pouze na lymfocyty T a jejich produkty. Teprve poznání, že se dlouhodobé výsledky transplantací bez ohledu na výborné jednorocní výsledky významně nezměnily, vedlo k intenzivnímu výzkumu chronických změn v transplantované ledvině. Opuštění nespecifického pojmu chronická nefropatie štěpu a zavedení humorálních rejekcí (zprostředkovaných protilátkami) do Banffské klasifikace bylo vlastně připuštěním faktu, že kromě rejekcí zprostředkovaných lymfocyty T existují také rejekce zprostředkované protilátkami, a to jak akutní, tak chronické. Blíže se o změnách provedených v Banffské klasifikaci dočte čtenář v Perspektivách v úvodu tohoto čísla. Tak jak pokračuje výzkum patogeneze a klinického významu humorálních rejekcí, věnuje se pozornost nejenom detekci humorální rejekce, ale rovněž detekci jednotlivých protilátek odpovědných za humorální rejekci. Banffská klasifikace definuje chronickou rejekci zprostředkovanou protilátkami jako přítomnost morfologických kritérií a zachycení dárcovsky specifických protilátek spolu se známkami dysfunkce štěpu. V současnosti se ukazuje, že protilátek, které mohou hrát roli v poškození štěpu, je celá řada, od protilátek proti endotelu po nespecifické anti-HLA protilátky až po dárcovsky specifické anti-HLA protilátky.

Komentovaná práce ukázala, že jedině výskyt posledních z nich, a to i v malém množství, které nelze zachytit klasickým cross-match před transplantací (T⁺ cross-match a následně vyšetřením B⁺ cross-match), hraje svoji významnou roli pro přežití štěpů a výskyt závažných vaskulárních rejekcí. Tato práce nevyšetřovala přítomnost protilátek po transplantaci a rovněž v ní autoři vůbec nevyšetřili biotický materiál na přítomnost C4d, který odráží humorální rejekci. To je největší nedostatek této studie a bylo by jistě žádoucí ověřit, zda vaskulární rejekce byly ve skutečnosti také C4d pozitivní. Stejně tak by bylo zajímavé vědět, jaký byl výskyt chronických změn v protokolárních biopsiích. Bohužel tato vyšetření provedena nebyla.

Ale i tak je tato práce velmi přínosná. Ukazuje nám, že se nelze spokojit pouze s jednou metodou vyšetření klasického CDC cross-match, a rovněž ukazuje na klinickou nepoužitelnost výsledku B lymfocytárního cross-match. Jedině rychlé plošné zavedení nových technik, jakým je například Luminex®, do rutinní klinické praxe umožní vyjádřit se ke klinickému významu protilátek pomocí technik cross-match v době transplantace.

Metoda Luminex® (Ozawa et al., 2007) může přispět k monitoraci výskytu dárcovsky specifických protilátek po transplantaci. To je velmi důležité před případnou nežádoucí redukcí imunosuprese. Dnes víme, že se dárcovsky specifické protilátky mohou objevit kdykoli po transplantaci a jsou vždy spojeny s rizikem následné ztráty štěpu pro chronickou, protilátkami zprostředkovanou rejekci.

Metody cross-match předpokládají archivaci lymfocytů dárce, což není metoda praktická pro dvacetileté sledování. Hlavním problémem je jako vždy cena vyšetření. Je ale možno soudit, že s odstupem bude možno vyšetřovat všechny nemocné s rizikem rejekce zprostředkované protilátkami ve všech transplantacních centrech v České republice; koneckonců rozšiřující se povědomí o humorálních rejekcích nakonec vedlo i k zajištění vyšetření přítomnosti C4d složky komplementu v biopsiích ve většině z nich.

Literatura

- Ozawa M, Terasaki PI, Lee JH, et al. 14th International HLA and Immunogenetics Workshop: report on the Prospective Chronic Rejection Project. Tissue Antigens 2007;69(Suppl 1):174–179.
- Patel R, Terasaki P. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. N Engl J Med 1969;280:735–739.

Zvýšené koncentrace kyseliny močové v séru zvyšují riziko chronického onemocnění ledvin

Obermayr RP, Temml C, Gutjahr G, et al. Elevated uric acid increases the risk for kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008, Epub ahead of print on Sept. 17.

Zvýšené koncentrace kyseliny močové v séru jsou asociovány jak s kardiovaskulárním, tak renálním (vývoj terminálního selhání ledvin) rizikem. Mezi nejvýznamnější rizikové faktory vývoje terminálního selhání ledvin patří hypertenze a diabetes a právě u pacientů s hypertenzí a metabolickým syndromem je prevalence hyperurikémie významně vyšší než v běžné populaci. Hyperurikémie v běžné populaci je rizikovým faktorem vývoje hypertenze (Nagahama et al., 2004; Sundstrom et al., 2005) a v experimentu u potkanů zvyšuje hyperurikémie riziko vývoje proteinurie (Kang et al., 2002). Hyperurikémie by tak mohla být nejen markerem, ale i etiologickým (a rizikovým) faktorem přispívajícím k vývoji chronického onemocnění ledvin (Johnson et al., 2005) a kardiovaskulárních komplikací (Fang et al., 2000).

Cílem komentované studie bylo zjistit, zda je hyperurikémie nezávislým rizikovým faktorem vývoje chronického onemocnění ledvin na základě dat z Vienna Health Screening Project. V rámci tohoto projektu je od ledna 1990 vytvářena stále rostoucí kohorta zdravých dobrovolníků, která v lednu 2007 dosáhla počtu 22 481 osob (46,5 % žen ve věku 20–84 let, u mužů 20–89 let). V rámci této studie bylo z analýzy vyřazeno 367 účastníků, jejichž vstupní kalkulovaná glomerulární filtrace (dle MDRD) byla < 60 ml/min/1,73 m², dalších 599 účastníků vypadlo ze sledování, takže nakonec bylo hodnoceno celkem 21 475 účastníků se střední dobou sledování $7,4 \pm 3,9$ let. Sérové koncentrace kyseliny močové byly měřeny enzymatickou metodou. Pacienti byli dle koncentrace kyseliny močové rozděleni do tří skupin: urikémie $< 7,0$ mg/dl tj. cca < 420 μ mol/l (normální sérové koncentrace kyseliny močové – 19 466 osob), $7,0$ – $9,0$ mg/dl tj. cca 420 – 540 μ mol/l (mírně zvýšené sérové koncentrace kyseliny močové – 1 821 osob) a $> 9,0$ mg/dl tj. cca > 540 μ mol/l (výrazně zvýšené sérové koncentrace kyseliny močové – 188 osob). Cílovým parametrem byl vývoj chronického onemocnění ledvin, které bylo definováno jako pokles kalkulované glomerulární filtrace na < 60 ml/min/1,73 m².

Rostoucí sérové koncentrace kyseliny močové byly mezi výše definovanými skupinami provázeny poklesem kalkulované glomerulární filtrace, zvyšujícím se věkem, rostoucím zastoupením mužů (55 % vs. 79 % vs. 94 %), zvyšujícím se obvodem pasu, vyšší triglyceridemií, nižší koncentrací HDL cholesterolu, vyšší glykemií na lačno, vyšším středním arteriálním tlakem a vyšším počtem užívaných antihypertenziv.

Nestandardizované relativní riziko vývoje 3. stadia chronického onemocnění ledvin bylo u pacientů s mírným zvýšením sérových koncentrací kyseliny močové 1,49 a u pacientů s výrazným zvýšením sérových koncentrací kyseliny močové 2,49. Po korekci na vstupní glomerulární filtraci, pohlaví, věk, jednotlivé parametry metabolického syndromu, střední arteriální tlak a užívání anti-hypertenziv kleslo relativní riziko vývoje 3. stadia chronického selhání ledvin na stále významných 1,26 pro mírně zvýšené sérové koncentrace kyseliny močové a 1,63 pro výrazně zvýšené sérové koncentrace kyseliny močové. Vliv urikémie na riziko vývoje 3. stadia chronického onemocnění ledvin se zdá být lineární do cca 6–7 mg/dl u žen a 7–8 mg/dl u mužů. Po dosažení těchto hodnot začíná relativní riziko prudce růst.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Hlavním přínosem této studie ve srovnání se staršími studiemi, které ukázaly, že zvýšené koncentrace kyseliny močové jsou v běžné populaci asociovány s vývojem chronického onemocnění ledvin (Domrongtachaiporn, 2005; Obermayr, 2008), je korekce relativního rizika na řadu faktorů, včetně parametrů metabolického syndromu.

Hodnocení vztahu mezi koncentrací kyseliny močové a glomerulární filtrací je komplikováno vlivem snížené glomerulární filtrace na tubulární transport kyseliny močové. Po adjustaci na vstupní glomerulární filtraci vzrostlo relativní riziko vývoje 3. stadia chronického onemocnění ledvin o 17 % (mírná hyperurikémie), resp. 25 % (výrazná hyperurikémie), což ukazuje na možný přímý (nebo nepřímý) toxický vliv kyseliny močové na funkci ledvin. Relativní riziko vývoje 3. stadia chronického onemocnění ledvin bylo u hyperurikemických pacientů o 26 % (mírná hyperurikémie), resp. 63 % (výrazná hyperurikémie) vyšší než u pacientů normourikemických i po adjustaci na řadu parametrů (viz výše). Hyperurikémie je tak nezávislým renálním rizikovým faktorem i po započtení řady běžných a známých rizikových faktorů vývoje chronického onemocnění ledvin.

Tento nálezn byl nedávno podpořen další rozsáhlou studií zahrnující 13 338 pacientů ze studií Atherosclerosis Risk in Communities and the Cardiovascular Health Study (Weiner et al., 2008). Každý vzestup sérových koncentrací kyseliny močové o 1 mg/dl (tj. o 60 μ mol/l) byl provázen 7% zvýšením rizika vzniku chronického onemocnění ledvin (pokles alespoň o 15 ml/min/1,73 m² na < 60 ml/min/1,73 m²) i po korekci na řadu dalších parametrů.

Mezi možné mechanismy vedoucí k poškození ledvin v důsledku hyperurikémie patří stimulace adheze krevních destiček, aktivace cyklooxygenázy-2, systému renin-angiotensin-aldosteron (např. zvýšená exprese receptoru AT₁ na buňkách hladkého svalstva), inhibice endotelové NO-syntázy, glomerulární hypertenze/hypertrofie, infiltrace ledvin makrofágy, proliferace hladkých svalových buněk cévní stěny a skleróza aferentní arterioly s ischemií glomerulů (Kang et al., 2005).

Definitivním průkazem etiologické role zvýšených koncentrací kyseliny močové v patogenezi vzniku a progresu chronického onemocnění ledvin může být jen dostatečně velká randomizovaná kontrolovaná intervenční studie. V současné době máme k dispozici jen data z několika malých studií, která naznačují, že by allopurinol mohl mít příznivý vliv na vývoj chronického onemocnění ledvin. V malé studii u 48 hyperurikemických a 21 normourikemických pacientů bylo nedávno možno ukázat, že tříměsíční léčba hyperurikémie allopurinolem má příznivý účinek nejen na koncentraci kyseliny močové, ale i na hodnoty C-reaktivního proteinu, krevního tlaku a glomerulární filtrace (ale nikoli na proteinurii – Kanbay et al., 2007). V jiné nedávno publikované studii (Siu et al., 2006) bylo 54 hyperurikemických pacientů s chronickým onemocněním ledvin randomizováno k roční léčbě allopurinolem či k užívání placeba. U pacientů léčených allopurinolem byl pozorován nesignifikantní trend k poklesu systolického i diastolického krevního tlaku a sérového kreatininu. V další malé studii vedlo vysazení allopurinolu u 50 pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve stadiu 3 a 4 a mírnou hyperurikémií ke zhoršení kontroly krevního tlaku, rychlejší progresi chronické renální insuficience a vzestupu močové exkrece TGF β_1 (Talaat et al., 2007).

Zvýšené koncentrace kyseliny močové jsou tedy zřejmě nezávislým rizikovým faktorem vývoje chronického onemocnění led-

vin. Teprve intervenční studie s allopurinolem mohou význam tohoto rizikového faktoru definitivně potvrdit.

Literatura

- Domrongkitchaiporn S, Sritara P, Kitiyakara C, et al. Risk factors for development of decreased kidney function in a Southeast Asian population: a 12-year cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:791–799.
- Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality: The NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971–1992. *JAMA* 2000;283:2404–2410.
- Johnson RJ, Segal MS, Srinivas T, et al. Essential hypertension, progressive renal disease, and uric acid: a pathogenetic link? *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1909–1919.
- Kanbay M, Ozkara A, Selcoki Y, et al. Effect of treatment of hyperuricemia with allopurinol on blood pressure, creatinine clearance, and proteinuria in patients with normal renal function. *Int Urol Nephrol* 2007;39:1227–1233.
- Kang DH, Nakagawa T, Feng L, et al. A role of uric acid in the progression of renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2888–2897.
- Kang DH, Nakagawa T. Uric acid and chronic renal disease: possible implication of hyperuricaemia on progression of renal disease. *Semin Nephrol* 2005;25:43–49.
- Nagahama K, Inoue T, Iseki K, et al. Hyperuricaemia as a predictor of hypertension in a screened cohort in Okinawa, Japan. *Hypertens Res* 2004;27:835–841.
- Obermayr RP, Temml C, Knechtelsdorfer M, et al. Predictors of new-onset decline in kidney function in a general middle-European population. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1265–1273.
- Siu YP, Leung KT, Tong MK, et al. Use of allopurinol in slowing the progression of renal disease through its ability to lower serum uric acid level. *Am J Kidney Dis* 2006;47:51–59.
- Sundstrom J, Sullivan JD, Agostino RB, et al. Relations of serum uric acid to longitudinal blood pressure tracking and hypertension incidence. *Hypertension* 2005;45:28–33.
- Talaat KM, el-Sheikh AR. The effect of mild hyperuricemia on urinary transforming growth factor beta and the progression of chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2007;27:435–440.
- Weiner DE, Tighiouart H, Elsayed EF, et al. Uric acid and incident kidney disease in the community. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:287–292.

Nízké koncentrace vitamínu D jsou spojeny s nepříznivou prognózou pacientů s chronickým onemocněním ledvin

Ravani P, Malberti F, Tripepi G, et al. Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2008, Epub ahead of print on Oct 8.

Deficit vitamínu D je v obecné populaci běžný a je spojen se zvýšeným rizikem hypertenze, diabetu, srdečního selhání a onkologického onemocnění (Hollick, 2007). U hemodialyzovaných pacientů je deficit vitamínu D spojen se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem a časnou mortalitou (Wolf et al., 2007) a retrospektivní studie ukázala, že pacienti léčení aktivovaným vitaminem D měli nižší mortalitu než pacienti neléčení (Teng et al., 2005). Přímé důkazy (randomizovaná kontrolovaná studie) pro vliv aktivních metabolitů vitamínu D na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu dialyzovaných pacientů ale zatím chybějí.

Význam snížených koncentrací vitamínu D u pacientů s časnějšími stadii chronického onemocnění ledvin, jak ve vztahu k mortalitě, tak ve vztahu k riziku vývoje terminálního selhání ledvin, je zatím nejasný.

V komentované studii byla sledována prognóza 168 pacientů s chronickým onemocněním ledvin 2.–5. stadia, kteří byli postupně odesláni do nefrologické poradny sloužící spádové oblasti s přibližně 200 000 obyvateli. Žádný z pacientů neměl akutní koronární onemocnění, srdeční selhání, netrpěl zánětlivým ani střevním onemocněním, neměl v anamnéze střevní operaci, netrpěl malabsorpcí a neužíval žádné látky interferující s absorpcí vitamínu D. Pacienti byli pravidelně sledováni v 3.–6. měsíčních intervalech v průměru po dobu 48 měsíců.

Průměrný věk pacientů byl 70 ± 12 let, 63 % z nich byli muži, 26 % mělo diabetes a 58 % mělo v anamnéze kardiovaskulární onemocnění. Celkem 9,5 % pacientů mělo chronické onemocnění ledvin ve 2. stadiu, 40,5 % ve 3. stadiu, 40,5 % ve 4. stadiu a 9,5 %

v 5. stadiu. Střední koncentrace 25-hydroxyvitamínu D byla 18,1 ng/ml, střední koncentrace 1,25-dihydroxyvitamínu D byla 18,5 pg/ml. Podíl pacientů s deficitem vitamínu D (koncentrace 25-hydroxyvitamínu D < 15 ng/ml) s progresí chronického onemocnění ledvin postupně stoupal z 25 % ve 2. stadiu až na 56 % v 5. stadiu. Cca 90 % pacientů s koncentrací parathormonu > 100 pg/ml bylo léčeno kalcitriolem, podíl pacientů léčených kalcitriolem byl ale stejný u pacientů s koncentrací 25-hydroxyvitamínu D nižší i vyšší než 15 ng/ml (v obou skupinách cca 21 %).

Vstupní koncentrace 25-hydroxyvitamínu D i 1,25-dihydroxyvitamínu D spolu pozitivně korelovaly a dále pozitivně korelovaly s glomerulární filtrací a kalcémií a negativně s věkem a sérovými fosfáty.

Během doby sledování bylo nutno u 48 pacientů zahájit dialýzu a 78 pacientů zemřelo (52 z kardiovaskulárních příčin, 21 po zahájení dialýzy). Byl hodnocen vliv řady parametrů na mortalitu a vývoj terminálního selhání ledvin. Proteinurie měla významný vliv pouze na riziko vývoje terminálního selhání ledvin. Věk, anamnéza srdečního selhání, kouření, koncentrace C-reaktivního proteinu a albuminu významně ovlivňovaly pouze mortalitu. Po korekci na řadu dalších parametrů byly jedinými nezávislými prediktory jak mortality, tak i rizika vývoje terminálního selhání ledvin jen koncentrace 25-hydroxyvitamínu D a koncentrace sérových fosfátů. Vyšší sérové koncentrace 25-hydroxyvitamínu D o 10 ng/ml byly spojeny s delším přežíváním a delším přežitím bez vývoje selhání ledvin (relativní riziko 0,69). Pokud byly hodnoceny jen kardiovaskulární příčiny mortality a selhání ledvin, byl význam snížených koncentrací 25-hydroxyvitamínu D o něco menší (relativní riziko 0,77) a význam fosfatémie o něco vyšší (relativní riziko 1,84).

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Komentovaná studie potvrdila, že deficit vitamínu D je významný již u pacientů s chronickým onemocněním ledvin v 2.–5. stadiu a že koncentrace jak 25-hydroxyvitamínu D, tak 1,25(OH)₂ vitamínu D klesají paralelně s poklesem glomerulární filtrace. Hlavním přínosem této práce ale je, že poprvé ukázala, že koncentrace 25-hydroxyvitamínu D u dosud nedialyzovaných pacientů s chronickou renální insuficiencí negativně koreluje s rizikem terminálního selhání ledvin a kardiovaskulární morbiditou a mortalitou.

Nedostatek vitamínu D je běžný i v obecné populaci a souvisí mj. s expozicí slunci, etnikem, věkem, přítomností diabetu 2. typu a obezity (Hollick, 2007). Vysoký výskyt deficitu vitamínu D v komentované studii u pacientů s pokročilou chronickou renální insuficiencí zřejmě souvisí s věkem pacientů ($p < 0,001$), nižší koncentrace byly také v této studii nalezeny u diabetiků ($p = 0,007$) a u žen ($p = 0,021$). Zdá se ale, že ani tyto faktory nevysvětlují zcela vysoké procento deficitu vitamínu D. Bohužel, ani v této studii, ani ve studii Wolfa et al., (2007) u dialyzovaných pacientů nebyly vyšetřeny koncentrace 25-hydroxyvitamínu D u vzorku obecné populace žijící ve stejných lokalitách, takže v těchto studiích není možné přesně posoudit vliv chronické renální insuficience na výskyt deficitu vitamínu D.

Jedním z dalších faktorů přispívajících k vysokému riziku deficitu vitamínu D u pacientů s chronickým selháním ledvin může být mj. i snížená kožní produkce prekursoru 25-hydroxyvitamínu D cholekalciferolu (Jacobe et al., 1984). Sérové koncentrace 25-hydroxyvitamínu D také negativně koreluje s proteinurií i v rámci subnephrotických hodnot (De Boer et al., 2007). Je také možné, že u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, kteří mají sníženou

aktivitu renální 1 α -hydroxylázy, je koncentrace aktivního metabolitu 1,25(OH)₂ vitamínu D více závislá na koncentraci 25-hydroxyvitamínu D než u zdravých osob. Důsledkem snížených koncentrací 25-hydroxyvitamínu D je zvýšená produkce parathormonu, která vzhledem k přítomnosti 1 α -hydroxylázy v buňkách parathyroidy není závislá na extraparathyroidální produkci kalcitriolu – 1,25(OH)₂ vitamínu D (Ritter et al., 2006).

V této studii i nedávno publikované studii u dialyzovaných pacientů (Wolf et al., 2007) byly sérové koncentrace 25-hydroxyvitamínu D (z ne zcela jasných příčin) lepším prediktorem mortality než sérové koncentrace 1,25(OH)₂ vitamínu D.

Kromě sérových koncentrací 25-hydroxyvitamínu D byla jediným dalším významným prediktorem úmrtí a progresu renální insuficience fosfatémie (ve shodě s jinou nedávno publikovanou evropskou studií – Voormolen, 2007). I když je zřejmé, že v observačních studiích nelze nikdy zcela vyloučit riziko dalších (neidentifikovaných) faktorů, je pravděpodobné, že nedostatek 25-hydroxyvitamínu D skutečně hraje významnou roli jak v progresi renální insuficience, tak v mortalitě pacientů s chronickým onemocněním ledvin.

Hlavní předností komentované studie je dlouhá doba sledování a použití proměnných opakovaně měřených v průběhu sledování (ne pouze vstupních parametrů). Hlavním omezením komentované studie je relativně malý soubor vyšetřených osob pouze bělošského původu. Při interpretaci dat jistě také nelze zcela vyloučit možnost, že nebyly vzaty v úvahu další (event. i zatím neidentifikované faktory), které mohou vliv sérových koncentrací 25-hydroxyvitamínu D na mortalitu a progresi chronické renální insuficience oslabit, event. zcela eliminovat.

Recentní studie (komentovaná studie a Wolf et al., 2007) ukazují, že deficit vitamínu D nemá u pacientů s chronickým onemocněním ledvin vztah pouze k sérové hladině parathormonu, ale také k dalším renálním a kardiovaskulárním parametrům.

Definitivní odpověď na otázku, zda je deficit vitamínu D jedním z významných modifikovatelných kardiovaskulárních a renálních rizikových faktorů, může dát jen randomizovaná kontrolovaná studie zaměřená na ovlivnění těchto parametrů podáváním aktivních metabolitů vitamínu D.

Literatura

- De Boer IH, Ioannou GN, Kestenbaum B, et al. 25-hydroxyvitamin D levels and albuminuria in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis* 2007;50:69–77.
- Hollick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–281.
- Jacob AI, Sallman A, Santiz Z, et al. Defective photoproduction of cholecalciferol in normal and uremic humans. *J Nutr* 1984;114:1313–1319.
- Ritter CS, Ambrecht HJ, Slatopolsky E, et al. 25-hydroxyvitamin D(3) suppresses PTH synthesis and secretion by bovine parathyroid cells. *Kidney Int* 2006;70:654–659.
- Teng M, Wolf M, Ofsthun MN, et al. Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1115–1125.
- Voormolen N, Noordzij M, Grootendorst DC, et al. High plasma phosphate as a risk factor for decline in renal function and mortality in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:2909–2916.
- Wolf M, Shah A, Gutierrez O, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007;72:1004–1013.

Jaký prostor věnují média prevenci a časně detekci chronického onemocnění ledvin

Tong A, Chapman S, Sainsbury P, Craig JC. An analysis of media coverage on the prevention and early detection of CKD in Australia. *Am J Kidney Dis* 2008; 52:159–170.

Sdělovací prostředky jsou významným a vlivným zdrojem informací o zdraví poskytovaných veřejnosti. Chronické one-

mocnění ledvin (CKD) představuje celosvětový zdravotní problém, u kterého nefrologové v nedávné minulosti iniciovali řadu aktivit s cílem zvýšit u veřejnosti povědomí o významu prevence a časně detekce ledvinových onemocnění. Sdělovací prostředky mohou napomoci k dosažení tohoto cíle. Existují doklady o tom, že mediální zpravodajství může vést u některých jedinců s rizikem chronického onemocnění ledvin k včasnému vyšetření a vyhledání léčebné péče, tedy opatřením, které mohou významně omezit vznik či progresi CKD. Působení médií se může projevit i na programu veřejnoprávních orgánů například tím, že dochází k ovlivnění alokace zdrojů na výzkum a výuku a že je vytvářen tlak na legislativní a politické změny. V minulosti se několik studií zabývalo tím, jak se další chronická onemocnění jako karcinomy, diabetes či kardiovaskulární onemocnění zobrazují v médiích. Jediná studie, která byla zaměřena na problematiku sdělovacích prostředků ve vztahu k chronickému onemocnění ledvin byla omezena na jednoduchou analýzu popisující v jakém poměru se televizní zpravodajství a publicistika zabývají CKD v porovnání s dalšími zdravotními tématy, jakými jsou karcinom prsu, kardiovaskulární onemocnění a vakcinace proti chřipce (Jaffery, 2006). Jejím závěrem bylo, že chronickému onemocnění ledvin je věnována malá pozornost. V žádné studii nebyly doposud zkoumány zastoupení a význam věnované televizním či tiskovým zpravodajstvím a publicistikou prevenci a časně detekci CKD. Cílem studie bylo zhodnotit, v jaké míře (se zaměřením na rozsah a způsob) australské zpravodajské programy v televizi a novinách informují o prevenci a časně detekci chronického onemocnění ledvin.

Metody: Byly vyhledány databáze novinových a televizních zpráv se zaměřením na články pojednávající o prevenci či časně detekci CKD v období V/2005–V/2007. Všechny položky získané z procesu vyhledávání byly zakódovány a ke každé položce byly přiřazeny odpovědi na následující otázky: 1) Kdo byl mluvčí (osoba referující o prevenci či detekci onemocnění ledvin)? 2) Jak byly formulovány pojmy prevence či časná detekce CKD (formulace, definice, vysvětlení výše uvedených pojmů)? 3) Kdo byl označen jako odpovědný za daný problém? 4) Kdo byl navržen jako odpovědný, který by měl daný problém řešit a jak? 5) Z jakých důvodů byl článek v médiích prezentován v danou chvíli?

Výsledky: V hodnoceném dvouletém období bylo zjištěno z celkového množství 10 430 televizních zpráv se zdravotní náplní pouze 43 položek (0,0004 %) majících za prvotní či druhotné téma chronické onemocnění ledvin či transplantaci ledviny. Z toho 36 položek bylo vyřazeno, jelikož prevence či časná detekce CKD nebyly v relaci pojednány. Z tiskového zpravodajství bylo primárně získáno 5 624 článků; z tohoto počtu bylo vyřazeno 3 185 článků jakožto naprosto irelevantních ve vztahu k nemoci ledvin a dalších 2 225 článků proto, že nepojednávaly o prevenci a časně detekci CKD (jejich zaměřením byla převážně transplantace ledviny). Celkově tedy bylo nalezeno sedm televizních relací a 214 zpravodajských článků v tisku, které se explicitně zabývaly problematikou prevence či detekce CKD.

Odpovědi na otázky vztahující se k CKD: Ad 1) Bylo identifikováno pět hlavních skupin mluvčích: především lékařští odborníci (ve 42 %), dále spotřebitelské organizace, vláda, výzkum a laická veřejnost. Ad 2) Informace o prevenci a časně detekci CKD byly řídké. Chronické onemocnění ledvin bylo z větší části (v 52 %) označováno a nazíráno jako druhotný problém a víceméně pouze následek jiných onemocnění, jako např. diabetu, hypertenze. Pouze v menšině případů (48 %) bylo CKD označeno ve zpravodajství jako prvotní a základní zdravotní problém. Pouze v malém počtu případů byla zdůrazněna mimořádně vysoká finanční náročnost

lčby onemocnění ledvin (11 %). Ad 3) Největší díl odpovědnosti za neuspokojivý stav (z hlediska výskytu, detekce, prevence a léčby) CKD byl přisuzován samotným jednotlivcům (v 74 %), v menší míře vládě, lékařům aj. Ad 4) Možnosti řešení byly spatřovány v iniciativách na úrovni jednotlivců, lékařů (zvl. praktických lékařů), vládních orgánů a dalších subjektů. Nicméně nepřiměřeně vysoká pozornost byla věnována změnám životního stylu než dalším faktorům podílejícím se na onemocnění ledvin (např. genetické vnímavosti, časně detekci apod.). Ad 5) Ve více než 60 % nebylo možno zjistit bezprostřední důvody či okolnosti vedoucí ke zveřejnění daného článku či TV relace; v těch případech, kdy se motivaci podařilo zjistit, byly na prvním místě souvislost se zveřejněním výsledků výzkumu (ve 30 %), s kampaní ve prospěch řešení zdravotních problémů, setkáním a schůzkami na úrovni vlády, zdravotními summity a zásadními objevy či pokroky ve zdravotnictví.

Diskuse: Studie potvrdila, že onemocnění ledvin není věnována přiměřená mediální pozornost na úrovni tištěného či TV zpravodajství, a to jak globálně tak zvláště z hlediska prevence a časně detekce CKD. Byly zdůrazněna některá specifika CKD (např. relativně asymptomatický průběh) a také faktory, které by mohly přispět k většímu zapojení zpravodajských médií v celospolečenském vnímání a řešení problematiky CKD.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Miroslav Merta, CSc.

Pokud se pokoušíme zjistit příčiny ne příliš uspokojivého stavu toho, jak pacienti, lékaři a veřejnost obecně vnímají závažnost problematiky chronického onemocnění ledvin, je třeba nepochybně zhodnotit roli a působení masmédií obecně a zdravotního zpravodajství zvláště. Autoři studie se pokusili zjistit v jaké míře se vůbec téma časně diagnostiky a prevence CKD v tiskovém i televizním zpravodajství objevuje a dále objasnit příčiny vzniku, okolnosti i formu u těch relací, které byly ve zdravotním zpravodajství sledovanému tématu věnovány. Je třeba předeslat, že takto zaměřená analýza je velmi ojedinělá, a byť pojednává o geograficky vzdálené oblasti (Austrálii), je obsahově platná a zajímavá i pro oblast evropského regionu. Celkově se zprávy s tématem časně detekce a prevence CKD podílely pouze 8,77 % v tištěném zpravodajství a 0,06 % v televizním zpravodajství z celkového množství zpráv zaměřených na onemocnění ledvin. Reálné zastoupení tématu CKD však bylo ještě podstatně nižší, neboť u většiny zpráv či relací byly v popředí jiná témata (obvykle transplantace ledviny) a CKD bylo zmiňováno pouze jako téma sekundární. Vezmeme-li v úvahu, že u více než jedné desetiny veškeré populace lze prokázat určitý projev chronického onemocnění ledvin (CKD), je mediální odraz této skutečnosti opravdu nízký. Pokud vůbec bylo CKD zmiňováno, tak tomu bylo často v souvislosti s doporučeními týkajícími se vhodného životního stylu a životosprávy u diabetu či obezity. Masmédia sice referovala o vzrůstajícím počtu pacientů s chronickým onemocněním ledvin, avšak obvykle nezmiňovala další důležité informace o CKD, jako např. skutečnost, že představuje nezávislý faktor predikce pro vznik kardiovaskulárního onemocnění či smrti, či, že řada příčin CKD je vrozené či idiopatické povahy, neovlivnitelné životním stylem. Velmi malá pozornost byla věnována vazbě mezi CKD a arteriální hypertenzí a tomu jak mimořádně důležité je pro nemocné s CKD dosáhnout uspokojivé kontroly arteriálního krevního tlaku, a to jednak pro možnost zpomalení progresu CKD a dále pro prevenci kardiovaskulárního onemocnění. Jaké zprávy tedy odborná či laická veřejnost o CKD může získat? Z komentované studie vyplynulo, že se často jednalo

o informace, které povzbuzují iniciativu pacientů a jejich schopnost kontrolovat klinickou situaci pomocí určité životosprávy, cvičením či dietou (tak jak tomu je do určité míry např. u diabetu). Dalším poměrně privilegovaným tématem byla problematika transplantací či dárčovství ledviny. Konečně nezanedbatelná pozornost byla věnována chronickému onemocnění ledvin v souvislosti s některými odbornými, vládními či jinými aktivitami majícími určitý společenský dosah (např. zahájení screeningových akcí u vybraných rizikových skupin obyvatelstva). Z odborné veřejnosti si jen málokdo uvědomuje, že mediální zpravodajství má určitá specifika. Stryker a spol. (2002) vyzdvihli význam tří faktorů, které ovlivňují zveřejnění zdravotních zpráv v masmédiích: důvěryhodnost informačních zdrojů, poskytování tiskových (odborných) zpráv masmédiím a čtivost (resp. TV atraktivnost).

Cílené a pravidelné předávání odborných informací (výstupy z klinických aj. studií) s vysokým stupněm důvěryhodnosti je nepochybně vhodným způsobem jak dosáhnout zájmu médií o zdravotní problémy. K tomu, aby zprávy zaujaly posluchače či čtenáře, musejí mít navíc určitou čtivost či TV atraktivitu. Čtivé či atraktivní zprávy mívají v sobě obvykle zakomponovánu některou z následujících charakteristik: významná událost, zainteresovanost, lidské drama, včasnost, neobvyklý děj, blízkost (van Tribut, 1994). V závěru lze uvést, že studie upozornila na jeden aspekt CKD, kterým je jeho mediální obraz/odraz a možnosti jeho ovlivnění. Je nepochybné, že cílená spolupráce s médii může významně přispět k realizaci řady kroků vedoucích k časně detekci a prevenci chronického onemocnění ledvin.

Literatura

Jaffery JB, Jacobson LM, Goldstein KM, Pribble JM. Local television news reporting of kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2006;48:983–985.

Stryker JE. Reporting medical information: effects of press releases and newsworthiness on medical journal articles' visibility in the news media. *Prev Med.* 2002;35:519–530.

van Trigt AM, de Jong-van den Berg LT, et al. Journalists and their sources of ideas and information on medicines. *Soc Sci Med.* 1994;38:637–643.

Močový cystatin C jako časný biomarker akutního poškození ledvin při kardiovaskulární chirurgii

Koyner JL, Bennett MR, Worchester EM, et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney Int* 2008;74:1059–1069.

V posledním údobí se zintenzivnily snahy o časnou detekci poškození funkce ledvin ještě před rozvojem akutního selhání ledvin. Významně k tomu přispěla nová klasifikace RIFLE vytvořená nefrology spolu s intenzivisty kladoucí důraz na časná stadia počínajícího poškození. Spolu s tím se hledají biomarkery, které by časnou diagnózu a na ni navazující léčebná opatření umožnily. Ideální biomarker či set biomarkerů umožňuje časnou identifikaci, ohodnocení tíže rizika a přispívá k diagnostické klasifikaci příčiny.

Autoři se ve své studii zabývají stanovením cystatinu C v moči u nemocných s akutním poškozením ledvin (AKI) následujícím po výkonech kardiovaskulární chirurgie s cílem snížit morbiditu a event. mortalitu této pooperační komplikace. Akutní poškození ledvin je častou komplikací a v současné podobě definice AKI (RIFLE klasifikace) se může vyskytovat až u 40 % nemocných, z nichž 1–5 % vyžaduje náhradu funkce ledvin (RRT), nejčastěji hemodialýzu či užití kontinuálních metod. Rychlý vzestup sérové koncentrace kreatininu v pooperačním období bývá spojen

s těžkým průběhem AKI většinou ve formě akutního selhání ledvin s výrazně zvýšenou mortalitou. To se týká především starších a komplikovaných nemocných. Nicméně četné studie ukazují, že sérový kreatinin (dosud bráný jako zlatý standard pro stanovení AKI) je v těchto případech opožděným markerem zjištěným již v době výrazného poškození renálního parenchymu. Z řady nových biomarkerů (KIM-1, interleukin-18, cystatin C, NGAL) si autoři pro sledování vybrali dva posledně uvedené s tím, že stanovení bylo provedeno v plazmě i moči.

Pro zařazení do studie bylo vyšetřeno celkem 262 nemocných, z nichž 162 bylo následně vyřazeno z důvodu nesplnění vstupních kritérií a 49 nemocných nedalo informovaný souhlas. Ze zbylých 81 nemocných souhlasících se zařazením vyplnilo 73 nemocných celý protokol, jeden nemocný zemřel přímo na operačním sále a byl vyřazen.

Autoři studie se rozhodli sledovat ve skupině 72 nemocných, kteří podstoupili elektivní kardiovaskulární výkon, NGAL (neutrophil gelatinase associated lipocalin) a cystatin C (CyC) v plazmě a moči. Akutní poškození ledvin bylo definováno jako zvýšení plazmatického kreatininu o $\geq 25\%$ či nutnost náhrady funkce ledvin v prvních 72 hodinách po chirurgickém výkonu. Celkem u 34 (47,2 %) nemocných se vyvinulo pooperační AKI (primární sledovaný parametr studie).

Plazmatické hodnoty NGAL a CyC nebyly schopny detekovat AKI v prvních šesti hodinách po výkonu. Naproti tomu, močové koncentrace NGAL a CyC byly časně zvýšeny u 34 nemocných, u nichž se následně vyvinulo AKI ve srovnání s nemocnými bez rozvoje AKI. Močové hodnoty NGAL v čase přijetí na jednotku intenzivní péče (JIP) a močový CyC 6 hodin po přijetí na JIP poskytovaly validní údaje pro predikci AKI. Nejpresnější odhad AKI bylo možné na základě těchto vyšetření učinit již za šest hodin po kardiovaskulárním výkonu. Z toho lze uzavřít, že stanovení močových koncentrací (především dostupnějšího CyC) může významně urychlit diagnózu a přispět k časným léčebným opatřením.

U všech nemocných byly též změřeny koncentrace a odpady sodíku a močoviny v moči a vypočítány frakční exkrece. Za hodnoty glomerulární filtrace (GF) byly dosaženy hodnoty vypočtené dle MDRD, což však není přesné měření GF v situaci akutního poškození či selhání ledvin. Při statistickém hodnocení hodnot frakční exkrece Na byl zjištěn v časném pooperačním období pouze hraniční rozdíl mezi skupinou s rozvíjejícím se AKI a bez něho. Při hodnocení frakční exkrece močoviny, a to jak v krátkodobém, tak i střednědobém období, nebyl rozdíl významný.

Velmi dobrá korelace byla prokázána při vzájemném hodnocení plazmatických a močových koncentrací NGAL a CyC.

Při analýze hodnocení výsledků je zřejmé, že plazmatická hodnota CyC je vyjádřením hodnoty glomerulární filtrace, zatímco močová koncentrace svědčí pro závažné poškození buněk proximálního tubulu ledviny. Plazmatická koncentrace cystatinu je více prediktorem pozdějšího poškození než nález cystatinu C v moči, který je bezprostřední známkou tubulární léze. Je však známo, že plazmatický CyC se zvyšuje u nemocných s AKI jeden až dva dny před zvýšením plazmatického kreatininu. Tento fenomén je vysvětlen i kratším poločasem eliminace CyC. Na druhé straně bylo ukázáno, že koncentraci CyC mohou ovlivnit nezávisle na úrovni GF též poruchy tyreoidálních funkcí, podávání kortikoidů a známky zánětu. Otevřenou otázkou je též vliv tělesné hmotnosti a změn svalové hmoty.

NGAL o m. hm. 25 kDa jako člen lipokalinové rodiny je významně up-regulován v ischemické myši a krysí ledvině. Také hodnoty NGAL jsou zvýšeny v plazmě a moči dříve, než se zvýší hodnoty kreatininu u nemocných po transplantaci ledviny a perkutánní

koronární intervenci. Mishra et al prokazovali u dětí již dvě hodiny po kardiovýkonu zvýšené hodnoty NGAL v plazmě i moči předcházející následné zvýšení kreatininu. Zvýšení však nebylo přítomno u dětí bez AKI. Analogicky Wagener et al prokázali časný výskyt NGAL v moči u dospělých po kardiovaskulárních výkonech, u nichž se následně objevilo AKI.

Studie má pochopitelně své limity. Jsou uvedeny výsledky studie jednoho centra o limitovaném počtu pacientů. Hodnota GF nebyla stanovena přímo se stanovením sběru moči, ale výpočtově (MDRD, CyC). Akutní poškození ledvin bylo definováno zvýšením S_{kr} o 25 % během 72 hodin po kardiovýkonu, zatímco předchozí srovnávací studie udávaly zvýšení o 50 %.

Studie však ukázala, že zvýšené koncentrace močového CyC lze užít jako časný biomarker AKI u dospělých a že zvýšení předcházelo elevaci kreatininu v plazmě. Podobně prediktivní význam mělo stanovení močového NGAL.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

V současné klinické praxi se diagnóza akutního poškození ledvin dosud nejčastěji stanovuje měřením sérové koncentrace kreatininu. Při akutních změnách funkce ledvin však není hodnota kreatininu spolehlivým ukazatelem. Za prvé, koncentrace kreatininu v séru může kolísat v širokém rozmezí v závislosti na věku, pohlaví, svalové hmotě, metabolismu svalů, užívaných lécích a na stavu hydratace. Za druhé, při akutních změnách glomerulární filtrace neodráží koncentrace kreatininu v séru – až do dosažení ustáleného stavu – přesně funkci ledvin. To může trvat i několik dní. Studie u zvířat přitom prokázaly, že rozvoji AKI lze často zabránit nebo jej lze léčit, je však třeba zasáhnout velmi časně po vyvolávajícím podnětu, dlouho předtím, než se vůbec začne koncentrace kreatininu v séru zvyšovat.

Intenzivní výzkum v této oblasti byl vyvolán snahou zlepšit časnou diagnostiku AKI. Klasické biomarkery v moči, jako jsou válcové a frakční exkrece sodíku, nejsou dostatečně citlivé a jsou také nespecifické pro časné rozpoznání AKI. Jiné tradiční biomarkery v moči, například filtrované vysokomolekulární bílkoviny a bílkoviny nebo enzymy v tubulech, také plně nevyhovují pro nízkou specifitu a vysokou cenu standardizovaných metod stanovení.

Nejperspektivnější časné biomarkery AKI jsou:

a) Neutrofilní lipokalin asociovaný s gelatinázou (NGAL)

Pomocí mikročipové analýzy byl ve zvířecích modelech identifikován neutrofilní lipokalin asociovaný s gelatinázou (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) jako jeden z nejčasněji indukovaných genů a proteinů v ledvinách po ischemickém nebo nefrotoxickém poškození. Protein NGAL se krátce po AKI snadno zjišťoval v krvi a v moči. V průřezové studii vykazovali dospělí s prokázaným AKI (definovaným jako zdvojnásobení sérové koncentrace kreatininu v období kratším než pět dnů) více než desetinásobný vzestup sérové koncentrace NGAL a více než stonásobný vzestup koncentrace NGAL v moči oproti kontrolním osobám.

Protein NGAL byl hodnocen jako biomarker rozvoje AKI i při transplantaci ledvin. Biopsie ledvin provedené jednu hodinu po anastomóze cév vykazovaly statisticky významnou korelaci mezi intenzitou barvení NGAL a opožděným rozvojem funkce štěpu. V prospektivní multicentrické studii koncentrace NGAL ve vzorcích moči získaných v den transplantace odhalily příjemce kadaverózních ledvin, u nichž následně došlo k opožděnému rozvoji funkce štěpu a kteří potřebovali dialýzu (což se pravidelně stávalo o dva až čtyři dny později).

V multicentrické studii hemolyticko-uremického syndromu spojeného s průjemem bylo zjištěno, že pomocí koncentrace NGAL v moči lze předpovídat i závažnost AKI a nutnost zahájení dialyzační léčby. Přibývá i důkazů z prospektivních studií, které naznačují, že koncentrace NGAL v plazmě a v moči jsou prediktivním biomarkerem rozvoje AKI po podání kontrastní látky. A konečně, pomocí koncentrace NGAL v moči bylo možné předpovědět rozvoj a závažnost AKI v heterogenní prospektivně hodnocené skupině kriticky nemocných pacientů s poškozením ledvin neznámé doby trvání.

Celkově byla tedy koncentrace NGAL prokázána jako senzitivní a specifický biomarker akutního poškození ledvin různé etiologie, který je obrovským příslibem pro včasnou diagnostiku. Je však zároveň známo, že stanovení koncentrace NGAL může být ovlivněno již přítomným onemocněním ledvin a systémovou infekcí nebo infekcí močových cest. Velmi slibné cílené standardizované metody stanovení koncentrace NGAL v současné době procházejí rozsáhlými klinickými zkouškami.

b) Cystatin C

Cystatin C je inhibitor cysteinové proteázy, který je tvořen a vylučován do krve pravidelně všemi jadernými buňkami. Volně prochází glomeruly, je plně zpětně vstřebáván proximálním tubulem a není secernován. Zjistilo se, že vylučování cystatinu C do moči předpovídá nutnost zahájení náhrady funkce ledvin (renal replacement therapy, RRT) u pacientů s prokázaným AKI již minimálně o den dříve, s hodnotou AUC = 0,75. V podmínkách intenzivní péče 50% zvýšení sérové koncentrace cystatinu C předpovědělo rozvoj AKI o jeden den (AUC = 0,97) a o dva dny (AUC = 0,82) dříve, než došlo k vzestupu sérové koncentrace kreatininu. V již dříve publikované studii se však sérová koncentrace cystatinu C neprokázala jako spolehlivější v časně diagnostice AKI v porovnání se sérovou koncentrací kreatininu a pomocí koncentrace cystatinu C nebylo možné předpovědět výsledný klinický stav.

Cystatin C by tedy mohl být slibným kandidátem pro zařazení do sérového „panelu“ pro stanovení AKI. V první řadě jde o citlivý ukazatel poklesu glomerulární filtrace. Močové vylučování cystatinu C je pak ukazatelem vlastního poškození ledvin. Výhodou cystatinu C je komerční dostupnost standardizovaných imunonefelometrických metod jeho stanovení.

c) Molekula poškození ledvin 1 (KIM-1)

Molekula poškození ledvin 1 (kidney injury molecule-1, KIM-1) je transmembránový protein, který není přítomen ve zdravé ledvině, nicméně je exprimován v dediferencovaných buňkách proximálního tubulu po ischemickém nebo nefrotoxickém inzultu. Při AKI dochází k jeho zvýšené expresi a v moči lze detekovat jeho proteolyticky zkrácenou doménu. V průřezové studii bylo při biopsiích ledvin zjištěno, že v proximálních tubulech ledvin u pacientů s prokázaným AKI (převážně ischemické etiologie) se výrazně zvýšila tvorba KIM-1 a na základě přítomnosti KIM-1 v moči bylo možné rozlišit ischemické AKI od prerenální formy AKI a chronického onemocnění ledvin.

Nedávno provedená studie zkoumala vztah mezi KIM-1 a souhrnným hodnocením parametrem (dialýza nebo úmrtí) u hospitalizovaných pacientů. Hodnota AUC pro koncentraci KIM-1 v moči jako prediktoru dosažení souhrnného hodnoceného parametru činila 0,61. Skóre „Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II“ mělo hodnotu AUC = 0,78. Tato hodnota se po přidání KIM-1 k modelu zvýšila na 0,85. Celkově tyto výsledky ukazují, že zvýšená koncentrace KIM-1 v moči je u hospitalizovaných pacientů s AKI spojena se zhoršenou prognózou.

Protein KIM-1 je dalším slibným kandidátem pro zařazení do močového „AKI-panelu“. Jeho výhoda spočívá v tom, že je zřejmě specifičtější pro ischemické poškození ledvin a není významně ovlivněn chronickým onemocněním ledvin nebo infekcí močových cest. Může být proto důležitým biomarkerem pro rozlišení mezi jednotlivými podtypy AKI.

d) Interleukin 18

Interleukin (IL) 18 je prozánětlivý cytokin, který se po akutním poškození ledvin začíná uvolňovat v proximálním tubulu a jeho štěpný produkt se vylučuje do moči. V myším modelu byla koncentrace IL-18 v moči zvýšena při ischemickém AKI. V průřezové studii u lidí byla koncentrace IL-18 v moči výrazně zvýšena u pacientů s prokázaným AKI, ne však u jedinců s infekcí močových cest, s chronickým onemocněním ledvin, s nefrotickým syndromem nebo se selháním ledvin prerenální etiologie.

V prospektivní multicentrické studii koncentrace IL-18 ve vzorcích moči odebraných v den transplantace umožnila rozpoznat příjemce kadaverózních ledvin, u nichž byl následně opožděn rozvoj funkce štěpu a kteří potřebovali dialyzační léčbu (zpravidla za dva až čtyři dny). Křivka operační charakteristiky pro předpověď opožděného rozvoje funkce štěpu na základě koncentrace IL-18 v moči v den 0 vykazovala v obou studiích AUC = 0,9.

V poslední době se zjistilo, že koncentrace NGAL a IL-18 v moči představují významné biomarkery u dětí podstupujících kardiochirurgické výkony. U pacientů, u nichž došlo k rozvoji AKI dva až tři dny po operaci, se NGAL začal vylučovat do moči do dvou hodin po výkonu, přičemž maximální hodnoty dosáhla jeho koncentrace po šesti hodinách. Koncentrace IL-18 v moči se zvýšila zhruba po šesti hodinách a maxima dosáhla 12 hodin po operaci. Hodnoty obou markerů – koncentrace NGAL i IL-18 – nezávisle korelovaly s trváním AKI.

IL-18 je tedy též slibným kandidátem pro zařazení do teoretického močového „AKI-panelu“. IL-18 je specifičtější pro ischemické akutní poškození ledvin a jiné formy akutní tubulární nekrózy a jeho koncentrace zřejmě ani není ovlivněna prerenální hyperazotémií, chronickým onemocněním ledvin či infekcí močových cest. IL-18 současně nabízí prognostické informace týkající se závažnosti a mortality již v době stanovení diagnózy AKI.

Literatura

Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, et al. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int* 2008;73:1008–1016.
Herget-Rosenthal S, Poppen D, Husing J, et al. Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin Chim* 2004;50:522–558.
Mishra J, Dent C, Tarabishi R, et al. NGAL as a biomarker of acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231–1238.
Wagner G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary NGAL and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006;105:485–491.

Nové poznatky o tukové tkáni u chronických chorob ledvin

Axelsson J. The emerging biology of adipose tissue in chronic kidney disease: from fat to facts. *Nephrol Dial Transpl* 2008;23:3041–3046.

Motto: Žádná dieta neodstraní všechny tuk z těla, protože vždy zůstane tuk v mozku. Bez mozku můžete sice dobře vypadat, ale jedině, co můžete dělat, je státní služba. G. B. Show

Přes toto varování (nebo právě kvůli němu) celosvětově roste incidence obezity společně s diabetem 2. typu a hypertenzí. Navíc, metabolický syndrom (i bez hypertenze a diabetu) předsta-

vuje významný rizikový faktor pro nemocné s chronickým onemocněním ledvin (CKD) s ohledem na rozvoj proteinurie a progresu onemocnění. Pro nefrology to znamená nejen nárůst těchto nemocných v ambulanci, na dialýze či po transplantaci, ale i otázku, zda obezita samotná vyvolá renální onemocnění a zda zhoršuje jeho prognózu. Ačkoli některé studie u dialyzovaných nemocných prokazují krátkodobě pozitivní výsledky u nemocných s obezitou, resp. vyšším BMI, je nepochybné, že významnou roli hraje distribuce tuku – zda se jedná o tuk viscerální či podkožní a jaké je zastoupení svalové hmoty. Zjišťovaný pozitivní efekt bude nejspíše souviset s vyšším zastoupením svalové tkáně spolu s tukem podkožním, což standardní měření BMI nemůže posoudit.

Je složení tuku u nefrologických nemocných jiné?

Obecně je přijímáno, že obezita vyvolá inzulinovou rezistenci v souvislosti s periferní poruchou metabolické dráhy inzulinu při zvýšených hodnotách cirkulujících volných mastných kyselin, částečně i zvýšených markerech zánětu. Předpokládá se též, že tuková tkáň centrálně zasahuje do metabolického obratu lipidů a poruch glykoregulace. Uplatňuje se vliv adipokinů produkovaných tukovou tkání, porušené endokrinní kontroly inzulinové senzitivity, nutriční apetence a sekvestrace volných mastných kyselin ve formě triglyceridů. Rozvoj obezity je spojen s hypertrofií jednotlivých adipocytů a přeměnou tkáňových markofágů vedoucí k proinflamační roli tukové tkáně. Ta dále stimuluje lipolýzu v adipocytech, inhibuje další produkci triglyceridů, a tím systémově zvyšuje inzulinovou rezistenci.

U nemocných s CKD je obezita často spojena s metabolickým syndromem, doprovodnou dyslipidémií, inzulinovou rezistencí a hypertenzí. V žádné dostupné experimentální studii však nebyla prokázána změněná role tukové tkáně u nemocných se selháním ledvin včetně změn na buněčné úrovni. Jsou zde však přítomny odchylky typické pro postižení ledvin: zvýšená hodnota volných mastných kyselin, až pětinašobně vyšší koncentrace leptinu a částečně i adiponektinu ve srovnání se zdravými jedinci. Adipokiny se zvyšují paralelně s poklesem glomerulární filtrace, a to v souvislosti s poruchou jejich metabolické renální degradace. Z tohoto aspektu je přítomnost tukové tkáně při selhání ledvin rizikovější.

Tuková tkáň jako největší endokrinní žláza v těle

V minulých desetiletích byla objevena řada adipokinů produkovaných tukovou tkání, které významně zasahují do metabolických pochodů v těle. Zvláště je věnována velká pozornost adiponektinu, adipokinu schopnému ovlivnit jaterní a svalovou inzulinovou rezistenci, zlepšit endoteliální dysfunkci a blokovat proinflamační aktivitu. Z tohoto aspektu je produkt adipocytů, adiponektin, funkčním protihráčem ostatním adipokinům. Dle některých studií však paradoxně jeho koncentrace klesá při úbytku tukové tkáně. U nemocných s CKD je koncentrace adiponektinu zvýšena ve srovnání se zdravými jedinci. Současně však bylo prokázáno, že pokles adiponektinu u CKD znamená zvýšené kardiovaskulární riziko. Z hlediska analytického je důležité, že adiponektin se vyskytuje v několika izoformách, které nejsou stejně biologicky účinné. Jejich rozlišení standardním stanovením ELISA však není možné. Existují nejméně dva specifické adiponektinové receptory, Adipo R1 a R2, jejichž současná blokáda je spojena se zvýšeným obsahem triglyceridů v tkáni, zvýšeným oxidačním stresem a inzulinovou rezistencí. K této up-regulaci může dojít v krevních mononukleárech u nemocných v dlouhodobém dialyzačním léčení. Protože exprese Adipo R1 a R2 je vícenásobně vyšší ve svalu než v tukové tkáni, zachovalá svalová hmota u nemocných s CKD velmi význam-

ně ovlivňuje – a to bez ohledu na tukovou tkáň – i metabolickou kompenzaci nemocných.

Adipokiny jako uremické toxiny zprostředkující anorexii

V recentní experimentální studii u uremických potkanů zjistili Mak a spol., že signální dráha leptinu může centrálně ovlivnit vznik anorexie. Blokádou této signální dráhy prostřednictvím suprese hypothalamického receptoru pro melanokortin 4 je dosaženo vzestupu tělesné hmotnosti zvířat. Z tohoto aspektu byl sledován i nikotinamid fosforyltransferáza (Nampt), známý jako vistatin, a PBEF-I (pre-beta cell colony-enhancing factor I). Tento adipokin může být mediátorem inzulinové rezistence v selektivně up-regulované tukové tkáni inzulinorezistentních potkanů. U nemocných s diabetem byly zjištěny zvýšené koncentrace Nampt, které mohou zasahovat na buněčné úrovni do metabolické regulace během hladovění. U nemocných s CKD zvýšená koncentrace Nampt dále zasahuje i do procesu endoteliální dysfunkce a uremické anorexie.

Tuková tkáň, kost a hypertenze

Vedle řady nepříznivých vlivů, vyvolaných zvýšenou expresí proinflamačních cytokinů v tukové tkáni, je v poslední době věnována pozornost vlivu obezity na metabolismus kosti. Některé recentní studie prokazují přímou korelaci mezi rozvojem osteoporózy a přírůstkem tukové tkáně, a to jak u starších, tak i mladších jedinců. Zajímavé je zjištění recipročního vztahu mezi obsahem tuku v kostní dřeni a úbytkem kostní hmoty. Nález podporuje teorii, že osteoblasty a adipocyty mají společnou progenitorovou buňku. Další výzkum by měl prokázat, zda dochází k preferenční diferenciaci stromálních buněk z osteoblastů na adipocyty, či zda se jedná o pasivní akumulaci tuku v méně aktivní části kosti. Zajímavé je sdělení, že adiponektin a leptin mohou ovlivnit kostní obrát, zatímco osteokalcin může stimulovat expresi inzulinu z beta-buněk a adiponektinu z adipocytů.

Další významnou oblastí je vztah mezi tukovou tkání a nervovým systémem. Viscerální obezita je spojována se zvýšeným rozvojem rizika hypertenze. Tuková tkáň se výrazně podílí na aktivaci systému RAAS, a to na místní i systémové úrovni. Opakovaně byla prokázána zvýšená aktivita sympatického nervového systému a jeho receptorů, centrálně i orgánově (např. v ledvinách I1 imidazolinové receptory). U nemocných s CKD a zvýšenou aktivitou sympatiky při obezitě se významně zvyšuje zpětná resorpce Na v proximálním tubulu a vzrůstá obsah směnitelného Na v těle.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

Obezita představuje v současné době jedno z hlavních epidemiologických rizik pro stárnoucí populaci nefrologických nemocných. Prevalence ESRD v USA se v posledním desetiletí zdvojnásobila a v roce 2010 se předpokládá 650 000 nemocných. Studií zabývajících se problematikou obezity u nefrologických nemocných v poslední době rychle přibývá.

Hyperinzulinémie stimuluje systém renin-angiotensin-aldosteron, aktivuje prorůstové faktory IGF-1 a IGF-2. Uplatňují se adipocytokiny, především leptin. Hyperleptinémie vede k up-regulaci cytokinů TGFβ, což se jednak může podílet na akcentaci proteinurie, jednak to může dále vést k fibrotizaci intersticia ledviny. Často přítomná hyperlipidémie především prostřednictvím LDL receptorů ovlivňuje kaskádu profibrogenních cytokinů. Zvýšená koncentrace resistinu a snížená koncentrace adiponektinu též přispívá k prohloubení inzulinorezistence. Může být zvýšena i koncentrace asymetrického dimethylargininu, která

prostřednictvím NO řídí míru vazodilatace propustnosti kapilár. V tukové tkáni se zmnožují a zvětšují adipocyty, ale i stromální vymezená tkáň. Tuková tkáň produkuje mnoho aktivních cytokinů (leptin, adiponektin, resistin, TNF α , IL-6), PAI-1, volné mastné kyseliny, angiotensinogen a lipoproteinovou lipázu. Často bývá zvýšena i koncentrace proinflamačního markeru vysoce senzitivního C-reaktivního proteinu (hsCRP).

Z řady studií včetně našich je zřejmé, že se významně liší svým účinkem tuk viscerální a subkutánní a že se také liší exprese jednotlivých adipokínů. Vyšetření lean body mass se provádí nejčastěji pomocí antropometrie, DEXA, bioimpedančně či MR.

Obezita představuje jeden ze závažných rizikových faktorů i u nemocných po transplantaci ledviny, který ovlivňuje dlouhodobou prognózu. Je charakterizována zmnožením tuku s predispozicí v oblasti hrudníku a břicha (obezita viscerálního – abdominálního typu). Prevalence obezity transplantovaných je vysoká, pohybuje se nyní mezi 20–30 % v prvním roce po transplantaci. Obezita je často sdružena s dalšími poruchami, především hypertriglyceridemií, inzulinovou rezistencí, hyperglykemií na lačno a hypertenzí. Nemocní po transplantaci ledviny tak představují významnou rizikovou skupinu. Již primární renální onemocnění je často spojeno s proteinurií a následná dialyzační léčba pak s chronickými zánětlivými procesy. Úspěšná transplantace obnoví renální funkci, což představuje pozitivní faktor z hlediska metabolické clearance řady látek. Na druhé straně, dlouhodobé podávání imunosupresivních látek, především prednisonu, a často vyšší přísun energie v potravě vedou k častému rozvoji obezity a v řadě případů k rozvoji metabolického syndromu.

Hlavní riziko obezity po transplantaci však spočívá v ovlivnění mortality při rozvoji kardiovaskulárních komplikací. Kardiovaskulární komplikace jsou nejčastější příčinou úmrtí nemocných po úspěšné transplantaci ledviny. Dalším významným faktorem je i zvyšující se průměrný věk nemocných, kteří jsou indikováni k transplantaci, ale i zvyšující se zastoupení diabetiků v čekací listině.

Zmnožení tukové tkáně v organismu lze charakterizovat pomocí body mass indexu (BMI) a pomocí jednoduchých antropometrických vyšetření, např. obvodu pasu a boků a jejich poměru. Hodnota BMI však neodráží přesný podíl tuku a beztukové hmoty (ženy a starší lidé mají vyšší procento tuku). Procento tělesného tuku (a tím současně i beztukové tkáně, tzv. lean body mass) lze přesněji určit pomocí kaliperu, bioimpedancí, hydrodenzitometrií či pomocí DEXA. V posledním desetiletí se objevily studie umožňující přímé sledování změn objemu tuku v těle pomocí magnetické rezonance (MR zobrazovací a MR spektroskopie).

Obezita u transplantovaných nemocných je viscerálního typu u mužů i u žen. Tento typ obezity u žen je dán i poklesem hormonálních aktivit během dialyzační léčby a předčasným nástupem menopauzy. Závažné je spojení obezity s dalšími rizikovými faktory, především inzulinovou rezistencí a hyperglykemií na lačno či již rozvojem diabetu 2. typu. Dále pak se závažnou dyslipidemií, především hypertriglyceridemií a hypertenzí. Časté jsou i zvýšené koncentrace leptinu, homocysteinu, konečných produktů pokročilé glykace (AGE) a asymetrického dimethylargininu. Současně jsou sníženy koncentrace adiponektinu.

U transplantovaných nemocných je obezita ve více než 80 % sdružena se závažnou hypertenzí, na jejímž mechanismu se může účastnit významnou změnou jak aktivace sympatického nervového systému (zvýšená hodnota leptinu a interakce neuropeptidů – především neuropeptidu Y v hypothalamu), tak aktivace systému RAS. Je zvýšena zpětná reabsorpce Na (především v Henleově kličce) a periferní vaskulární rezistence. Iniciální glomerulár-

ní hyperfiltrace může být spojena i s aktivací celulórní proliferace (lokální růstové faktory a cytokiny), zmnožením intra- a extracelulórní matrix až s rozvojem glomerulosklerózy a zánikem nefronu. V tukové tkáni při závažných formách obezity dochází nejen k hypertrofii, ale též k hyperplazii adipocytů, což je spojeno s lokálním účinkem adipogenních faktorů zahrnujících inzulin, glukokortikoidy, T3, cAMP, zatímco cytokiny (IL-1b, TNF α a β) jsou potenciálními inhibitory diferenciací.

Na rozvoji obezity se z patogenetického hlediska podílejí jak faktory genetické, tak i faktory vnější. Ačkoli genetické faktory obezity nejsou dosud jednoznačně objasněny, v poslední době je věnována pozornost leptinu, jeho receptorům a také ghrelinu, který byl objeven jako přirozený ligand receptoru růstového hormonu. Vysoká exprese jeho mRNA v GIT a CNS dala vzniknout teorii, že ghrelin by mohl být spojovacím článkem mezi GIT a centry regulace příjmu potravy. Ghrelin tvoří antagonický pár s leptinem, blokuje totiž leptinem navozené omezení příjmu potravy.

Tuková tkáň je i sekrečním orgánem, neboť adipocyty produkují leptin, adiponektin, resistin, TNF α , FFA, PAI-1, IL-6, angiotensinogen a lipoproteinovou lipázu. Pozornost řady autorů se soustředila na analýzu adipocytokinu adiponektinu (ADN). ADN má m. hm. 30 kD a jeho nízká plazmatická koncentrace je dávána do souvislosti se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem. Ačkoli u nemocných se sníženou renální funkcí a po transplantaci ledviny jsou hodnoty v důsledku částečného metabolického bloku vyšší, než by odpovídalo běžné populaci, jeho nízké hodnoty odpovídají zvýšenému riziku. Protihráčem ADN je zřejmě i resistin (12,5 kD), jehož zvýšené koncentrace korelují s hodnotami markerů aterosklerotického zánětu.

Literatura

- Di Iorgi N, Rosol M, Mittelman SD, et al. Reciprocal relation between bone marrow adiposity and the amount of bone in skeleton of adults. *J Clin Endocrin Metabol* 2008;93:2281–2286.
- Kramer HJ, Saranathan A, Luke A, et al. Increased body mass index and obesity in the incident ESRD population. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1453–1459.
- Mak RH, Cheung W, Cone RD, et al. Leptin and inflammation-associated cachexia in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2006;69:794–797.
- Wahba IM, Mak RH. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome links to chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:550–562.

FSP1 jako možný prediktor odpovědi na kortikosteroidy u nemocných s IgA nefropatií

Harada K, Akai Y, Yamaguchi Y, Kimura K, Nishitani Y, Nakatani K, Iwano M, Saito Y. Prediction of corticosteroid responsiveness based on fibroblast-specific protein 1 (FSP1) in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:3152–3159.

Kortikosteroidy patří mezi základní strategie léčby IgA nefropatie. Podle japonských guidelines pro léčbu IgA nefropatie jsou indikovány u nemocných s glomerulární filtrací > 70 ml/min/1,73 m², proteinurií > 0,5 g/den a aktivními histologickými změnami v renální biopsii. Problémem ale zůstává, jak monitorovat úspěšnost léčby či odpověď na ni, v indikaci takto „malých“ močových nálezů. Vystavovat nemocné riziku další renální biopsie je nepřijatelné. Proto se hledají faktory, které by mohly přispět k řešení tohoto problému. Jedním z nich, který by mohl sloužit k monitoraci aktivity IgA nefropatie a přítomnosti fibrózy je FSP1 – fibroblast-specific protein 1. Tento protein je specifickým markerem aktivovaných fibroblastů a bylo prokázáno, že fibroblasty pozitivní na FSP1 se akumuluji v oblastech významné intersticiální fibrózy v ledvinách (Strutz, 1995; Iwano, 2004).

Autoři komentovaného článku ve svých předchozích pracích ukázali, že větší množství FSP1⁺ fibroblastů v renální tkáni (≥ 20 FSP1⁺ fibroblastů/na zorné pole mikroskopu) je spojeno s horší renální prognózou (Nishitani, 2005). Toto pozorování využili při hodnocení odpovědi nemocných na kortikosteroidy.

Do studie bylo zařazeno 50 nemocných (20 mužů a 30 žen; průměrný věk $38,2 \pm 13,0$ let) s IgA nefropatií, která byla potvrzena renální biopsií. Vyřazeni byli ti, kteří měli projevy Henoch-Schoenleinovy purpury či jiného systémového onemocnění. Podmínkou zařazení byla proteinurie/24 h $> 0,5$ g (rozmezí mezi 0,5–9,6 g; průměr 2,4 g) a aktivní změny v renální biopsii (celulární či fibrocelulární srpký, mesangiální proliferace a přítomnost zánětlivé celulizace v intersticiu). Za reprezentativní byla považována renální biopsie s > 10 glomeruly. Průkaz FSP1⁺ byl ve vzorcích renální biopsie prováděn pomocí anti-FSP protilátky (DAKO Envision + System peroxidase), a byly následně obarveny hematoxylinem. Počet FSP1⁺ buněk byl počítán v 10 náhodně vybraných zorných polích mikroskopu dvěma nezávislými patologi a jejich výsledky zprůměrovány.

Pacienti obdrželi léčbu prednisolonom v dávce 30 mg/den po dobu šesti měsíců, po které se dávka pomalu snižovala a terapie byla ukončena po dvou letech. Současně bylo 31 nemocných léčeno inhibitory ACE, 38 nemocných blokátory receptorů AT₁ pro angiotensin II a všichni pak protidestičkovou terapií. Pacienti, u kterých byl na konci sledování vzestup sérového kreatininu (S_{kr}) < 100 % a snížení glomerulární filtrace < 50 % oproti vstupním hodnotám a současně pokles proteinurie $< 1,0$ g/den, byli označeni jako responderi. V opačném případě šlo o non-responder. Průměrná doba sledování byla sedm let.

Na konci sledovaného období bylo za respondery označeno 38 nemocných, 12 zbylých nesplňovalo všechna potřebná kritéria a byli označeni za non-responder (pět z nich mělo stabilní renální funkci, ale přetrvávala u nich proteinurie > 1 g/24 h). Při porovnání skupin responderů a non-responderů se ukázalo, že se lišily ve vstupních parametrech S_{kr} ($1,0$ vs. $1,4$ mg/dl, $p = 0,0109$) a glomerulární filtrace ($68,8$ vs. $43,0$ ml/min/1,73 m², $p = 0,0142$). Skupina responderů navíc měla v průběhu celého sledování stabilní renální funkci, zatímco non-responderi měli na konci sledovaného období glomerulární filtraci výrazně sníženou v porovnání se vstupními hodnotami ($p < 0,05$). U obou skupin bylo zaznamenáno výrazné snížení proteinurie ($p < 0,05$) během sledovaného období, tento pokles byl ale podstatně vyšší u skupiny responderů v porovnání s non-responderem ($p < 0,05$). Skupina responderů zaznamenala také na konci sledování signifikantní snížení krevního tlaku a vzestup koncentrace celkové bílkoviny v porovnání se vstupními parametry ($p < 0,05$), zatímco tyto změny nebyly pozorovány ve skupině non-responderů.

Z hlediska histologického vyhodnocení bylo prokázáno, že non-responderi měli v renální biopsii podstatně těžší mesangiální proliferaci a vyšší procento intersticiálního poškození. Současně u nich byl zaznamenán větší počet FSP1⁺ buněk. Za faktory, které byly spojeny s omezenou odpovědí na kortikosteroidy (tedy řadily dané jedince do skupiny non-responderů), byly prokázány glomeruloskleróza ve vzorku (globální či segmentální) $> 53,5$ % (se senzitivitou 0,5 a specificitou 0,95) a počet FSP1⁺ buněk $> 32,6$ /zorné pole (senzitivita 0,75, specificita 0,87). Počet FSP1⁺ buněk pozitivně koreloval s koncentrací S_{kr} ($p = 0,0003$) a negativně s glomerulární filtrací ($p = 0,0019$), současně byla nalezena pozitivní korelace mezi počtem těchto buněk a procentuálním zastoupením glomerulární sklerózy a rozsahem intersticiální fibrózy. Při statistickém zpracování výsledků jednorozměrovou Coxovou regresní analýzou bylo

jako faktorů ovlivňujících odpověď na kortikosteroidy nalezeno několik proměnných (včetně glomerulární filtrace, proteinurie, procentuálního zastoupení glomerulosklerózy a FSP1⁺ buněk), při současném použití dvou ko-variant byl jako jediný faktor, který ovlivňuje odpověď na kortikosteroidy, identifikován počet FSP1⁺ buněk.

Závěrem lze tedy konstatovat, že by stanovení počtu FSP1⁺ buněk ve vzorcích renální biopsie nemocných s IgA nefropatií mohlo být velmi užitečným faktorem predikce odpovědi na kortikosteroidy a mohlo by tedy některé nemocné ušetřit podávání kortikosteroidů, léků s četnými nežádoucími účinky.

■ KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.

Je všeobecně známo, že IgA nefropatie je nejčastěji se vyskytující primární glomerulonefritidou bez ohledu na etnikum. Původní představy o benigním průběhu tohoto onemocnění jsou ale v poslední době překonány a ukazuje se, že 5–25 % nemocných vyvine terminální stadium chronického onemocnění ledvin během deseti let od stanovení diagnózy IgA nefropatie a v horizontu 20 let je to 25–50 % nemocných (Alamartine, 1991). Mezi nejrizikovější faktory ovlivňující rychlost této progresy patří perzistence a velikost proteinurie, snížená renální funkce v době diagnózy a samozřejmě přítomnost hypertenze a její kompenzace (D'Amico, 2000). Mezi další faktory, přispívající ke špatné prognóze onemocnění, se řadí některé histologické změny, jako například přítomnost srpků, tubulární poškození a rozsah fibrózy v intersticiu (Daniel, 2000).

Z hlediska přínosu nových poznatků o IgA nefropatii a její léčbě není tato práce průlomová, jelikož potvrzuje to, co je již delší dobu známo, a to že prognóza IgA nefropatie, a do určité míry i její odpověď na terapii kortikosteroidy, závisí na faktorech vyjmenovaných výše. V čem je ale nepochybný přínos tohoto sdělení je fakt, že byl nalezen určitý faktor, který se dá poměrně jednoduše stanovit ve vzorcích renální biopsie, a dále, že bylo definováno kvantitativní množství FSP1⁺ buněk, které je klíčové pro odpověď na terapii kortikosteroidy. Zda je toto číslo (32,6 FSP1⁺ buněk/na zorné pole) skutečně přesné, by měly ověřit větší studie. Některé další práce popsaly expresi FSP1 i v jiných buňkách než jen fibroblastech, a to na povrchu tubulárních epitelálních buněk, které se vyskytují v okolí fibrótických ložisek (tzv. EMT – epithelial-mesenchymal transition) (Iwano, 2002). Tyto buňky se ale nakonec transformují do fibroblastů, a tak metoda stanovení FSP1⁺ buněk může odhalit i jakési „prekursory“ fibroblastů, které jsou pro odpověď na léčbu kortikosteroidy také velmi důležité.

Určitým metodologickým problémem při tomto způsobu vyšetřování může být lidský faktor (odečítající patolog), a tak by bylo k uvažování, zda tuto metodu nevylepší např. navázáním protilátky s izotopem či jiným agens, jehož aktivitu by bylo možné detekovat přístrojově. Nepochybně zajímavé by rovněž bylo, kdyby byly k dispozici i renální biopsie po určité době léčby a bylo možné posoudit, zda došlo k poklesu FSP1⁺ buněk po terapii kortikosteroidy či zda jsou lepší výsledné parametry dány i jinými mechanismy či změnami. Z této práce vyplynulo a je do určité míry zajímavé, že množství FSP1⁺ buněk korelovalo (kromě laboratorních dat) jen s některými histologickými změnami, a sice procentuálním zastoupením sklerotických glomerulů, rozsahem intersticiálního poškození a zánětlivé infiltrace intersticia a závažností arteriolosklerózy. Nebyla nalezena korelace mezi počtem FSP1⁺ buněk a procentuálním zastoupením srpků v renální biopsii. To by tedy nepřímě dokládalo tvrzení některých autorů, že kombinovaná imunosupresivní léčba v případě srpkovitě IgA nefropatie

nemá zásadní vliv na celkovou prognózu onemocnění, na rozdíl od přítomnosti fibrózních změn (Strippoli, 2003).

Ne zcela jasně bylo v práci definováno, kolik nemocných uživalo antihypertenzní léčbu, jaký druh a kolik jich mělo doporučenou kombinaci inhibitoru ACE + blokátoru receptorů AT₁ pro angiotensin II, což je léčba ovlivňující nejen proteinurii, ale potlačující i produkci některých růstových faktorů, které mohou přispívat k fibrogenезi.

Literatura

- Alamartine E, Sabatier JC, Guerin C, et al. Prognostic factors in mesangial IgA glomerulonephritis: an extensive study with univariate and multivariate analysis. *Am J Kidney Dis* 1991;18:12–19.
- D'Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy: role of clinical and histological prognostic factors. *Am J Kidney Dis* 2000;36:227–237.
- Daniel L, Saingra Y, Giorgi R, et al. Tubular lesions determine prognosis of IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2000;35:13–20.
- Iwano M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004;13:27–284.
- Iwano M, Plieth D, Danoff (tm), et al. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* 2002;110:341–350.
- Nishitani Y, Iwano M, Yamaguchi Y, et al. Fibroblast-specific protein 1 is a specific prognostic marker for renal survival in patients with IgAN. *Kidney Int* 2005;68:1078–1085.
- Strippoli GF, Manno C, Schena FP. An „evidence-based“ survey of therapeutic options for IgA nephropathy: assessment and criticism. *Am J Kidney Dis* 2003;41:1129–1139.
- Strutz F, Okada H, Lo CW, et al. Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. *J Cell Biol* 1995;130:393–405.

Využití metody QuantiFERON v diagnostice tuberkulózy u dialyzovaných nemocných

Winthrop KL, Nyendak M, Calvet H, et al. Interferon-gamma release assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection in renal dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1357–1363.

Osoby s chronickým selháním ledvin jsou zvýšeně ohroženy různými infekcemi. Důvodem je porucha imunitního systému, jejíž přesná podstata nebyla dosud objasněna, avšak souvisí s přítomností urémie (Girndt, 1999). Riziko vzniku tuberkulózy (TBC) je u pacientů s chronickým selháním ledvin dle různých studií 8–25krát vyšší než u běžné populace. Odhalit tuberkulózu u těchto pacientů může být poměrně obtížné, neboť bývá nezdědká lokalizována extrapulmonálně a její vývoj probíhá bezpříznakově. S ohledem na útlum imunitního systému vyvstává zvýšené riziko falešně negativních výsledků kožních testů na tuberkulózu (u nás obvykle označeno jako tuberkulinový test či test reakce vůči purifikovanému proteinovému derivátu – PPD test). U hemodialyzovaných pacientů byl popsán zvýšený výskyt kožní anergie na antigeny mikroorganismů, např. kandidy, či původců příušnic či tetanu. Navíc, podobně jako u imunokompetentních pacientů, nelze vyloučit falešnou pozitivitu PPD testu u osob s prodělanou infekcí jinými mykobakteriemi či po vakcinaci BCG. Nově vyvinuté krevní testy by mohly přispět k usnadnění screeningu latentní TBC infekce u pacientů s chronickým selháním ledvin. Principem testu QuantiFERON-TB Gold® (QFT-G) je měření tvorby interferonu- γ (IFN- γ) senzitivizovanými lymfocyty poté, co došlo ke stimulaci plné krve TBC antigeny. Další nový diagnostický test, založený na metodě ELISA (ELISPOT), hodnotí počet reaktivních lymfocytů T, které uvolňují IFN- γ při tuberkulózní antigenní stimulaci. Testy vyhodnocují imunitní odpověď na dva antigenní podněty, a to na Culture Filtrate Protein 10 (CFP-10) a na Early Secretory Antigen 6 (ESAT-6), které jsou kódovány RD-1 částí genomu *M. tuberculosis* (nepřítomného u BCG kmenů či u jiných mykobakterií). Uvedené testy jsou proto pro průkaz latentní TBC infekce specifitější než PPD test, který je založen na reakci vůči

purifikovanému proteinovému derivátu. Do současnosti byly pouze omezené zkušenosti se screeningem latentní TBC infekce u imunosuprimovaných pacientů, včetně pacientů s chronickým selháním ledvin. V roce 2003 byl v hemodialyzačním středisku v Jižní Karolíně zjištěn případ TBC u pacienta; v této návaznosti byl stanoven cíl vyšetřit další pacienty z daného hemodialyzačního střediska na přítomnost latentní TBC infekce novými screeningovými metodami (QFT-G a ELISPOT), resp. standardním PPD testem, a identifikovat faktory ovlivňující pozitivní nálezy.

Studie byla koncipována jako součást multicentrické studie zaměřené na vyhodnocení nových testů detekujících latentní TBC infekce. Studie byla zahájena 11 týdnů poté, co pacient s prokázanou TBC odešel z mateřského hemodialyzačního střediska. Pacientem s prokázanou TBC byl 64letý muž pravidelně hemodialyzovaný třikrát týdně, u kterého se jeden měsíc před diagnózou TBC objevil ascites, následně produktivní kašel. Pro zhoršení stavu byl přechodně dialyzován denně, následně hospitalizován. Podezření na TBC (pleurální výpotky, plicní infiltráty, nález acidorezistentních bacilů v nátěru sputa při mikroskopickém vyšetření) bylo potvrzeno izolací *M. tuberculosis* z peritoneální tekutiny a sputa. Ze souboru vyšetřovaných byli vyřazeni pacienti léčení v minulosti pro TBC/latentní TBC infekci či s pozitivním výsledkem PPD testu s indurací ≥ 10 mm. U všech zbylých pacientů hemodialyzačního střediska byly provedeny tři testy na průkaz TBC. Test PPD byl proveden s podáním 0,1 ml purifikovaného proteinového derivátu; 48–72 h po podání byla odečtena kožní reakce a vyhodnocena jako pozitivní v případě indurace ≥ 5 mm. Pro stanovení testů QFT-G a ELISPOT byla pacientům odebrána plná krev před napojením na hemodialyzační přístroj; výsledky byly vyhodnoceny dle dříve popsaných metodik. V odstupu 16 týdnů od expozice TBC byl proveden další odběr krve ke stanovení reprodukovatelnosti testů QFT-G a ELISPOT, podobně byl zopakován PPD test, v případě předchozí pozitivní reakce. Jako pozitivní byli označeni pacienti s pozitivním nálezem při prvním či opakovaném vyšetření jedním ze tří použitých TBC testů. U všech pacientů byla hodnocena možná expozice TBC v závislosti na pravděpodobné míře kontaktu s dialyzovaným pacientem, u kterého byla zjištěna TBC. V úvahu byly brány především dva faktory: a) zda byl hodnocený pacient dialyzován souběžně s pacientem s TBC (ano = kontakt, ne = žádný kontakt), b) v jaké blízkosti k pacientovi s TBC se vyšetřovaná osoba nacházela (žádný kontakt = A, B ≥ 5 m od TBC pacienta, C ≤ 5 m od TBC pacienta).

Do souboru vyšetřovaných pacientů byli zařazeni nemocní dialyzovaní v různých hemodialyzačních směnách (z toho definitivně vyhodnoceno pro test PPD $n = 100$, pro QFT-G $n = 94$ a pro ELISPOT $n = 97$ pacientů). Medián věku byl 55 let (rozmezí 18–90 let), 47/100 pacientů se narodilo mimo USA („cizinci“) a 55/100 pacientů byli muži. Celkem 58/100 pacientů bylo považováno za kontakty, přičemž průměrná doba expozice TBC byla 18 h (rozmezí 1–52 h). Test PPD byl pozitivní u 26 % pacientů, QFT-G byl pozitivní u 22 % pacientů a ELISPOT u 28 % pacientů. Reprodukovatelnost testů (shoda mezi iniciálním a opakovaným testem) byla pro oba nové testy (QFT-G a ELISPOT) 85 %. U pacientů s kontaktem byla zvýšená pravděpodobnost positivity nových testů (u QFT-G $p = 0,02$, u ELISPOT $p = 0,04$), nikoli však PPD testu ($p = 0,7$). Pozitivní výsledky PPD testu byly vázány na zahraniční původ pacienta ($p = 0,04$) a na uskutečnění PPD testu v předchozím roce ($p = 0,04$). Pozitivní testy IFN- γ jsou úžeji vázány na předchozí expozici TBC než standardní PPD test. Lze předpokládat, že QFT-G a ELISPOT mohou být výhodnými metodami pro detekci TBC u nemocných s chronickým selháním ledvin.

Testové otázky: Přesvědčte se, jak pozorně jste četli toto číslo – zkuste zodpovědět naše otázky

Prevence a časná detekce chronického onemocnění ledvin

1. Které faktory jsou považovány za zvláště důležité při uplatnění/zveřejnění zdravotní problematiky ve zpravodajských médiích?

- a) důvěryhodnost informačních zdrojů, poskytování tiskových (odborných) zpráv masmédiím a čtivost (resp. TV atraktivnost)
- b) schopnosti vedoucích zdravotní rubriky či programu a vhodný výběr představitelů odborné komunity
- c) výběr vhodného tématu, který se týká co největšího počtu laické populace
- d) výběr vhodného tématu, který je spojen s novými objevy ve zdravotnictví

Močový cystatin C jako časný biomarker akutního poškození ledvin při kardiovaskulární chirurgii

2. Zvýšení plazmatické koncentrace kreatininu:

- a) se vyskytuje současně se zvýšením koncentrace cystatinu C a NGAL při časně detekci akutního poškození ledvin
- b) předchází zvýšení plazmatických koncentrací cystatinu C a NGAL, ale ne koncentrací v moči
- c) opoždí se až o 1–2 dny po zvýšení koncentrací cystatinu C a NGAL v moči
- d) nemá časovou vazbu na cystatin C a NGAL

Nové poznatky o tukové tkáni u chronických chorob ledvin: od tuku k faktům

3. Přítomnost většího množství viscerálního tuku u nemocných s CKD je ve srovnání s běžnou populací z hlediska kardiovaskulárního rizika:

- a) méně rizikové
- b) stejně rizikové
- c) zvýšeně rizikové
- d) riziko neovlivňuje

FSP1 jako možný prediktor odpovědi na kortikosteroidy u nemocných s IgA nefropatií

4. Znak FSP1 se exprimuje na povrchu:

- a) fibroblastů
- b) fibroblastů a EMT (tzv. epithelial-mesenchymal transition) buněk
- c) tubulárních epitelálních buňkách a makrofágů

5. Rozhodující pro odpověď na terapii kortikosteroidy u nemocných s IgA nefropatií je počet FSP1⁺ buněk:

- a) < 32 buněk/zorné pole
- b) > 33 buněk/zorné pole
- c) > 52 buněk/zorné pole

Využití metody QuantiFERON v diagnostice tuberkulózy u dialyzovaných nemocných

6. Podstatou nových dvou testů QuantiFERON-TB Gold® a ELISPOT je stanovení imunitní reakce na specifické TBC antigeny, měřena dle tvorby a uvolňování:

- a) interferonu- γ
- b) interferonu- α
- c) interferonu- β
- d) tumor necrosis factoru- α

7. Výhodou nových dvou nových testů QuantiFERON-TB Gold® a ELISPOT při detekci TBC je proti standardnímu tuberkulinovému testu:

- a) užití specifitějších TBC antigenů, vyšetření z jednorázového odběru krve, absence případné antigenní stimulace organismu, vyloučení subjektivního hodnocení
- b) nižší cena
- c) širší dostupnost
- d) možnost odhadnout potřebu vakcinace proti TBC

Správné řešení z minulého čísla: 1a, 2b, 3c, 4d, 5b, 6d, 7c, 8a