

z různých důvodů snížena (klasickým příkladem je rekombinantně vytvořený erythropoetin podávaný nemocným s anémií renálního původu, recentnějším příkladem je zavedení tzv. náhradní enzymové terapie enzymem α -galaktosidázou podávané nemocným s Fabryho chorobou, u nichž je tvorba tohoto enzymu vrozeně snižena či chybí). Další příkladem netradiční aplikace výsledků v oblasti molekulární biologie je výzkum *propustnosti peritoneální membrány*. Zatímco předchozím výzkumem byly identifikovány geny z rodiny aquaporinů (AQP) uplatňujících se při nefrogenním diabetes insipidus (AQP2), podařilo se nově prokázat význam genů AQP1 pro propustnost peritoneální membrány, což představuje klinický význam pro nemocné léčené peritoneální dialýzou (Ni J, 2006). Značné úsilí je rovněž věnováno možnostem klinického uplatnění genové terapie, farmakogenetiky a dalším metodám či disciplínám založeným na použití technik molekulární biologie.

Závěrem lze uvést, že vývoj v oblasti vrozených a dědičných onemocnění ledvin prodělává svůj „zlatý věk“, dále, že „hon“ na geny pokračuje a že aplikace metod molekulární biologie se rozšiřují daleko za rámec pouhé diagnostiky těchto onemocnění.

Literatura

- Badano JL, Mitsuma N, Beales PL, Katsanis N. The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2006;22:125–148.
- Dandapani SV, Pollak MR. The glomerular filter: biologic and genetic complexity. *Kidney Int* 2006;70:980–982.
- Ni J, Verbavatz JM, Rippe A, et al. Aquaporin-1 plays an essential role in water permeability and ultrafiltration during peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006;69:1518–1525.
- Oji Y, Sugiyama H. Development of WT1 peptide cancer vaccine against hematopoietic malignancies and solid cancers. *Curr Med Chem* 2006;13:2345–2352.
- Oka Y, Tsuboi A, Kawakami M, et al. Vasopressin antagonists in polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68:2405–2418.

DNA polymorfismy u ledvinových onemocnění

Mondry A, Loh M, Laurence KB, Low N. DNA polymorphisms and renal disease: a critical appraisal of studies presented at the annual ERA/EDTA and ASN conferences in 2004 and 2005. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2775–2779.

Autoři předložili v článku kritickou analýzu studií, zabývajících se DNA polymorfismy u ledvinových onemocnění, prezentovaných na konferencích ERA/EDTA a ASN v letech 2004 a 2005.

Znalost a správná interpretace lidské genomové sekvence je klíčem k hlubšímu pochopení patofyziologických procesů a případně k rozvoji nových a účinnějších druhů léčby. Během posledních několika dekád byly učiněny mnohé pokusy o nalezení spojitosti mezi DNA polymorfismy a některými nemocemi s komplexním genetickým podkladem. Kauzální vazba však nebyla nalezena. Z tohoto důvodu odmítla Americká nefrologická společnost (ASN) zařadit do oponentního řízení k publikaci práce, které neodpovídají souhrnu kritérií, vyžadovaných pro určení vazby mezi genem a nemocí (viz tab.). *Journal of ASN (JASN)* je v současné době jedním z mála časopisů, které se řídí požadavky na tuto oblast výzkumu, tak jak byly neformálně projednány a navrženy koncem předchozí dekády (Anonymous, 1999). Nerespektování požadavků na kvalitu studií způsobuje problémy na různých úrovních. V první řadě stojí výzkum čas a peníze. Za druhé, ačkoli výsledky u řady prací jsou následně zpochybněny a odvolány, zůstávají práce nezdárně v oběhu a jsou dále citovány (Budd, 1998). Za třetí, případná aplikace nesprávné prognózy v klinické praxi může poškodit pacienta.

Ačkoli se s výše uvedenými obtížemi potýkají i další lékařské disciplíny, představuje monitorace procesů a metod molekulární biologie v nefrologii zvláště zajímavé téma. S cílem zjistit, do jaké míry jsou v oblasti nefrologie naplňovány normy kvality kladené na vazebné studie, byla uskutečněna analýza abstraktů prací

prezentovaných na každoročních konferencích ASN a Evropské renální společnosti/Evropské dialyzační a transplantační společnosti (ERA/EDTA) v letech 2004 a 2005. Byly vyhledány a hodnoceny práce zabývajících se tématy „gen“ a „polymorfismus“, a to s ohledem na skutečnost, nakolik by vyhovovaly kritériím pro uveřejnění v JASN (tab.). V roce 2004 byly nejčastěji studovány geny kódující proteiny systému renin-angiotensin-aldosteron či geny kódující látky účastnící se zánětlivých procesů. Analyzované soubory (včetně kontrolních skupin) byly málo početné a obsahovaly v průměru 245 členů (resp. 185 – při vyřazení několika studií obsahujících extrémní hodnoty, tj. např. při velikosti souboru přesahující 1 SD proti průměrné velikosti souboru). V 31 studiích bylo hodnoceno méně než 100 osob dohromady. Pouze v 17 studiích ze 107 (16 %) byla splněna sekundární kritéria, takže by pouze tento podíl mohl být zařazen do review procesu k publikaci v JASN. V roce 2005 se průměrný počet členů souborů zvýšil na 354 (resp. na 276 – při vyřazení několika „extrémních“ studií). Méně než 100 osob v analyzovaných souborech bylo přítomno ve 13 studiích. Sekundární kritéria k publikaci v JASN splňovalo 38/77 (49 %) studií.

Gen-vazebné studie – iluze možného vysvětlení? Již od sklonku 18. století se při diskusích o podstatě onemocnění brala v úvahu představa o jejich možném dědičném podkladu. Významu vybraných genotypů u konkrétních onemocnění je věnována pozornost nadále, i když popularita tohoto tématu je patrně za svým zenitem. Zatímco v roce 2004 byla na významných nefrologických konferencích prezentována 2 % gen-vazebných prací, klesl tento podíl o rok později na 1,4 %. Ve stejnou dobu se zvýšil významně počet prací, které splnily sekundární požadavky (dle kritérií JASN). Obtížnější však lze doložit, nakolik se podařilo zajistit plnění primárních požadavků. Jedním z největších nedostatků u gen-vazebných studií bývá nedostatečná velikost souboru. Není-li známa frekvence výskytu minoritní alely u kandidátního genu, představuje požadovaný počet testovaného souboru 239 členů a kontrolní soubor rovněž dalších 239 členů, za předpokladu snahy o testování s 80% statistickou významností při 5% hladině významnosti (Mondry, 2005). Vezmeme-li v úvahu, že po vyřazení „extrémních“ studií (tedy studií ležících např. z hlediska velikosti souboru výrazně mimo průměr) se průměrná velikost souboru (včetně kontrolní populace) skládala v roce 2004 ze 185 osob a v roce 2005 z 276 osob, je zřejmé, že požadavky na adekvátní velikost souboru byla splněna pouze z 38 %, resp. 58 %. Statistická síla byla u takto malých souborů nepříjemně snížena. Možných východisek k řešení této situace je několik: tlak na dodržení přísných kritérií pro publikaci gen-vazebných studií, registrace probíhajících gen-vazebných studií, vytváření metaanalýz, zapojení se do recentních výzkumných iniciativ mířených na spolupráci v rámci gen-vazebných studií (např. Renal Genome Network).

Kvalitativní kritéria pro studie, které mohou být zařazeny do schvalovacího řízení pro časopis JASN

Primární požadavky	Sekundární požadavky
Výsledky musejí být biologicky smysluplné	Údaje prokazující účinek polymorfismu na funkci proteinu či expresi genu
Testovaný soubor musí být adekvátní	Potvrzení vazby metodou vyšetření rodin
Úprava p-hodnoty pro mnohočetná porovnání	Potvrzení vazby na nezávislém souboru
Vyšetření a úprava výsledků s ohledem na stratifikaci uvnitř souborů	Speciální pozornost věnovaná analýze odhalených „rizikových haplotypů“ spojených s určitým onemocněním

Díky zmapování lidského genomu v roce 2001 byl zjištěn počet genů, jejich vzájemné umístění na chromosomech a také přehled o sekvencích nukleotidů v lidském organismu (Lander, 2001). Navzdory tomuto nepopíratelnému epochálnímu úspěchu na poli genetiky, nebylo dosud možno v širším měřítku využít získané poznatky pro dosažení kvalitativního zlomu v léčbě. Pokud bychom se omezili pouze na dvě možné aplikace – specifickou (kauzální) léčbu hereditárních onemocnění či léčbu upravenou po stránce genetické na míru konkrétního pacienta – jsou dosavadní pokroky v této oblasti skrovné.

U chorob, které jsou kódovány jedním genem, se podařilo dosáhnout zřetelnějších úspěchů než ve skupině chorob s komplexním genovým pozadím. Bohužel vývoj chronického onemocnění ledvin a jeho progresu do stadia nezvratného selhání ledvin mají rysy multifaktoriálního postižení, při němž se uplatňují vlivy různých genů a vlivy zevního prostředí ve vzájemné interakci. Brenchley a spol. (Brenchley, 2006) ve svém komentáři cíleném na problematiku přenosu poznatků získaných při objevu lidského genomu do klinické (nefrologické) praxe navrhují tři klíčové oblasti, na které je třeba se zaměřit:

- Další rozvoj poznatků v deskripci lidského genotypu, další rozvinutí mapy haplotypů, zahrnující popis několika milionů SNP. Vývoj celogenomových SNP chipů a dalších nových technologií se zdá být zárukou úspěchu v tomto úsilí.
- Rozvoj nových metod spolupráce ve výzkumu. Skutečnost, že zásadním nedostatkem gen-vazebných studií bývá nedostatečná velikost souboru, vedla k iniciaci nových mezinárodních forem spolupráce. V roce 2003 byla vytvořena platforma Evropské renální genomové spolupráce (European Renal Genome Network – ReGeNet), kladoucí si za cíl usnadnit spolupráci na epidemiologických genetických projektech zabývajících se výzkumem chronických onemocnění ledvin, dialýzy či transplantace.
- Stanovení specifických renálních výzkumných programů. Již v současné době ReGeNet finančně podporuje program na výzkum genomového podkladu kardiovaskulárních komorbidit v úřemii a společně s Mezinárodní společností pro peritoneální dialýzu (ISBP) výzkum genetického podkladu sklerozující peritonitidy.

Pokud bychom chtěli vyvodit závěry z komentovaného článku i z komentáře Brenchleye a spol. uveřejněného ve stejném čísle NDT, je nepochybné, že při výzkumu genetického podkladu renálních chorob stojíme na určitém rozcestí. Období gen-vazebných studií, snažících se nalézt spojitost mezi nejrozličnějšími renálními onemocněními a konkrétními geny nebylo korunováno žádnými jednoznačnými výsledky a skončilo určitou frustrací. Na podkladě poznatků získaných z průběhu těchto výzkumných projektů vyplývá, že v další fázi výzkumu bude třeba respektovat a podřítit se požadavkům na obecně vyšší kvalitu studií. V této kategorii jsou zahrnuty nejen požadavky na to, aby případná zjištěná vazba onemocnění na konkrétní gen (resp. genový polymorfismus) byla konfrontována s nálezy vztahujícími se k funkci daného genu či genového polymorfismu (tj. funkcí genového produktu či exprese genu), ale samozřejmě také požadavky na přiměřenou velikost souboru. Je nepochybné, že uspět lze za této situace především navázáním užší spolupráce s dalšími výzkumnými týmy, tak jak je to např. navrženo v rámci programu ReGeNet.

Literatura

- Brenchley PE, Lindholm B, Dekker FW, Navis G. Translating knowledge of the human genome into clinical practice in nephrology dialysis and transplantation: the renal genome network (ReGeNet). *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2681–2683.
- Budd JM, Sievert M, Schultz TR, Scoville C. Effects of article retraction on citation and practice in medicine. *Bull Med Libr Assoc* 1999;87:437–443.
- Freely associating. *Nat Genet* 1999;22:1–2.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 2001;409:860–921.
- Mondry A. Studies on genes and hypertension. *J Hypertens* 2005;23:2109–2110.

Přežívání kriticky nemocných s akutním renálním poškozením s ohledem na volbu dialyzační metody

Cho KC, Himmelfarb J, Paganini E, Ikizler TA, Soroko SH, Mehta RL, Chertow GM. Survival by dialysis modality in critically ill patients with acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:3132–3138.

Akutní poškození ledvin představuje běžnou komplikaci kriticky závažných stavů a je provázeno značnou mortalitou a morbiditou. Pokud je poškození ledvin natolik závažné, že vyžaduje dialyzační léčbu, mortalita podle řady prací přesahuje 50 %. Významné místo v léčbě poškození ledvin si nedávno vydobyly kontinuální metody náhrady funkce ledvin (CRRT – continuous renal replacement therapy), zahrnující kontinuální venovenózní hemodialýzu, kontinuální venovenózní hemofiltraci a kontinuální venovenózní hemodiafiltraci. Několik klinických studií prokázalo příznivější účinek CRRT proti intermitentní hemodialýze (IHD) na hemodynamickou stabilitu, clearance solutů a schopnost ultrafiltrace. Přímé porovnání obou metod je problematické, neboť u hemodynamicky nestabilních pacientů je větší pravděpodobnost zahájení léčby metodou CRRT. S tímto metodickým problémem se poměrně obtížně vyrovnávaly i některé recentní metaanalýzy, docházející nejdříve k závěru, že neexistuje dostatečný počet přesvědčivých argumentů svědčících ve prospěch jedné či druhé metody.

V této studii byla provedena analýza podsouboru ($n = 398$) pacientů z programu PICARD (Program to Improve Care in Acute Kidney Disease), kteří vyžadovali dialyzační léčbu, a byly vyhodnoceny klinické charakteristiky a další průběh onemocnění ve vazbě na zvolenou iniciační dialyzační léčbu (CRRT vs. IHD).

Pracovní hypotéza: Neupravené (neadjustované) výsledky přežívání nemocných vyzní ve prospěch metody IHD, zatímco v případě úpravy a korekce faktorů, které mohou mít povahu rozkládajícího či selektivního účinku, nebude prokázán významný rozdíl mezi oběma metodami.

Materiál a metody: Do studie byli vybráni pacienti z pěti středisek USA kooperujících na programu PICARD, kteří byli léčeni v letech 1999 až 2000 na jednotkách intenzivní péče (JIP) pro akutní poškození ledvin definované jako vzestup sérové koncentrace kreatininu (S_{Kr}) $\geq 0,5$ mg/dl (tj. $42 \mu\text{mol/l}$) při bazální hodnotě $S_{Kr} < 1,5$ mg/dl, či vzestup $S_{Kr} \geq 1,0$ mg/dl při bazální hodnotě $S_{Kr} \geq 1,5$ mg/dl a < 5 mg/dl. Pacienti s bazální hodnotou $S_{Kr} \geq 5,0$ mg/dl nebyli do studie zařazeni. Bazální chronické onemocnění ledvin bylo definováno jako onemocnění s glomerulární filtrací < 30 ml/min na $1,73 \text{ m}^2$ (tzv. CKD stadium IV dle K/DOQI). **Statistická analýza:** Kromě běžných statistických metod bylo do statistické analýzy zavedeno tzv. skóre náchylnosti (v angl. propensity score), při použití přidělené metody coby závislé proměnné (Rosenbaum PR, 1984). V observačních studiích, ve kterých nelze ovlivnit přiřazení pacienta k určitému konkrétnímu druhu léčby, představuje propensity score podmíněnou pravděpodobnost, že pacient je léčen určitým druhem léčby v závislosti na daných spoluproměnných. Pomocí propensity score lze do určité míry snížit předpojatost (tzv. bias) vůči jedné či druhé léčebné metodě a přiblížit se situaci, která by vznikla randomizací. Dostatečná diskriminační schopnost modelu byla testována plochou pod příjemcovou křivkou (vysoké hodnoty svědčí pro značnou diskriminační schopnost) a Hosmerův-Lemeshowův test posloužil ke kontrole správné funkce této statistické metody (nevýznamná hodnota χ^2 představuje absenci předpojatosti – tedy tzv. „bias“).

Výsledky: Z celkového počtu nemocných se závažným akutním poškozením ledvin vyžadujícím dialyzační léčbu, byla u 206 zahájena léčba CRRT a u 192 léčba IHD. Volba poskytnuté léčby