

# OSTEOLOGICKÝ BULLETIN

Časopis věnovaný problematice skeletu

## REDAKČNÍ RADA

### Šéfredaktor:

Prof. MUDr. Milan Bayer, CSc., Hradec Králové

### Zástupce šéfredaktora:

Doc. MUDr. Štěpán Kutílek, CSc., Pardubice

### Užší rada:

MUDr. Jan Rosa, Praha

Doc. MUDr. Václav Vyskočil, Ph.D., Plzeň

### Členové:

Prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Petr Broulík, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Rastislav Džurík, DrSc., Bratislava, SR

MUDr. Tomáš Hála, Pardubice

Prof. MUDr. Pavel Horák, CSc, Olomouc

Prof. Roman S. Lorenc, M.D., Ph.D., Warszawa, PL

MUDr. Pavol Masaryk, CSc., Piešťany, SR

Prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., Dr. h. c.,  
Hradec Králové

Prof. MUDr. Juraj Payer Jr., CSc., Bratislava, SR

Prof. Dr. med. Meinrad Peterlik, Wien, A

Jonathan Reeve, DM, DSc, FRCP, Cambridge, UK

Prof. MUDr. Jozef Rovenský, DrSc., Piešťany, SR

Prof. Leon Sokoloff, M.D., Setauket, USA

MUDr. Ivo Sotorník, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Ivana Žofková, DrSc., Praha

## VYDAVATEL



### Adresa redakce a příjem inzerce:

TRIOS, spol. s r. o.  
Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov  
tel.: 267 912 030, fax: 267 915 563  
e-mail: redakce@trios.cz  
Redakce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.,

Inzerce: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

### Sazba: SILVA, s. r. o.

Pod Děkanou 82, Praha 4

e-mail: pfck@bohem-net.cz

Tisk: OMIKRON Praha, spol. s r. o.

U Elektry 650, 190 00 Praha 9-Hloubětín

### Vychází 4x ročně.

Povoleno Ministerstvem kultury ČR  
pod č. MK ČR 7352.

### ISSN 1211-3778

Podávání novinových zásilek povolila Česká pošta  
s. p., odštěpný závod Praha, č. j. nov. 6063/96  
ze dne 9. 5. 1996.

Vydavatel nenese odpovědnost za údaje a názory  
autorů jednotlivých článků nebo inzerce. Současně  
si vyhrazuje právo na drobné stylistické úpravy  
článků. Zasláné příspěvky se nevracejí, jsou archi-  
vovány v redakci TRIOS, na požádání vrátí redakce  
obrazovou dokumentaci.

Žádná část tohoto časopisu nesmí být bez před-  
chozího písemného souhlasu vlastníka autorských  
práv kopírována a rozmnožována za účelem další-  
ho rozšiřování v jakékoliv formě či jakýmkoliv způ-  
sobem (ať mechanickým, nebo elektronickým –  
včetně požívání fotokopíí, nahrávek či informač-  
ních databází).



## OBSAH

### PŮVODNÍ PRÁCE

- BsmI polymorfismus genu pro vitamín D receptor a kostní fenotypy v regionu Střední Morava** 3  
*P. Hrdý, P. Novosad, P. Fojtík, P. Horák, R. Richterová*
- Sekundární prevence osteoporózy mezi praktickými lékaři** 32  
*Š. Blažková, M. Vytřisalová, J. Štěpán, V. Palička,  
S. Býma, T. Hála, J. Vlček*

### PŘEHLEDOVÝ ČLÁNEK

- Cévní kalcifikace u nemocných s chronickým selháním ledvin: epidemiologie, diagnostika a možnosti terapeutického ovlivnění** 8  
*F. Švára*
- Diagnostika, prevence a léčba kostní a minerální poruchy při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD): KDIGO doporučení a navazující iniciativy národních a nadnárodních pracovních skupin** 14  
*S. Dusilová Sulková*
- Ovlivnění signální cesty RANK/RANKL/OPG** 21  
*O. Růžičková*

### INFORMACE

- Ze světové literatury** 36

**Obrázek na titulní straně:** Kolemkloubní extraoseální kalcifikace měkkých tkání v rámci chronického onemocnění ledvin – ramenní kloub  
[z archivu prim. MUDr. Františka Šenka]



# OSTEOLOGICAL BULLETIN

A journal devoted to problems of the skeleton

## EDITORIAL BOARD

### Editor in Chief:

Prof. MUDr. Milan Bayer, CSc., Hradec Králové

### Associate Editor:

Doc. MUDr. Štěpán Kutílek, CSc., Pardubice

### Advisory Board:

MUDr. Jan Rosa, Praha

Doc. MUDr. Václav Vyskočil, Ph.D., Plzeň

### Editorial Board:

Prof. MUDr. Jaroslav Blahoš, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Petr Broulík, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Rastislav Dzurík, DrSc., Bratislava, SR

MUDr. Tomáš Hála, Pardubice

Prof. MUDr. Pavel Horák, CSc., Olomouc

Prof. Roman S. Lorenc, M.D., Ph.D., Warszawa, PL

MUDr. Pavol Masaryk, CSc., Piešťany, SR

Prof. MUDr. Vladimír Palička, CSc., Dr. h. c.,  
Hradec Králové

Prof. MUDr. Juraj Payer Jr., CSc., Bratislava, SR

Prof. Dr. med. Meinrad Peterlik, Wien, A

Jonathan Reeve, DM, DSc, FRCP, Cambridge, UK

Prof. MUDr. Jozef Rovenský, DrSc., Piešťany, SR

Prof. Leon Sokoloff, M.D., Setauket, USA

MUDr. Ivo Sotorník, DrSc., Praha

Prof. MUDr. Ivana Žofková, DrSc., Praha

### PUBLISHER:



### Editorial office:

Trios Ltd.

Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov

tel.: 267 912 030, fax: 267 915 563

e-mail: redakce@trios.cz

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.,

Advertising: Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

### DTP: SILVA Ltd.

Pod Děkankou 82, Praha 4

e-mail: pfck@bohem-net.cz

Printed by: OMIKRON Praha, spol. s r. o.

U Elektry 650, 190 00 Praha 9-Hloubětín

4 issues per volume.

ISSN 1211-3778

Copyright © Trios Ltd. All rights reserved.

The views expressed in this journal are not necessarily those of the Editor or Editorial Board.



## CONTENTS

### ORIGINAL ARTICLE

- Vitamin D receptor gene Bsm1 polymorphism and bone phenotypes in the region of Central Moravia** **3**  
*P. Hrdý, P. Novosad, P. Fojtík, P. Horák, R. Richterová*

- Secondary prevention of osteoporosis among general practitioners** **32**  
*Š. Blažková, M. Vytřísalová, J. Štěpán, V. Palička, S. Býma, T. Hála, J. Vlček*

### REVIEW

- Vascular calcifications in patients with chronic kidney failure: epidemiology, diagnosis and possible therapy** **8**  
*F. Švára*

- Diagnosis, prevention and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD): KDIGO guideline and subsequent initiatives of national and multinational working groups** **14**  
*S. Dusilová Sulková*

- Modification of the RANK/RANKL/OPG signaling pathway** **21**  
*O. Růžicková*

### INFORMATION

- News from around the world** **36**

**Cover page:** Periarticular extraosseal calcification in patient with chronic kidney disease – a shoulder joint [file image MUDr. František Šenk]

# BsmI polymorfismus genu pro vitamín D receptor a kostní fenotypy v regionu Střední Morava

P. HRDÝ<sup>1</sup>, P. NOVOSAD<sup>1</sup>, P. FOJTÍK<sup>2</sup>, P. HORÁK<sup>3</sup>, R. RICHTEROVÁ<sup>4</sup>

<sup>1</sup>MEDIEKOS Labor, s. r. o., Osteocentrum, Zlín, <sup>2</sup>Centrum péče o zažívací trakt, Vítkovická nemocnice, a. s., Ostrava-Vítkovice, <sup>3</sup>III. interní klinika, Osteocentrum, Fakultní nemocnice Olomouc, <sup>4</sup>P&R LAB, a. s., Nový Jičín, laboratoř molekulární biologie

## SOUHRN

Hrdý P., Novosad P., Fojtík P., Horák P., Richterová R.: **BsmI polymorfismus genu pro vitamín D receptor a kostní fenotypy v regionu Střední Morava**

V posledních letech dokládají výsledky studií v exponovaných rodinách a v asociačních projektech významnou roli dědičnosti v etiologii osteoporózy. V popisu klinické manifestace osteoporózy se využívá mimo jiné také tzv. kostních fenotypů, mezi které řadíme kostní densitu bederní páteře a femuru, geometrii kyčle, mikroarchitekturu, markery kostního obratu a fraktury skeletu. Jedním ze sledovaných vztahů mezi dědičností a klinickou manifestací osteoporózy je vztah polymorfismu BsmI genu pro vitamín D receptor a kostních fenotypů, což bylo cílem také naší práce.

*Klíčová slova: kostní fenotyp, vitamín D receptor, genetický polymorfismus*

## SUMMARY

Hrdý P., Novosad P., Fojtík P., Horák P., Richterová R.: **Vitamin D receptor gene BsmI polymorphism and bone phenotypes in the region of Central Moravia**

In recent years, results of studies in exposed families or association projects have supported the significant role of heredity in the etiology of osteoporosis. In the description of clinical manifestations of osteoporosis, various surrogate bone phenotypes have been used, including bone mineral density of the lumbar spine and femur, hip geometry, microarchitecture, bone turnover markers and skeletal fractures. The relationship between BsmI polymorphism of the vitamin D receptor gene and bone phenotypes has been analyzed to track one of possible link between heredity and clinical manifestations of osteoporosis. This was another aim of the present study.

*Keywords: bone phenotype, vitamin D receptor, genetic polymorphism*

*Osteologický bulletin 2012;17(1):3–7*

**Adresa:** MUDr. Petr Hrdý, Mediekos Labor, s. r. o., Zlín, Osteologické centrum, Tř. Tomáše Bati 3910, 760 01 Zlín, e-mail: hrady@mediekoslabor.cz

Došlo do redakce: 16. 1. 2012

Přijato k tisku: 27. 4. 2012

## Úvod

Osteoporóza je systémové onemocnění skeletu, charakterizované malým množstvím kostní hmoty a poruchou mikroarchitektury kostní tkáně, vedoucí ke zvýšené lomivosti a riziku vzniku zlomenin [1]. Významnou roli v manifestaci a míře závažnosti klinických projevů osteoporózy hraje dědičnost. Výsledky studií v exponovaných rodinách dokládají významnou roli dědičnosti v etiologii osteoporózy. Dcery matek s nízkou hustotou kostního minerálu (BMD) jsou osteoporózou ohroženy více než dcery matek s normální BMD. V mexické populaci byla popsána asociace i mezi BMD bederní páteře babiček a jejich vnuček [2].

V popisu klinické manifestace osteoporózy se využívá mimo jiné také tzv. kostních fenotypů, které popisují jednotlivé modality skeletu právě ve vztahu k projevům a závažnosti osteoporózy. Mezi ně patří BMD bederní páteře a femuru, geometrie kyčle, markery kostního obratu (BTM), kostní mikroarchitektura a fraktury skeletu s důrazem na tzv. hlavní osteoporotické fraktury (obratel, proximální fe-

mur, distální předloktí a proximální humerus). Dědivost, resp. heritabilita jednotlivých kostních fenotypů je různá. Např. heritabilita BMD je udávána v rozmezí 50–80 %, což lze interpretovat jako až 80% podíl genetické závislosti na výsledné úrovni BMD (*tabulka 1*).

Jednotlivé geny, které v průběhu mnoha let výzkumu byly uznány jako související s osteoporózou, označujeme jako „kandidátní geny“. Mezi prvními byly zkoumány ty, které kódují receptory, hormony a enzymy, jejichž funkce v kostním metabolismu je známá. Další kandidátní geny byly zjištěny z chromozomových lokusů ve vazebných analýzách.

V současné době vstupují do popředí tzv. asociační studie, které studují vztah kandidátních genů k variabilitě kostních fenotypů, přičemž prediktivní význam má především variabilita v exonech, které determinují sekvenci aminokyselin v příslušné bílkovině [4]. Postupně se podařilo identifikovat jednotlivé nukleotidové polymorfismy (single nukleotid polymorphism, SNP) kandidátních genů projevující se alelickými variantami. Klinický význam jednotlivých SNP bývá

stanoven populačními studii, které porovnávají frekvence alel a jejich vztah k určitému fenotypu u skupiny osteoporotické a kontrolní („case-control study“) nebo u dvou různých populací („cross-sectional study“). Klinický význam v diferenciaci jednotlivých fenotypů může mít také mutace genu. Je znám příklad aktivační mutace v genu pro lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5), která v důsledku vede k „nadbytečné“ kostní formaci s vysokou BMD, popisované jako syndrom „high bone mass“ [5]. Naopak inaktivační mutace v tomto genu vede k nízké BMD, klinicky známé jako osteoporosis pseudoglioma syndrom [6].

Na našem pracovišti se v současnosti věnujeme práci na sledování vztahu mezi SNP BsmI genu pro vitamín D receptor (VDR) a jeho roli v manifestaci kostních fenotypů osteoporózy. První zprávy o vztahu VDR a jeho polymorfismů a osteoporózy se objevují v devadesátých letech ve studii na dvojčatech [7]. Gen pro VDR je lokalizován na chromozomu 12q13-14. Jednotlivé polymorfismy tohoto genu byly identifikovány pomocí restrikčních enzymů (restriction fragment length polymorphisms, RFLPs). Řadíme mezi ně např. SNP TaqI, BsmI, ApaI a FokI, z toho první tři jsou lokalizovány mezi exony 8 a 9, SNP FokI je lokalizován na exonu 2 [8]. Ačkoliv bylo provedeno množství asocičních studií, přínos jednotlivých polymorfismů k objasnění patogeneze osteoporózy zůstává stále předmětem výzkumu. U polymorfismů genu pro VDR byla v některých studiích potvrzena signifikantní asociace s BMD [9,10]. Několik asocičních studií prokázalo protichůdné výsledky vztahu mezi VDR polymorfismy a rizikem fraktury. Cílem naší práce byl výzkum vztahu mezi SNP BsmI genu pro VDR a kostními fenotypy v regionu Střední Morava ve skupině žen s postmenopauzální osteoporózou.

## Materiál a metodika

### Studovaná populace

Vyšetřili jsme celkem 596 pacientek s postmenopauzální osteoporózou, průměrný věk 63,1 roku, věkové rozmezí 47–79 let.

### Měření BMD

BMD (g/cm<sup>2</sup>) bylo měřeno v regionech bederní páteře v anteroposteriorní projekci (L<sub>1</sub>–L<sub>4</sub>) a v oblasti krčku proximálního femuru. Měření probíhalo metodou dvouenergiové rentgenové absorpciometrie (dual energy X-ray absorptiometry, DXA) na přístroji LUNAR (model iDXA, Lunar Corp., Madison, WI, USA) podle standardního protokolu.

Tabulka 1  
Heritabilita kostních fenotypů (podle [3])

Kostní fenotyp	Heritabilita
Hustota kostního minerálu	50–80 %
Geometrie kyčle	70–85 %
Kostní obrat (biochemické markery)	40–70 %
Kostní mikro-architektura	50–60 %
Dispozice k frakturám	25–48 %

Osteoporóza byla diagnostikována dle kritérií World Health Organization (WHO) [11].

### Měření BTM

Markery kostního obratu jsme stanovovali na analyzátoru ETI-MAX 3000 (DiaSorin Inc, Stillwater, MN, USA) metodou ELISA. Jako marker osteoresorpce jsme vyšetřovali C-terminální telopeptid kolagenu typu I (CTX). Za marker osteoformace jsme zvolili osteocalcin (OC). Odběry krve probíhaly za standardních podmínek.

### Detekce polymorfismu genu pro VDR

Jako sledovaný SNP genu pro VDR jsme zvolili BsmI. DNA byla izolována z 200 ul nesrážlivé krve kitem Mag-Attract DNA Blood Mini M48 na automatickém izolátoru Biorobot M48 (Qiagen, Germany). Princip izolace je založen na separaci magnetickými kuličkami. Detekce polymorfismu BsmI (A > G, rs 1544410) byla provedena metodou Real-Time PCR za použití FRET sond a přímým sekvenováním na sekvenátoru ABI 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

### Statistika

Asociace jednotlivých genotypů s kostními fenotypy (BMD, BTM a fraktury) byla vyhodnocena metodou deskriptivní statistiky, analýzou rozptylu (stanovení rozdílu středních hodnot, ANOVA) v programu Excel.

### Výsledky

Vyšetřili jsme celkem 596 pacientek. Jejich demografická charakteristika je uvedena v *tabulce 2*, která je již rozčleněna dle diagnostikovaných genotypů polymorfismu BsmI.

Sledované skupiny pacientek s uvedenými genotypy jsou dle uvedených charakteristik prakticky homogenní, bez signifikantních odlišností v jednotlivých parametrech. Údaje o věku menopauzy a zlomeninách byly získávány úvodním anamnestickým rozhovorem, byly preferovány hlavní osteoporotické zlomeniny, nicméně analyzovány byly všechny lokality zlomenin, mimo lebku a drobné kosti rukou a nohou. BMI bylo vypočítáno dle obvyklého algoritmu na základě hodnot výšky a váhy při první densitometrii.

Hodnoty sledovaných kostních fenotypů ve vztahu k detekovaným genotypům polymorfismu BsmI shrnuje *tabulka 3*.

Z prezentovaných výsledků se nám podařilo prokázat mírnou ale statisticky signifikantní souvislost mezi genotypem BB a sníženou densitou kostního minerálu ve sledovaném regionu krčku proximálního femuru a bederní páteře, stejně tak i souvislost mezi zvýšeným výskytem fraktur u tohoto genotypu v populaci žen s postmenopauzální osteoporózou.

Frekvence jednotlivých genotypů sledovaného polymorfismu BsmI jsou uvedeny v *tabulce 2*. Největší četnost výskytu byla u heterozygotního genotypu Bb (51,7 %), dále homozygotní genotyp BB (12,8 %) a varianta „wild type“ bb (35,5 %) se vyskytovaly s distribucí, která byla srovnatelná s jinými sledovanými kavkazskými populacemi [12]. Distribuce SNP BsmI genu pro VDR u našich pacientek sledovala Hardy-Weinbergovu rovnováhu ( $p = 0,90$ ).

V námi studované populaci jsme prokázali signifikantně nižší BMD v oblasti krčku proximálního femuru u pacientek s genotypem BB ( $0,740 \pm 0,107$ ) g/cm<sup>2</sup> v porovnání s jedinci s genotypem bb ( $0,770 \pm 0,102$ ) g/cm<sup>2</sup> ( $p < 0,05$ ). Dále jsme sledovali nižší BMD v oblasti bederní páteře u pacientek s genotypem BB ( $0,864 \pm 0,135$ ) g/cm<sup>2</sup> oproti pacientkám s genotypem bb ( $0,896 \pm 0,116$ ) g/cm<sup>2</sup> s hraniční statistickou významností ( $p = 0,05$ ). Neprokázali jsme statisticky významnou asociaci genotypů SNP BsmI a hodnot biochemických BTM. Podařilo se nám dokumentovat statisticky signifikantní vyšší výskyt fraktur u nemocných s postmenopauzální osteoporózou s přítomným genotypem BB (60,5 %) oproti pacientkám s genotypem bb (44,6 %) ( $p < 0,05$ ).

## Diskuze

Metaanalýza studií z let 1994–2001 ukázala významnou asociaci alely B v polymorfismu BsmI s kostní densitou v lumbální páteři; jedinci s genotypem BB měli nižší hodnoty BMD než nositelé alely b [9]. Toto se prakticky podařilo prokázat i v námi sledovaném souboru pacientek. Dle předpokladu o možných vazebných nerovnováhách v rámci různých etnických skupin v další metaanalytické studii autoři upozornili na etnické rozdíly v asociaci polymorfismu BsmI ke kostní denzitě [10]. Naproti tomu se nepodařilo prokázat asociaci kostní denzity femuru a polymorfismů genu pro VDR BsmI, ApaI a TaqI (mimo FokI, u tohoto byl potvrzen vztah ke kostní denzitě v kyčli) v populaci normálních nesubstituovaných žen středoevropské populace [13]. Mimo vazebnou nerovnováhu se může na kontroverzních výsledcích uplatňovat dále interakce genu pro VDR s jinými geny, např. s genem pro estrogenový receptor (ESR), což prokazuje i práce dokumentující významně nižší kostní denzitu u pacientů s homozygotními genotypy SNP BsmI genu pro VDR a SNP PvuII genu pro ESR, přestože asociace mezi BMD a jednotlivými genotypy prokázána nebyla [14].

Z hlediska moderních, tzv. „genome-wide association studies“ v projektu GENOMOS, autoři hodnotili vztah polymorfismů v genu pro VDR ke kostnímu metabolismu a kostním fenotypům. V souboru cca 26 000 probandů byly vyšetřeny SNP Cdx-2, FokI, BsmI, ApaI a TaqI. Studie ukázala, že v regulaci BMD nehrají tyto polymorfismy pravděpodobně významnější roli. Podařila se však prokázat asociace Cdx-2 s rizikem vertebrálních zlomenin. SNP Cdx-2 je lokalizován v promotoru genu pro VDR [15]. Tento vztah ukazuje, že SNP Cdx-2 může ovlivňovat jiný parametr rizika fraktury obratle, než je všeobecně známý ukazatel BMD. Toto koresponduje s myšlenkou obecně akceptovanou v moderní osteologii, že BMD není jediným ukazatelem rizika fraktury, uplatňují se i tzv. extraskeletální faktory jako svalová síla, svalová hmota (moderní téma frailty syndrom [16]) a body mass index (BMI), u kterých je genetický základ také jistě velmi významný.

Riziko fraktury je tedy jistě komplexní, z pohledu procenta heritability je riziko fraktury minimálně z 50 % závislé na vnějších podmínkách, jak bylo uvedeno v tab. 1 v úvodu. Přesto lze studovat i souvislost s genetickými predispozicemi. Mimo výše uvedený SNP Cdx-2 genu pro VDR byla prokázána souvislost i právě s námi sledovaným SNP BsmI. V prospektivní studii z roku 2005 byla prokázána asociace mezi BsmI a rizikem fraktur u postmenopauzálních žen [17]. Hlavně ve skupině nevertebrálních fraktur převažoval genotyp BB. Přítomnost genotypu BB znamenala stejně velké riziko pro další frakturu, jako přítomnost zlomeniny v anamnéze nebo nízká BMD. Rotterdamská studie prokázala ve stejné době jako práce autorů projektu GENOMOS souvislost mezi SNP BsmI a rizikem fraktury. Opět další potvrzení teorie, že v otázce rizika fraktury hrají polymorfismy genu pro VDR svou roli nezávisle na vztahu k BMD. V projektu autorů rotterdamské studie se v početné kohortě pacientů podařilo prokázat, že osoby s kombinací rizikových alel v obou lokusech Cdx-2 a BsmI měly zvýšené riziko fraktur o 48 % oproti kontrolám [18]. Je také velmi zajímavý fakt vztahu různě lokalizovaných polymorfismů na funkci genu pro VDR. Cdx-2 ovlivňoval expresi VDR proteinu, naproti tomu variability na 3'-konci genu (BsmI, ApaI, TaqI) ovlivňovaly stabilitu mRNA-VDR. Lze tedy zkoumat a sledovat vztahy i mezi nekódujícími částmi genu, které mají spíše regulační funkci. Mezi tyto SNP právě BsmI patří. Jedna z nejnovějších prací na téma metaanalýzy vztahu polymorfismů VDR a fraktur byla publikována v polovině r. 2010 v časopisu BONE. Autoři uvádějí data ze své rozsáhlé metaanalýzy, které zahrnovala celkem 17 studií, ve kterých bylo 2 112 jedinců s frakturou a 4 521 kontrol. Byla prokázána signifikantně nižší frekvence všech fraktur u jedinců s genotypem bb SNP BsmI genu pro VDR. Pokud byly fraktury rozděleny dle typu, podařilo se prokázat, že pacienti s genotypem bb měli opět signifikantně nižší frekvenci fraktury proximálního femuru. Podobnou signifikaci zaznamenali také u genotypu Tt SNP TaqI. Naopak vyšší frekvence fraktur femuru byla u genotypů tt SNP TaqI a vyšší frekvence fraktur obratlů byla u genotypu Aa SNP ApaI genu pro VDR. Autoři tedy uzavírají, že se jedná o mírnou, ale statisticky signifikantní asociaci mezi bb genotypem BsmI a frakturami [19]. Tuto asociaci jsme měli možnost pozorovat i v našem souboru pacientek. Výskyt fraktur ve skupině jedinců s genotypem bb byl signifikant-

Tabulka 2  
Demografická charakteristika souboru pacientek  
(BB, Bb a bb jsou jednotlivé genotypy polymorfismu BsmI)

	BB	Bb	bb
Počet pacientek	76	308	212
Procento z celkového počtu	12,80 %	51,70 %	35,50 %
Věk	62,8 (±8,3)	63,6 (±8,6)	62,4 (±8,5)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26,5 (±4,8)	26,8 (±4,5)	26,0 (±4,9)
Menopauza	49,0 (±2,5)	49,4 (±2,3)	49,7 (±2,7)
Roky po menopauze	13,3 (±7,8)	14,0 (±8,2)	12,7 (±8,0)

Tabulka 3  
Kostní fenotypy a jednotlivé genotypy polymorfismu BsmI

	BB	Bb	bb	p(ANOVA)
Denzita kostního minerálu v krčku femuru (g/cm <sup>2</sup> )	0,740 (±0,107)*	0,782 (±0,101)	0,770 (±0,102)	0,031
Denzita kostního minerálu v bederní páteři (g/cm <sup>2</sup> )	0,864 (±0,135)*	0,904 (±0,141)	0,896 (±0,116)	0,050
OC (µg/l)	23,6 (±14,1)	22,4 (±13,0)	21,5 (±11,2)	0,112
CTx (µg/l)	0,590 (±0,280)	0,561 (±0,316)	0,541 (±0,300)	0,22
Fraktury (%)	60,5*	53,4	44,6	0,049

OC – osteocalcin, CTx – C-terminální telopeptid kolagenu typu I, BB – homozygot, Bb – heterozygot, bb – „wild type“ bez přítomnosti alely B, \*statisticky signifikantní rozdíl výskytu u genotypu BB oproti bb, p < 0,05 (ANOVA)

ně nižší oproti skupině s genotypem BB (44,6 %, resp. 60,5 %, p < 0,05). Nicméně si jsme vědomi limitací dat pro tuto analýzu, údaje o frakturách jsme získávali na základě anamnestických dat doplněných z dokumentace praktického lékaře.

Mimo predikci rizikových jedinců ohrožených manifestací osteoporózy v podobě fraktury lze uvažovat o využití detekce SNP v oblasti farmakogenomiky. V minulém desetiletí začaly vznikat erudované práce na téma ovlivnění terapeutické odpovědi osteoporotické kosti na bázi genetického pozadí jedince. V populaci italských postmenopauzálních žen prokázala multicentrická studie souvislost mezi typem anti-resorpční terapie a polymorfismu BsmI genu pro VDR. Ženy s „normálním“ genotypem bb reagovaly nejlépe na hormonální substituční terapii, došlo u nich k signifikantně vyššímu nárůstu BMD. Naproti tomu ženy s „patologickým“ BB genotypem reagovaly nejhůře na antikatabolickou terapii bisfosfonáty, příznivý obrat zaznamenaly pacientky s BB genotypem, pokud se k bisfosfonátu doplnil do léčby raloxifen [20]. Podobnou souvislost z hlediska farmakogenomiky se podařilo prokázat také u polymorfismu TaqI, tentokrát ve vztahu k 2-leté terapii kalcitriolem u pacientek s osteopenií – signifikantní nárůst BMD v bederní páteři s genotypem TT [21]. Tento genotyp TT měl podobně příznivou odpověď také v populaci japonských žen po podání alfacalcidolu [22].

Jistě stojí za zmínku i nepřímé ovlivnění kostních fenotypů variabilitou 3'-konce genu pro VDR. Bylo dokumentováno ovlivnění rizika nástupu tzv. chirurgické menopauzy v kavkazské populaci ve vztahu k přítomnosti polymorfismů BsmI a TaqI [23]. Homozygoti s rizikovou alelou BB vedli k 2,5x vyššímu riziku hysterektomie s případnou adnexektomií oproti negativní populaci. Navíc kombinace alel Bt byla spojena s časnějším nástupem menopauzy takřka o 3 roky.

Gen kódující VDR může obsahovat rozmanité polymorfismy, vyskytují se v 5'-iniciační a 3'-nekódující oblasti genu. Některé z těchto alel samostatně nebo v kombinaci (haplotypy) mohou modifikovat stabilitu nebo úroveň exprese mRNA. Asociace VDR a BMD byla a je hodně kontroverzní, tuto souvislost potvrzuje a zároveň vyvrací mnoho studií. Zatímco množství dříve provedených studií včetně „rotter-

damské studie“ realizované dle pravidel EBM, ukazuje asociaci mezi VDR genotypy/haplotypy s BMD a frakturami, následná práce tuto souvislost nepotvrdila [24].

Tato rozporuplnost nicméně paradoxně vedla k dalšímu úsilí autorů z různých koutů světa o samostatný výzkum a statistiku zkoumající lokální souvislost polymorfismů genu pro VDR a manifestací kostních fenotypů. Polymorfismy genu pro VDR nebyly definitivně vyloučeny z úvah o souvislosti osteoporózy a manifestací kostních fenotypů, jak mimo jiné vyplývá ze závěru a konsenzu 3. summitu o osteoporóze v Budapešti [25].

Důkazem stále probíhajícího výzkumu na poli polymorfismů genu pro VDR jsou i dále uvedené práce. V bulharské populaci byla potvrzena asociace mezi BB genotypem SNP BsmI genu pro VDR a sníženou hodnotou BMD v oblasti distálního předloktí a lumbální páteře [26]. Autoři však přiznávají relativně malý populační vzorek 219 probandů. V populaci libanonských žen byla prokázána signifikantní asociace mezi polymorfismy ApaI a TaqI genu pro VDR a BMD v oblasti distálního předloktí a lumbální páteře [27]. V populaci saúdskoarabských žen byl genotyp BB SNP BsmI genu pro VDR v signifikantně častějším výskytu ve skupině pacientek s diagnostikovanou osteoporózou [28].

## Závěr

Naše výsledky tedy potvrdily mírnou ale statisticky významnou asociaci mezi genotypem BB SNP BsmI genu pro VDR a vybranými kostními fenotypy, konkrétně se nám podařilo prokázat statisticky signifikantní souvislost s BMD v oblasti krčku femuru a lumbální páteře a dále souvislost s vyšším výskytem fraktur u tohoto genotypu v populaci pacientek s postmenopauzální osteoporózou v regionu Střední Morava. Identifikace genetických variant, které jsou asociovány s osteoporózou a jednotlivými kostními fenotypy nebo s individuální odpovědí na terapii, může přispět k individualizaci prognózy, léčby a prevence nízkotraumatických zlomenin a jejich následků ve smyslu stále více skloňované „personalizované medicíny“. Kombinace genomiky s klasickým přístupem k pacientovi může tvořit základ nových terapeutických přístupů na základě propojení kliniky a bazálního výzkumu.

**Literatura:**

1. Consensus Development Conference. Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993;94:646–650.
2. Lazcano-Ponce E, Tamayo J, Díaz R et al. Correlation trends for bone mineral density in Mexican women: evidence of familiar predisposition. *Salud Publica Mex* 2009;51 Suppl 1:s93–99.
3. Ferrari S. Human genetics of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008;22(5):723–735.
4. Žofková I. Význam genetiky v predikci rizika osteoporózy. *Vnitř Lék* 2011;57(1):78–84.
5. Boyden LM, Mao J, Belsky J et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med* 2002;346(20):1513–1521.
6. Laine CM, Chung BD, Susic M et al. Novel mutations affecting LRP5 splicing in patients with osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG). *Eur J Hum Genet* 2011;19(8):875–881.
7. Morrison NA, Qi JC, Tokita A et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994;367:284–287.
8. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000;22:203–217.
9. Thakkinstian A, D'Este C, Eisman J et al. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* 2004;19:419–428.
10. Cooper GS, Umbach DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? *J Bone Miner Res* 1996;11:1841–1849.
11. Roux C. Can practitioners use the WHO definition for osteoporosis? *Joint Bone Spine* 2001;68:10–11.
12. Lei SF, Chen Y, Xiong DH et al. Ethnic difference in osteoporosis-related phenotypes and its potential underlying genetic determination. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006;6(1):36–46.
13. Zajickova K, Zofkova I, Bahbouh R et al. Vitamin D receptor polymorphisms, bone mineral density and bone turnover: FokI genotype is related to postmenopausal bone mass. *Physiol Res* 2002;51:501–509.
14. Willing M, Sowers M, Aron D et al. Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor and their interaction. *J Bone Miner Res* 1998;13:695–705.
15. Uitterlinden AG et al. The association between common receptor vitamin D gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Int Med* 2006;145:255–264.
16. Heuberger RA. The frailty syndrome: a comprehensive review. *J Nutr Gerontol Geriatr* 2011;30:315–368.
17. Garnero P, Munoz F, Borel O et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:4829–4835.
18. Fang Y, van Meurs JB, d'Alesio A et al. Promoter and 3'-untranslated-region haplotypes in the vitamin D receptor gene predispose to osteoporotic fracture: the rotterdam study. *Am J Hum Genet* 2005;77:807–823.
19. Ji GR, Yao M, Sun CY et al. BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: a meta-analysis. *Bone* 2010;47:681–686.
20. Palomba S, Orio F Jr, Russo T et al. BsmI vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int* 2005;16:943–952.
21. Zajíčková K, Žofková I, Hill M. Vliv kalcitriolu na kostní denzitu u osteopenických žen ve vztahu ke genu pro receptor vitamínu D. *Osteologický bulletin* 2003;4:119–122.
22. Matsuyama T, Ishii S, Tokita A et al. Vitamin D receptor genotypes and bone mineral density. *Lancet*. 1995;345:1238–1239.
23. Dvornyk V, Long JR, Liu PY et al. Polymorphisms of the vitamin D receptor gene predict the onset of surgical menopause in Caucasian females. *Gynecol Endocrinol* 2006;22:552–556.
24. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006;145(4):255–264.
25. Lakatos P, Balogh A, Czerwinski E et al. New considerations on the management of osteoporosis in Central and Eastern Europe (CEE): summary of the „3<sup>rd</sup> Summit on Osteoporosis-CEE“, November 2009, Budapest, Hungary. *Arch Osteoporos* 2011.
26. Ivanova J, Doukova P, Boyanov M et al. FokI and BsmI polymorphisms of the vitamin D receptor gene and bone mineral density in a random bulgarian population sample. *Endocrine* 2006;29(3):413–418.
27. Arabi A, Mahfoud Z, Zahed L et al. Effect of age, gender and calcitropic hormones on the relationship between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density. *Europ J Clin Nutr* 2010;64:383–391.
28. Ardawi MM-S PP211 – Vitamin-D receptor gene polymorphisms and bone mineral density. Presented at the 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Calcified Tissue, 26–30 June 2010, Glasgow, UK.

# Cévní kalcifikace u nemocných s chronickým selháním ledvin: epidemiologie, diagnostika a možnosti terapeutického ovlivnění

F. ŠVÁRA

*Interní odd. Strahov, Všeobecná fakultní nemocnice v Praze*

## SOUHRN

Švára F.: Cévní kalcifikace u nemocných s chronickým selháním ledvin: epidemiologie, diagnostika a možnosti terapeutického ovlivnění

Výskyt cévních kalcifikací (CK) je v populaci pacientů s chronickým onemocněním ledvin významně vyšší než v běžné populaci. Vysoký výskyt CK a jejich progresse je jedním z faktorů vysoké morbidity a mortality této populace. Diagnostika CK je založena nejčastěji na radiologických a ultrazvukových vyšetřeních, metodika kvantifikace výskytu CK je ale značně nejednotná. Medikace, používaná ke komplexní léčbě CKD-MBD, může vývoj CK jak zpomalovat, tak i akcelarovat.

*Klíčová slova: cévní kalcifikace, chronické selhání ledvin, fosfátové vazáče, vitamín D, kalcimimetika*

## SUMMARY

Švára F.: **Vascular calcifications in patients with chronic kidney failure: epidemiology, diagnosis and possible therapy**

Vascular calcifications (VCs) are significantly more frequent in patients with chronic kidney disease than in the normal population. The high incidence of VCs and their progression are among factors causing high morbidity and mortality in these patients. The diagnosis of VCs is most frequently based on radiological and ultrasound examinations. However, the methods used for quantifying the incidence of VCs are rather varied. Medications used to treat CKD-MBD may both decelerate and accelerate the progression of VCs.

*Keywords: vascular calcifications, chronic kidney failure, phosphate binders, vitamin D, calcimimetics*

*Osteologický bulletin 2012;17(1):8-13*

**Adresa:** MUDr. František Švára, Interní odd. Strahov VFN v Praze, Šermířská 5, 169 00 Praha 6, email: fsvara@atlas.cz

Došlo do redakce: 14. 11. 2011

Přijato k tisku: 23. 3. 2012

## Úvod

Výskyt cévních kalcifikací (CK) v populaci pacientů s chronickým selháním ledvin je mimořádně vysoký. V závislosti na použité metodice až 92 % při použití moderních diagnostických zobrazovacích metod [1]. Vysoká prevalence cévních kalcifikací ale není specifickým posledních několika let, kdy se podstatně zvýšil průměrný věk dialyzované populace a podíl pacientů s DM. Starší studie na toto téma ukazují jen mírně nižší prevalenci [2,3] a nárůst v současnosti je spíše podmíněn lepší diagnostikou tohoto jevu.

Vývoj CK není samozřejmě jev specifický pro skupinu pacientů s chronickým onemocněním ledvin. V epidemiologii, patofyziologii, v morfologii i v léčbě cévních kalcifikací je ale řada odlišností od běžné populace, kterým je třeba věnovat pozornost.

## Diagnostika cévních kalcifikací

Diagnostika CK má dvě zásadní úskalí: jakou metodu zvolit a jakou oblast tepenného řečiště vyšetřovat. Obě tyto otázky spolu do jisté míry souvisí. Po stránce metodiky je

možné k diagnóze CK použít metody radiologické, ultrazvukové a v omezené míře autoptické (histologické).

Radiologické metody jsou založeny buď na běžném RTG snímku vybrané anatomické oblasti, nebo na modifikovaném CT vyšetření. Při běžném RTG vyšetření je přítomnost CK vyjádřena kvalitativně (pozitivní/negativní) nebo častěji kvantitativně, resp. semi-kvantitativně za použití indexů, vytvořených pro specifikovanou anatomickou oblast. Anatomicky se tato vyšetření provádějí jako boční snímek břišní aorty [4], aortálního oblouku [5], nebo rukou a pánve [6]. Z výše uvedeného výčtu je zřejmá značná nejednotnost v použití této metodiky, což je její velkou nevýhodou. Recentní klinická doporučení pro kostní problematiku u chronického onemocnění ledvin (KDIGO guidelines) tento problém částečně řeší tím, že jako screeningovou metodu doporučují konvenční RTG boční snímek břišní aorty [7], což pravděpodobně povede k jejímu většímu rozšíření a standardizaci. Výsledek tohoto semikvantitativního hodnocení bývá někdy označován podle svého autora jako Kauppila score. Největšími výhodami této metody je jistě

téměř absolutní dostupnost, nízká radiační zátěž, nízká cena a jednoduché hodnocení, které nevyžaduje speciální software ani výpočetní techniku.

Hodnocení přítomnosti cévních kalcifikací (resp. jejich kvantifikace) za použití CT techniky se provádí jako tzv. electron beam CT (EBCT), nebo za použití moderních CT přístrojů jako multi-detekční CT (MDCT). Tyto technicky odlišné metody slouží k vlastnímu pořízení CT snímků a technicky jsou považovány za srovnatelné [8]. Cílovým orgánem pro CT vyšetření CK je téměř exkluzivně srdce, takže výsledek tohoto vyšetření popisuje míru přítomnosti CK v koronárních tepnách, v chlopňovém aparátu, event. v samotném myokardu. CT snímky jsou hodnoceny softwarem a výsledkem vyšetření je kvantitativní veličina, vyjádřená jako Agatstonovo skóre [9] nebo jako objemové skóre [10]. Výhodou CT metod je precizní, na lidském faktoru nezávislé hodnocení, které navíc popisuje výskyt cévních kalcifikací v srdci jakožto orgánu, jehož postižení je pro klinické konsekvence CK klíčové. Nevýhodou metod, založených na CT, je vyšší cena, náročnější technické vybavení a nezanedbatelná radiační CT zátěž.

Ultrazukové techniky detekce a kvantifikace VK se používají v rámci běžného echokardiografického vyšetření [11] nebo při vyšetření specifikovaných periferních tepen, nejčastěji karotid a femorálních tepen. Výhodou metod založených na UZ je, mimo dostupnosti a nízké ceny, také nulová radiační zátěž. Nevýhodou je ale absence podrobnějšího skórovacího systému, takže výsledek vyšetření je jen velmi hrubě semikvantitativní, např. vyjádřený počtem kalcifikovaných chlopní při použití echokardiografie.

Diagnostika CK na základě autoptického vyšetření vzorku cévní stěny je metodou spíše používanou v klinickém výzkumu. Takové vyšetření lze bez poškození pacienta provést např. před renální transplantací odběrem cévní stěny zevní ilické tepny před založením tepenné anastomózy s tepnou renálního štěpu [12].

### Epidemiologie CK u nemocných s chronickým onemocněním ledvin

Vysoká prevalence CK v populaci nemocných s chronickým onemocněním ledvin je dána koincidencí nescifických faktorů rozvoje CK (tzn. takových, které se uplatňují i v běžné populaci, např. vysoký věk a diabetes mellitus) a faktorů specifických pro chronické onemocnění ledvin a jeho léčbu. Vliv specifických, jako je hyperfosfatémie, pozitivní kalciová bilance, oxidativní stres, chronický zánětlivý stav apod., je obzvláště vyjádřen u pacientů s nezvratným selháním ledvin ve stadiu dialyzační léčby.

Studii, které popisují prevalenci CK u nemocných s různým stupněm renální dysfunkce, je celá řada. Vzhledem k metodické, anatomické a populační nejednotnosti nepřekvapí vysoký rozptyl výskytu cévních kalcifikací, kolísající mezi 23 % [13] a 92 % [1]. Pokud bychom výběr zúžili na studie, kde detekce cévních kalcifikací byla provedena metodou EBCT nebo MDCT, pak bychom mohli vysledovat jasný trend k nárůstu výskytu CK v souvislosti s progresí renální insuficience. Ve studii s pacienty v predialyzačním stadiu renální nedostatečnosti (CKD 3-5) byl výskyt CK 51 % [14], u incidentních hemodialyzovaných pacientů (CKD 5D) 63 % [15] a u dlouhodobě dialyzovaných 92 %

[1]. Toto odpovídá celosvětovému konsenzu, že míra výskytu CK a jejich závažnost rostou s tíží renální dysfunkce a délkou event. dialyzační léčby.

Srovnatelná data, která by popisovala výskyt cévních kalcifikací ve všeobecné populaci, jsou jen limitovaná. Z důvodu radiační zátěže nejsou „non-renální“ pacienti vyšetřováni stejnými metodami, takže pro srovnání lze použít data ze studií, které byly cíleny na jinou oblast. Subanalýza španělské větve studie EVOS (zaměřené na osteoporózu) např. prokázala plynulý nárůst prevalence CK v závislosti na věku, ale i v nejvyšším věkovém rozmezí (nad 75 let) byl výskyt CK jen 60 % [16].

Několik neintervenciálních studií studovalo vývoj CK u pacientů s renální insuficiencí (dialyzovaných i nedialyzovaných) v čase. S určitou mírou zjednodušení lze konstatovat, že „přirozeným“ vývojem CK je pomalá, ale setrvalá progresse. Zajímavým zjištěním, které se v několika studiích opakovalo, byl fakt, že jedním z faktorů progresse byla vlastní přítomnost cévních kalcifikací iniciálně. Tzn. nemocní, kteří neměli CK na počátku sledovaného období, měli značnou šanci setrvat bez kalcifikací po celou dobu sledování (12–36 měsíců), kdežto pacienti s iniciálním průkazem CK většinou významně progredovali [17,18].

### Morfologie a patofyziologie a CK u pacientů s onemocněním ledvin

Morfologicky se cévní kalcifikace CK u pacientů s onemocněním ledvin vyskytují ve dvou relativně oddělených formách: a to jako kalcifikace intimální (postihující t. intimu) a mediální (postihující t. media).

Intimální cévní kalcifikace CK představují komplikaci pokročilé aterosklerózy (tudíž tento obraz není specifický pro onemocnění ledvin) a histologicky se jedná o kalcifikaci aterosklerotického plátu. Tyto léze bývají často stenozující, tzn. mají dopad na perfuzi cílové oblasti. Postižení tepen tímto typem CK je většinou nelineární a tvoří jednotlivé léze, které postihují cévní stěnu nekontinuálně.

Mediální cévní kalcifikace CK naproti tomu většinou nevedou k výrazné stenóze tepny, kalcifikace je rovnoměrně rozmístěna po celém obvodu tepny. Hemodynamickým důsledkem mediálních CK není ischemie, ale snížená poddajnost (compliance) a zvýšená cévní rezistence. Průběh mediálních CK je většinou lineární. Mimo toho, že postihují tepennou stěnu po většině jejího obvodu, tak také postupují po stěně tepny kontinuálně v její délce. Tento typ postižení je specifický (i když ne absolutně) pro nemocné s DM a/nebo chronickým onemocněním ledvin. Je zřejmé, že oba typy postižení jsou mezní situace a u významné části nemocných je postižení tepenného řečiště kombinací obou typů CK.

Klinické odlišení typu cévních kalcifikací je možné spíše odhadem na základě analýzy rentgenového obrazu, použití jiných uvedených zobrazovacích metod je v tomto směru problematické. Některé publikace prokazují horší prognózu u pacientů s intimálním typem CK ve srovnání s mediálním typem postižení [19]. Takové rozdělení nemocných v běžné klinické praxi zatím nemá klinický ani terapeutický výstup.

Patogeneze cévních kalcifikací je značně komplexní proces, jehož popis přesahuje rámec této publikace. Původní představa, že se jedná o pasivní, spíše fyzikálně-chemický

(pod vlivem kalcia, fosforu a pH) než biologický proces, je v současnosti zcela opuštěna. Současné teorie vzniku CK považuje za klíčový moment vývoje CK dediferenciaci buněk hladké svaloviny cévních stěn (VSMC) a jejich fenotypovou přestavbu na buňky podobné chondrocytům a osteocytům (chondrocyte/osteocyte like cells). Tento proces probíhá jako důsledek nerovnováhy mezi prokalcifikačními a protikalcifikačními vlivy. Mezi prokalcifikační faktory patří vysoké sérové koncentrace kalcia a fosforu, vyšší věk, DM, podávání nativního vitamínu D, oxidativní stres aj., naopak mezi nejlépe prozkoumané inhibující faktory kalcifikace patří fetuin A, osteoprotegerin a MGP (Matrix Gla protein) [20].

### Klinický význam cévních kalcifikací

Výskyt cévních kalcifikací a jejich dopad na dlouhodobé morbiditní a mortalitní ukazatele byl popsán v celé řadě publikací. Tyto práce byly provedeny se všemi skupinami „renálních“ pacientů, tzn. jak s nemocnými, léčenými hemodialýzou [6,19], tak i s pacienty na peritoneální dialýze [21], po transplantaci ledviny [22] nebo s chronickou renální insuficiencí v predialyzačním stadiu [23]. Bez ohledu na rozdílnou použitou metodiku detekce CK bylo ve vzácné shodě ve všech těchto studiích prokázáno, že přítomnost CK nebo jejich progresse jsou nezávislým prediktorem pro celkovou a kardiovaskulární morbiditu a mortalitu.

### Léčba cévních kalcifikací

V současné době není v klinické praxi žádný preparát ani léčebný postup, jehož primární indikací by byla léčba cévních kalcifikací. Hlubší pochopení patofyziologie cévních kalcifikací dává naději, že se takový prostředek v léčbě pacientů s chronickým onemocněním ledvin v budoucnu objeví.

Na druhé straně, řada faktorů rozvoje CK je terapeuticky ovlivnitelná a dobře je např. dokumentován vliv preparátů používaných k léčbě kostní a minerálové poruchy při onemocnění ledvin (CKD-BMD). Jedná se o různé typy fosfátových vazačů, různé typy aktivátorů receptoru vitamínu D (VDRA) a kalcimimetikum cinacalcet.

### Fosfátové vazače

Fosfátové vazače jsou podávány dialyzovaným pacientům s cílem snížit absorpci fosfátů přijatých p. o. ve stravě, a tím udržet sérovou fosfatémii na doporučených hodnotách. Z pohledu vlivu na incidenci a prevalenci CK je klíčové rozdělení používaných fosfátových vazačů na preparáty kalciové a nekalciové.

Mezi **kalciové preparáty** patří zejména kalcium karbonát a kalcium acetát. Jejich požívání v indikaci fosfátového vazače je provázeno řadou nežádoucích účinků. Mimo obstipace a jiných GIT potíží to je zejména indukce hyperkalcémie jako důsledek pozitivní kalciové bilance, ke které dochází absorpcí části orálně podaného kalcia. V podmínkách renální insuficience nebo dialyzační léčby má organismus velmi limitované možnosti exkrece nadbytečného kalcia, a tak je akcelerace tvorby CK logickým následkem. Konkomitantní podávání neselektivních preparátů vitamínu D, např. nativního kalcitriolu, tuto situaci jen zhoršuje.

Progrese CK při podávání kalciových vazačů byla prokázána jak v placebem kontrolovaných studiích [24,25], tak

i ve srovnání s nekalciovými vazači, kde kalciové vazače představovaly kontrolní skupinu [26].

Jasně dokumentovaný potenciál kalciových vazačů indukovat tvorbu CK byl zohledněn v recentních klinických doporučeních [7], které sice zdůrazňují snahu o snížení abnormální fosfatémie, současně ale trvají na udržení normokalcémie a doporučují omezovat používání vazačů na bázi kalcia, a to zejména u pacientů s již prokázaným výskytem CK nebo s adynamickou kostní nemocí (kde není předpoklad inkorporace kalcia do skeletu). Maximální doporučená dávka těmito klinickými doporučeními definována ale není.

První alternativou k fosfátovým vazačům na bázi kalcia byl **sevelamer hydrochlorid (Renagel®)**, uvedený do široké klinické praxe v 90. letech minulého století. Z pohledu ovlivnění laboratorních parametrů CKD-BMD je důležité, že sevelamer nemá z GIT žádnou absorpci a neobsahuje žádné kalcium. Nijak tedy neovlivňuje bilanci kalcia, což mu dává předpoklad pro zpomalení progresse CK. Sevelamer je chemicky příbuzný pryskyřičným hypolipidemikům a částečně si uchovává svoji schopnost vázat cholesterol a řada prací dokumentuje snižování LDL-cholesterolu o cca 30 % jako vedlejší efekt léčby sevelamerem [27,28].

V přímém srovnání s kalciovými vazači formou prospektivní randomizované kontrolované studie (RCT) se ukázalo, že při léčbě sevelamerem dochází ke statisticky významně nižší progresi CK než při použití kalciových vazačů (Treat to goal studie [26], RIND studie [29]). Jiná RCT podobného designu (CARE-2) ale tyto závěry nepotvrdila, resp. prokázala stejnou míru progresse CK za předpokladu, že obě skupiny dosahují stejných parametrů lipidového metabolismu [30]. Je tedy možné, že část benefitu sevelameru ve smyslu zpomalení progresse CK je zprostředkována jinými mechanismy než jen snížením sérové fosfatémie, a to snížením LDL-cholesterolu, nebo ovlivněním zánětlivého stavu (snížením sérového CRP), hyperurikémie nebo oxidativního stresu [31].

Výše uvedené studie dávaly naději, že zpomalení progresse CK při léčbě hyperfosfatémie sevelamerem může snížit celkovou a kardiovaskulární morbiditu a mortalitu. Velká prospektivní randomizovaná studie DCOR tento předpoklad ale nepotvrdila [32,33].

Druhým zástupcem skupiny nekalciových vazačů fosfátů je **lanthan karbonát (Fosrenol®)**. Jeho klinická bezpečnost, efektivita a dopad na kostní histomorfometrii byl dokumentován v několika studiích [34–36]. V žádné z těchto relativně velkých studií s lanthan karbonátem nebyl posuzován jeho vliv na rozvoj CK. Na základě známých biochemických vlastností lanthan karbonátu (efektivní vazač fosfátu, nulový obsah kalcia, minimální GIT absorpce) a několika prací, provedených na zvířatech, lze předpokládat, že jeho užívání povede spíše k zpomalení progresse CK. Tento předpoklad částečně potvrdila zatím jediná publikovaná RCT [37]. Jedná se ale o práci z jednoho centra s malým počtem pacientů.

### Aktivátory receptoru vitamínu D (VDRA)

Při posuzování vlivu VDRA je nutné (stejně jako u fosfátových vazačů) rozlišovat jednotlivé preparáty, protože jejich vliv na rozvoj CK je právě jedním z důležitých rozdílů mezi jednotlivými molekulami.

Tradičně a dlouhodobě používaný **kalcitriol** je známý svou schopností potencovat rozvoj CK [38]. Tento fenomén je známý z minulosti, kdy byl kalcitriol jednou farmakologickou možností suprese sekundární hyperparathyreózy a byl podáván ve velkých dávkách [39,40]. Nepříznivý prokalcifikační vliv kalcitriolu je částečně zprostředkován jeho mineralotropním působením – zvýšená střevní absorpce kalcia a fosforu zvyšuje sérové koncentrace těchto minerálů. Práce na experimentálních zvířatech ale naznačují, že ve farmakologických dávkách podporuje rozvoj CK také přímo, cestou inhibice exprese PTHrP (PTH related peptide) [41].

Současná léčebná doporučení už nekladou primární důraz na supresi PTH hladin jakožto primární terapeutický cíl, navíc cílové rozmezí pro hodnoty PTH se rozšířilo [7], což obojí vede ke snižování dávek podávaného kalcitriolu. Tato změna taktiky léčby sekundární hyperparathyreózy (spolu s uvedením nekalciových vazáčů fosfátů) snižuje rizika, spojená s potenciálně prokalcifikačním účinkem kalcitriolu.

Mineralotropní nežádoucí účinky kalcitriolu byly jedním ze stimulů pro vývoj syntetických analogů vitamínu D, tzn. molekul, které by si zachovaly schopnost suprese patologicky zvýšené tvorby PTH a pozitivní pleiotropní ovlivnění, ale na druhé straně by postrádaly (či minimalizovaly) negativní efekt na kalcémii a fosfatémii. Tyto molekuly bývají označovány jako selektivní aktivátory receptoru vitamínu D (selective VDRA). V ČR dostupný **parikalcitol (Zemplar®)** je nejvýznamnějším zástupcem této skupiny.

Rozdíly v ovlivnění biochemických parametrů CKD-BMD při léčbě parikalcitolem vs. kalcitriolem byly prokázány řadou prací na zvířecích modelech [42,43] a částečně formou RCT na populaci dialyzovaných pacientů [44]. Snižené ovlivnění sérových koncentrací kalcia a fosforu je logickým předpokladem, aby parikalcitol ve srovnání s kalcitriolem méně potencoval tvorbu CK. Tento fenomén je dobře dokumentovaný, i když v současnosti zatím pouze pracemi, provedenými s laboratorními zvířaty [45,46]. Stejně jako u nekalciových vazáčů fosfátu, i v případě parikalcitolu může být část benefičního působení parikalcitolu zprostředkována jinými mechanismy než ovlivněním kalcémie a fosfatémie, např. cestou snížení chronického zánětlivého stavu [47] nebo cestou ovlivnění fetuinu A [48].

### Kalcimimetika

Cinacalcet je první a zatím jedinou látkou ze skupiny kalcimimetik, která byla uvedena do klinické praxe. Mechanismem účinku cinacalcetu je nepřímá aktivace kalcium-sensing receptoru (CaR). Vazbou na transmembránovou část receptoru cinacalcet indukuje konformační změny, které mají za svůj důsledek zvýšení citlivosti na extracelulární koncentraci kalcia. Takové buňky pak reagují podobně, jako kdyby byly vystaveny zvýšené kalcémii. Kalcium sensing receptor byl od doby svého objevení lokalizován v řadě orgánů, terapeuticky je ale zatím využívána pouze jeho vysoká exprese na povrchu hlavních buněk příštítných tělísek, kde podání cinacalcetu blokuje sekreci parathormonu.

Mimo poklesu sérových koncentrací PTH dochází při léčbě cinacalcetem také k poklesu sérových koncentrací kalcia a fosforu. Z dlouhodobých klinických efektů se ukazuje (na základě hodnocení observačních studií), že cinacalcet ve

srovnání s „běžnou“ léčbou může snižovat riziko parathyroidectomie, zlomeniny a hospitalizace z kardiovaskulárních příčin [49] a snižovat celkovou mortalitu [50]. Prospektivní RCT, které by potvrdily tyto dlouhodobé klinické efekty, jsou v současnosti krátce před svým dokončením.

Snížení sérových koncentrací PTH, kalcia a fosforu dává jasný předpoklad, že při léčbě cinacalcetem by se měla zpomalovat progres CK, což bylo mj. prokázáno v pracích na zvířecích modelech [51]. K potvrzení této hypotézy v lidské populaci pacientů s chronickým selháním ledvin byla uspořádána velká prospektivní RCT, studie ADVANCE.

Tato studie je jedním z nemnoha sledování, ve kterých je vývoj CK primárním endpointem. Jako metoda sledování CK bylo zvoleno MDCT, přítomnost CK byla kvantifikována v koronárních tepnách, hrudní aortě, mitrální a aortální chlopni jak stanovením Agatstonova, tak i objemového skóre. MDCT vyšetření bylo provedeno při vstupu do studie, po 28 a 52 týdnech (konec sledování). Do studie bylo zařazeno 737 pacientů, ale díky přísným kritériím pro vstup do studie bylo randomizováno 360 prevalentních hemodialyzovaných pacientů. Zařazovací kritéria obsahovala mj. podmínku minimálního (> 30) Agatstonova skóre při vstupu, biochemické parametry musely splňovat indikační kritéria pro cinacalcet, vyloučeno bylo používání nekalciových vazáčů fosfátů. Pacienti byli na vstupu do studie randomizováni k léčbě cinacalcetem + nízkými dávkami libovolného vitamínu D nebo k léčbě variabilními dávkami vitamínu D. Obě skupiny byly mezi sebou adekvátně balancovány ve smyslu laboratorních vstupních parametrů, komorbidit a jiných anamnestických dat, s výjimkou vstupní koncentrace fosforu (vyšší ve skupině cinacalcet + nízké dávky vit. D) a výskytu městnavého srdečního selhání (nižší ve skupině cinacalcet + nízké dávky vit. D). Rovněž výskyt CK na vstupu do studie byl v obou skupinách rovnomený [52]. 235 subjektů dokončilo studii a bylo předmětem jejího hodnocení.

Ve všech sledovaných lokalitách (koronární tepny, hrudní aorta, mitrální a aortální chlopeč) a při použití obou kvantifikačních technik se ukázala léčba cinacalcetem a nízkými dávkami vit. D jako benefiční, i když rozdíl proti kontrolní skupině nedosáhl ve všech lokalitách statistické významnosti. Primární endpoint studie, kterým byl medián % změny (nárůstu) CK v koronárních tepnách, hodnocený metodou Agatstonova skóre nebyl zlepšen statisticky významně ( $p = 0,073$ ), při použití objemového skóre ve stejné lokalitě byl rozdíl ve snížení nárůstu CK v prospěch skupiny intervenované cinacalcetem statisticky významný. Stejně tak byl statisticky významně snížen nárůst kalcifikace aortální chlopně, a to obojí metodikou [53]. Bude-li pozitivní trend v ovlivnění dlouhodobých klinických výsledků cinacalcetem mít dopad i na mortalitu a morbiditu, prokáže mj. v současnosti končící studie EVOLVE.

### Závěr

Vysoká prevalence cévních kalcifikací a jejich progresivní vývoj je u skupiny pacientů s chronickým onemocněním ledvin podmíněn kumulací nespécifických a specifických rizikových faktorů. Vývoj cévních kalcifikací často neprobíhá kontinuálně, ale chová se jako „prahová“ veličina, kdy ke klinicky detekovatelné, akcelerované progresi dochází až po dosažení určité míry kalcifikace v dané oblasti. V současné

době není znám žádný terapeutický postup, který by dokázal vývoj cévních kalcifikací zastavit nebo dokonce umožňoval regresi již vzniklých CK. Dokonce i pacienti po transplantaci ledviny, u kterých je náhrada funkce ledvin zajištěna nekomplexněji, v dalším sledování CK progredují, i když pomaleji než srovnatelná populace, pokračující v dialyzační léčbě [54]. Část faktorů, které se na progresi CK podílejí, je terapeuticky neovlivnitelná.

Současná léčba, resp. spíše management cévních kalcifikací spočívá ve snaze zpomalit vývoj CK u pacientů, kde ještě nejsou CK vytvořeny, a zpomalit progresi CK tam, kde již vytvořeny jsou. Kompenzace laboratorních parametrů CKD-BMD je primárním terapeutickým cílem, preferenčně za použití takových terapeutických postupů, u kterých byl prokázán potenciál progresi cévních kalcifikací zpomalovat.

### Literatura:

- Nitta K, Akiba T, Suzuki K, et al. Assessment of coronary artery calcification in hemodialysis patients using multi-detector spiral CT scan. *Hypertens Res* 2004; 27:527–533.
- Goldsmith DJ, Covic A, Sambrook PA, Ackrill P. Vascular calcification in long-term haemodialysis patients in a single unit: a retrospective analysis. *Nephron* 1997;77(1):37.
- Meema HE, Oreopoulos DG. Morphology, progression, and regression of arterial and periarterial calcifications in patients with end-stage renal disease. *Radiology* 1986;158(3):671.
- Kaupila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-years follow-up study. *Atherosclerosis* 1997;132:245–250.
- Ogawa T, Ishida H, Matsuda N et al. Simple evaluation of aortic arch calcification by chest radiography in hemodialysis patients. *Hemodial Int* 2009;13:301–306.
- Adragao T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Goncalves M, Negrao AP. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1480–1488.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009; Suppl 113:S1–S130.
- Mieres JH, Shaw LJ, Arai A et al. Role of noninvasive testing in the clinical evaluation of men with suspected coronary artery disease: *Circulation*. 2005; 111(5):682.
- Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M Jr, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990;15:827–832.
- Callister TQ, Cooil B, Raya SP, Lippolis NJ, Russo DJ, Raggi P. Coronary artery disease: improved reproducibility of calcium scoring with an electron-beam CT volumetric method. *Radiology* 1998;208:807–814.
- Ribeiro S, Ramos A, Brandao A, Rebelo JR, Guerra A, Resina C, Vila-Lobos A, Carvalho F, Remedio F, Ribeiro F. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:2037–2040.
- Schlieper G, Aretz A, Verberckmoes SC et al. Ultrastructural Analysis of Vascular Calcifications in Uremia. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:689–696.
- Panuccio V, Tripepi R, Tripepi G et al. Heart valve calcifications, survival, and cardiovascular risk in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2004;43:479–484.
- Russo D, Corrao S, Miranda I et al. Progression of coronary artery calcification in predialysis patients. *Am J Nephrol* 2007;27:152–158.
- Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; 68:1815–1824.
- Naves M, Díaz-López JB, Gómez C, Rodríguez-Rebollar A, Rodríguez-García M, Cannata-Andía JB. The effect of vertebral fracture as a risk factor for osteoporotic fracture and mortality in a Spanish population. *Osteoporosis International* 2011;14(6):520–524.
- Sigrist MK, Taal MW, Bungay P et al. Progressive vascular calcification over 2 years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stages 4 and 5 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2: 1241–1248.
- Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; 68:1815–1824.
- London GM, Guerin AP, Marchais SJ et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1731–1740.
- Nitta, K. Vascular Calcification in Patients With Chronic Kidney Disease. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. doi: 10.1111/j.1744-9987.2011.00979.x
- Wang AY, Wang M, Woo J et al. Cardiac valve calcification as an important predictor for all-cause mortality and cardiovascular mortality in long-term peritoneal dialysis patients: a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:159–168.
- Hernandez D, Rufino M, Bartolomei S et al. Clinical impact of preexisting vascular calcifications on mortality after renal transplantation. *Kidney Int* 2005;67: 2015–2020.
- Sigrist MK, Taal MW, Bungay P et al. Progressive vascular calcification over 2 years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stages 4 and 5 chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2: 1241–1248.
- Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000;342(20):1478.
- Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S et al. Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(6):1489.
- Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62(1):245.
- Chertow GM, Burke SK, Dillon MA, Slatopolsky E. Long-term effects of sevelamer hydrochloride on the calcium x phosphate product and lipid profile of haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:2907.
- Burke SK, Dillon MA, Hemken DE et al. Metaanalysis of the effect of sevelamer on phosphorus, calcium, PTH, and serum lipids in dialysis patients. *Adv Ren Replace Ther* 2003;10:133.
- Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; 68:1815–1824.
- Quinibi W, Moustafa M, Muenz LR et al. A 1-year randomized trial of calcium acetate versus sevelamer on progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients with comparable lipid control: the Calcium Acetate Renal Evaluation-2 (CARE-2) study. *Am J Kidney Dis* 2008;51:952–965.
- Ferramosca E, Burke S, Chasan-Taber S, Ratti C, Chertow GM, Raggi P. Potential antiatherogenic and anti-inflammatory properties of sevelamer in maintenance hemodialysis patients. *Am Heart J* 2005;149(5):820.
- Suki WN, Zabaneh R, Cangiano JL et al. Effects of sevelamer and calcium-based phosphate binders on mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007;72: 1130–1137.
- St Peter WL, Liu J, Weinhandl E et al. A comparison of sevelamer and calcium-based phosphate binders on mortality, hospitalization, and morbidity in hemodialysis: a secondary analysis of the Dialysis Clinical Outcomes Revisited (DCOR) randomized trial using claims data. *Am J Kidney Dis* 2008;51:445–454.
- Finn WF. Lanthanum carbonate versus standard therapy for the treatment of hyperphosphatemia: safety and efficacy in chronic maintenance hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2006;65:191–202.
- Hutchison AJ, Maes B, Vanwalleghem J et al. Efficacy, tolerability, and safety of lanthanum carbonate in hyperphosphatemia: a 6-month, randomized, comparative trial versus calcium carbonate. *Nephron Clin Pract* 2005;100:c8–19.
- Malluche HH, Siami GA, Swanepoel C et al. Improvements in renal osteodystrophy in patients treated with lanthanum carbonate for two years. *Clin Nephrol* 2008;70:284–295.
- Toussaint ND, Lau KK, Polkinghorne KR, Kerr PG. Attenuation of aortic calcification with lanthanum carbonate versus calcium-based phosphate binders in haemodialysis: A pilot randomized controlled trial. *Nephrology* 2011;16(3):290–298.
- Tukaj C, Kubasik-Jurancic J, Kraszpuski M. Morphological changes of aortal smooth muscle cells exposed to calcitriol in culture. *Med Sci Monit* 2000; 6(4):668.
- Milliner DS, Zinsmeister AR, Lieberman E, Landing B. Soft tissue calcification in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1990;38(5):931.
- Goldsmith DJ, Covic A, Sambrook PA, Ackrill P. Vascular calcification in long-term haemodialysis patients in a single unit: a retrospective analysis. *Nephron* 1997;77(1):37.
- Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. *Circulation* 1998; 98(13):1302.
- Nakane M, Fey TA, Dixon DB et al. Differential effects of Vitamin D analogs on bone formation and resorption. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2006;98:72–77.
- Slatopolsky E, Cozzolino M, Finch JL. Differential effects of 19-nor-1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub> and 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>2</sub> on calcium and phosphorus in normal and uremic rats. *Kidney Int* 2002;62:1277–1284.
- Sprague SM, Llach F, Amdahl M, Taccetta C, Battle D. Paricalcitol versus calcitriol in the treatment of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003; 63(4):1483.
- Mizobuchi M, Finch JL, Martin DR, Slatopolsky E. Differential effects of vitamin D receptor activators on vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int* 2007; 72(6):709.
- Wu-Wong JR, Melnick J. Vascular calcifications in chronic kidney failure: role of vitamin D receptor. *Curr Opin Investig Drugs* 2007;8(3):237–247.
- Stenvinkel P, Ketteler M, Girndt M et al. IL-10, IL-6, and TNF- $\alpha$ : Central factors in the altered cytokine network of uremia – The good, the bad, and the ugly. *Kidney Int* 2005;67:1216–1233.
- Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Bohm R

- et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003; 361:827–833.
49. Cunningham J, Danese M, Olson K, Klassen P, Chertow GM. Effects of the calcimimetic cinacalcet HCl on cardiovascular disease, fracture, and health-related quality of life in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2005;68(4):1793.
50. Block GA, Zaun D, Smits G, Persky M, Brillhart S, Nieman K, Liu J, St Peter WL. Cinacalcet hydrochloride treatment significantly improves all-cause and cardiovascular survival in a large cohort of haemodialysis patients. *Kidney Int* 2010;78(6):578.
51. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E et al. The effect of calcitriol, paricalcitol, and acalcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int* 2008; 73:300–307.
52. Floege J, Raggi P, Block GA et al. Study design and subject baseline characteristics in the ADVANCE Study: effects of cinacalcet on vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25(6):1916–1923.
53. Raggi P, Chertow GM, Torres PU et al. The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:1327–1339.
54. Moe SM, O'Neill KD, Reslerova M, Fineberg N, Persohn S, Meyer CA. Natural history of vascular calcification in dialysis and transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19(9):2387.

# Diagnostika, prevence a léčba kostní a minerálové poruchy při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD): KDIGO doporučení a navazující iniciativy národních a nadnárodních pracovních skupin

S. DUSILOVÁ SULKOVÁ

*Klinika nefrologie, IKEM, Praha*

## SOUHRN

Dusilová Sulková S.: **Diagnostika, prevence a léčba kostní a minerálové poruchy při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD): KDIGO doporučení a navazující iniciativy národních a nadnárodních pracovních skupin**

Jsou uvedeny základní teze KDIGO doporučení pro diagnostiku a léčbu minerálové a kostní nemoci při chronickém onemocnění ledvin (CKD-MBD, chronic kidney disease – mineral bone disorder), publikované v roce 2009.

Definice a charakteristika CKD-MBD byla poprvé představena v roce 2006. Znamená nový pohled na renální kostní nemoc, zohledňuje patofyziologické a klinické souvislosti mezi poruchou kostního metabolismu a postižením kardiovaskulárního systému při chronickém onemocnění ledvin a při jejich selhání.

Doporučení se opírají o definované cílové koncentrace laboratorních ukazatelů (sérové koncentrace kalcia, fosforu, parathormonu a calcidiolu) v jednotlivých stádiích chronického onemocnění ledvin (CKD), včetně dialyzovaných pacientů (CKD 5D) a pacientů transplantovaných (CKD-T). Uvádějí i vyšetřovací postupy zaměřené na renální osteopatii v užším slova smyslu a na cévní komponentu CKD-MBD. Dále jsou uvedeny i základní principy léčby, včetně kontroly účinnosti i bezpečnosti. V závěru jsou uvedeny hlavní směry klinického výzkumu.

KDIGO doporučení přináší oproti předchozímu textu KDOQI některé nové přístupy. Zejména se jedná o důraz na hodnocení laboratorních i dalších výsledků v čase a ve vzájemných souvislostech (dynamický přístup), na potřebu spolupráce mezi klinickým pracovištěm a laboratoří. Z hlediska klinické praxe je důležité, že KDIGO doporučení se opírají o základní a dostupné vyšetřovací metody.

*Klíčová slova: chronické onemocnění ledvin, renální osteopatie, CKD-MBD, KDIGO, doporučený postup*

## SUMMARY

Dusilová Sulková S.: **Diagnosis, prevention and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD): KDIGO guideline and subsequent initiatives of national and multinational working groups**

The article states the basic principles of the 2009 KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD).

The definition and characteristics of CKD-MBD were first introduced in 2006. It represents a new perspective on renal bone disease, taking into consideration pathophysiological and clinical connections between metabolic bone disease and involvement of the cardiovascular system in chronic kidney disease and failure.

The guideline is supported by defined target concentrations of laboratory markers (serum levels of calcium, phosphorus, parathormone and calcidiol) in individual stages of chronic kidney disease (CKD), including dialysis patients (CKD 5D) and transplantation patients (CKD T). It includes evaluation techniques focused on renal osteodystrophy in the narrower sense of the word and the vascular component of CKD-MBD. Additionally, the basic principles of treatment, including its effectiveness and safety, are stated. The final part defines the main directions of clinical research.

As compared with the previous KDOQI text, the KDIGO guideline provides some new approaches. In particular, emphasis is put on the assessment of laboratory and other findings in time and relations (a dynamic approach), and the need for cooperation between clinical facilities and laboratories. From a clinical practice perspective, it is important that the KDIGO guideline is based on basic and available examination methods.

*Keywords: chronic kidney disease, renal osteodystrophy, CKD-MBD, KDIGO, guideline*

*Osteologický bulletin 2012;17(1):14–20*

**Adresa:** Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc., MBA, Klinika nefrologie, IKEM, Vídeňská 1958/9, 140 21 Praha 4-Krč, e-mail: sydu@ikem.cz

Došlo do redakce: 27. 11. 2011

Přijato k tisku: 17. 4. 2012

## Úvod

Porucha kostního a minerálového metabolismu je jednou z hlavních komplikací, která provází chronické onemocnění

a selhání ledvin. Závažnost problematiky je natolik velká, že v roce 2003 publikovala americká nadace pro onemocnění ledvin (National Kidney Foundation) v rámci tehdy vel-

mi významné iniciativy nazvané „Kidney Disease Outcomes Quality Initiative“ (KDOQI) doporučené postupy pro diagnostiku a léčbu [1]. Podkladem pro jejich vypracování byly přibývající doklady o spojitosti mezi poruchou kalciového a fosfátového metabolismu a mortalitou, zejména kardiovaskulární [2].

Hlavní oporou pro rozhodování o způsobu léčby, včetně kontroly účinnosti i bezpečnosti, se staly laboratorní ukazatele, resp. jejich definované rozmezí či horní maximální přípustná koncentrace. Tyto definované cílové hodnoty byly rychle a všeobecně akceptovány, neboť nefrologové se ztotožnili s požadavkem na potřebu včasné, důsledné a dlouhodobé kontroly fosfokalciového metabolismu u pacientů s chronickým onemocněním ledvin (CKD – chronic kidney disease) a zejména u pacientů se selháním ledvin (ESRD – end-stage renal disease, CKD stadium 5-5D). Největší pozornost byla věnována dodržování horní přípustné meze koncentrace fosforu v séru před dialýzou (max. 1,78 mmol/l) a cílovému rozmezí koncentrací intaktního parathormonu (iPTH) při stanovení testy 2. generace (150–300 pg/ml) – nižší koncentrace nebyly žádoucí vzhledem k obavě z tzv. adynamické kostní nemoci, vyšší byly považovány za již manifestní hyperparatyreózu.

Prokázáný vztah mezi abnormálním minerálovým a kostním metabolismem a kardiovaskulárními komplikacemi u pacientů s chronickým onemocněním ledvin a selháním ledvin byl o několik let později podnětem pro další iniciativu, tentokrát nadnárodní. V roce 2003 zahájila pracovní skupina světových nefrologů tzv. KDIGO iniciativu (Kidney Disease: Improving Global Outcomes). Jedním z prvních výstupů byla charakteristika a definice nového termínu CKD-MBD (chronic kidney disease – mineral and bone disorder), který odráží nový přístup k problematice kostního postižení při CKD a ESRD [3]. Termín CKD-MBD se záhy široce ujal v praxi i v odborném písemnictví. U nás byl referován v některých přehledných článcích [4].

Zatímco KDOQI představuje aktivitu převážně severoamerických nefrologů, KDIGO iniciativa byla založena napříč kontinenty s motivem a cílem zlepšit kvalitu péče o nefrologicky nemocné a usnadnit komunikaci nefrologů v jednotlivých zemích a kontinentech. KDIGO iniciativa vycházela z dosud existujících evropských i amerických iniciativ, dále je rozšiřovala a propojovala s dalšími národními stanovisky a doporučeními.

Tři roky po stanovení definice CKD-MBD publikovala KDIGO iniciativa doporučené diagnostické, preventivní a léčebné postupy pro CKD-MBD [5]. Cílem článku je uvést základní teze KDIGO dokumentu (včetně znění jednotlivých konkrétních doporučení). Současně je článek směřován jako určité východisko pro sestavení našich národních doporučených postupů, a to ve spolupráci nefrologů a osteologů.

### Základní charakteristika textu KDIGO doporučení pro CKD-MBD

Především je třeba uvést, že KDIGO doporučení byla zpracována podle metody GRADE, neboli s maximální snahou o evidence-based formulace [6].

Oproti KDOQI doporučením z roku 2003 se KDIGO text zaměřuje na všechny tři komponenty CKD-MBD (labora-

torní ukazatele; kostní postižení – renální osteopatie; mimokostní kalcifikace – zejména cévní). Další důležitou konceptní změnou je hodnocení laboratorních výsledků v čase a ve vzájemných spojitostech (tj. **dynamický**, nikoliv statický přístup). Důraz je kladen i na komunikaci mezi klinickým pracovištěm a laboratoří. Silnou stránkou je i praktická využitelnost, neboť doporučené vyšetřovací metody jsou běžně dostupné.

Samotný dokument je rozsáhlý (130 stran) a je členěn do 6 kapitol. První dvě se věnují definici CKD-MBD a metodologii zpracování podkladů (GRADE). Kapitola 3 se zaměřuje na **diagnostiku** jednotlivých komponent CKD-MBD; kapitola 4 pak na **léčbu a prevenci**. Pátá kapitola je věnována období po **transplantaci ledviny**, neboť zde nastává celá řada změn, které laboratorní i klinický obraz modifikují, a mění se i terapeutické přístupy. Jsou zmíněny i hlavní odlišnosti pro **dětský věk**. V závěrečné kapitole jsou načrtnuty možné **směry výzkumu**.

Zveřejnění KDIGO textu vyvolalo v odborné nefrologické veřejnosti široký ohlas. Byly publikovány komentáře významných odborných skupin, které se věnují implementaci těchto doporučení v jednotlivých zemích, včetně zpracování nově publikovaných dat [7,8,9].

### Definice a základní charakteristika CKD-MBD (kapitola 1)

Tuto definici, poprvé publikovanou v roce 2006, vysvětluje první kapitola. Podstatou termínu je rozšíření pojetí poruchy minerálového metabolismu při chronických onemocněních ledvin a při selhání ledvin. CKD-MBD má tři vzájemně propojené komponenty (laboratorní odchylky v ukazatelích metabolismu minerálového a kostního metabolismu; vlastní kostní změny; mimokostní kalcifikace), přitom pro definici CKD-MBD stačí přítomnost kterékoliv z nich (i samostatně).

**Laboratorní** komponenta vychází z poruchy minerálového a kostního metabolismu. S určitým zjednodušením autoři zařadili pouze čtyři základní ukazatele: sérové koncentrace kalcia, fosforu, PTH a/nebo 25-hydroxyvitaminu D v krvi. Vedle těchto základních laboratorních ukazatelů jsou někdy zvažovány i alkalická fosfatáza (ALP), či kostní izoenzym ALP. Je vhodné poznamenat, že kromě těchto vybraných ukazatelů existuje celé další spektrum biochemických změn, které však KDIGO dokument nezvažuje, ačkoliv v původním pracovním textu byly uvedeny [3]. **Kostní** komponenta znamená vlastní postižení kostí, neboli renální osteopatii v užším slova smyslu, a je podmíněna histomorfometrickým vyšetřením vzorku kostní tkáně. Pro popis kostních změn je navržena tzv. TMV klasifikace (turnover – kostní obrat; mineralization – mineralizace kosti; volume – objem kosti). **Kalcifikační** komponenta znamená detekci cévních, ale i jiných mimokostních kalcifikací (včetně např. kalcifikací srdečních chlopní).

Toto nové pojetí poruchy kostního a minerálového metabolismu se odráží i ve formulaci jednotlivých doporučení. Každá odchylka ve sledovaných parametrech je posuzována v souvislostech. To znamená, že i postup pro její korekci musí vždy zvažovat možné dopady i na další systémy (doprovodné účinky jednotlivých léků, kdy například u kalciových vazáčů fosfátů v zažívacím traktu vždy posuzujeme

nejen efekt na fosfatémii, ale i otázku pozitivní kalciové bilance, apod). Laboratorní ukazatele, kterými se prevence a léčba řídí, totiž informují o kvalitě kostní tkáně a cév jen nepřímo [2,10,11].

### Metodika GRADE pro KDIGO doporučení pro diagnostiku a léčbu CKD-MBD (kapitola 2)

KDIGO iniciativa volila pro systematické zpracování publikovaných dat a pro jejich převedení do formulací doporučených postupů metodiku GRADE [6,12]. Podle metodiky GRADE je každé jednotlivé doporučení označeno písmenem A až D, přitom A znamená nejvyšší úroveň důkazu, D naopak úroveň nejnižší. K označení písmeny je přiřazeno číslo 1, které znamená velkou sílu („we recommend“), či číslo 2, které označuje, že síla důkazu je nižší („we suggest“). Některá doporučení nejsou klasifikována (opírají se o názory expertů).

KDIGO (2009) a KDOQI (2003) pracovaly s předem jasně definovanou metodou a obě ji přesně dodržely. Jde však o metody zcela odlišné. GRADE přístup, který zvolila KDIGO aktivita, je podstatně rigoróznější; mimo jiné vyřazuje všechny neintervenci studie, pokud se pozorované výsledky lišily méně než dvojnásobně. Navíc, kromě studií histomorfometrických dat, byl pro intervenční studie i významně vyšší požadavek na počty sledovaných subjektů. Je vhodné poznamenat, že odlišný metodologický přístup může být v pozadí rozdílů mezi cílovými koncentracemi laboratorních ukazatelů v doporučeních KDOQI a KDIGO.

### CKD-MBD – doporučení pro laboratorní vyšetření, vyšetření kostní tkáně a detekci kalcifikací (kapitola 3)

Kapitola je rozčleněna do tří částí – laboratorní komponenta CKD-MBD; kostní změny; cévní kalcifikace. Laboratorní ukazatele jsou pro praxi nejdůležitější a jejich stanovení je základem diagnostického, ale i terapeutického postupu. Text doporučení je následující:

#### 1) Laboratorní ukazatele

K základním laboratorním vyšetřovacím postupům patří stanovení sérové koncentrace kalcia, fosforu a PTH; dále aktivity ALP a stanovení hladiny kalcidiolu v séru (25(OH)D). Doporučené postupy se zaměřují na výběr ukazatelů a na frekvenci stanovení. Ta je dána jednak stadiem onemocnění ledvin (funkční stadia CKD 1–5 podle tíže poruchy funkce ledvin), tak i okolnostmi léčby (její kontrola a monitorování).

Volný překlad textu doporučení je následující:

3.1.1. Monitorování sérové koncentrace kalcia (Ca), fosforu (P), parathormonu (PTH) a aktivity ALP je vhodné zahájit u stadia CKD 3 (evidence 1C).

3.1.2. Ve stadiích CKD 3–5D se frekvence vyšetření řídí přítomností a tíží změn a rychlostí progresu CKD (síla a kvalita důkazu není klasifikována). Rámcové intervaly jsou:

- Pro pacienty stadia CKD 3: Ca a P v séru za 6–12 měsíců; přitom intervaly stanovení PTH závisí na vstupní koncentraci PTH a na progresi CKD;
- Pro pacienty stadia CKD 4: Ca a P jedenkrát za 3–6 měsíců, PTH jedenkrát za 6–12 měsíců;

- Pro pacienty stadia CKD 5 (včetně CKD 5D): Ca a P v séru jednou za 1–3 měsíce, PTH jednou za 3–6 měsíců;
- Pro pacienty stadia CKD 4–5: ALP jedenkrát za 12 měsíců nebo častěji, pokud je zvýšená koncentrace PTH v séru.

Uvedené intervaly jsou platné pro vstupní vyšetření a pro nekomplikovaný, resp. stacionární průběh. Vyšetření však má být **častější** u těch pacientů, u kterých byly v předchozím vyšetření detekovány laboratorní odchylky. Častější sledování laboratorních hodnot je doporučeno i u pacientů léčených (monitorování bezpečnosti a účinnosti léčby).

3.1.3. Mezi doporučené laboratorní ukazatele je zařazena i sérová koncentrace kalcidiolu (25 hydroxyvitaminu D), s opakováním vyšetření podle vstupní hodnoty a terapeutické intervence. Deficit a nedostatek vitamínu D má u pacientů s CKD být korigován obdobně jako u pacientů bez onemocnění ledvin (2C).

*Poznámka: Evropský komentář navrhuje následující konkrétní postup: nesuplementovat, pokud je koncentrace vyšší než 30 ng/ml, a naopak určitě suplementovat, pokud je koncentrace nižší než 12,5 ng/ml; kontrolní vyšetření provést za 6 měsíců [9].*

3.1.4. Rozhodnutí o způsobu léčby poruchy minerálového a kostního metabolismu u pacientů s CKD má vycházet z **trendu** laboratorních hodnot, nikoliv z jednotlivých naměřených dat. Mají být využity **všechny** dostupné vyšetřovací metody ve vztahu k CKD-MBD (1C).

3.1.5. U pacientů ve stadiu CKD 3–5 mají být posuzovány koncentrace kalcia a fosforu v séru samostatně, tj. dříve používaný tzv. kalcium-fosfátový součin se opouští (2D).

3.1.6. Výsledky laboratorních hodnot mají být interpretovány se znalostí metodiky stanovení, včetně toho, zda se jedná o sérovou či plazmatickou koncentraci a se znalostí zacházení se vzorkem v preanalytické fázi (1B).

#### 2) Kostní komponenta (renální osteopatie)

Termín renální osteopatie v užším pojetí znamená vlastní postižení skeletu. Definitivní klasifikace postižení se opírá o kostní histomorfometrické vyšetření. Lze rozlišit několik podtypů podle rychlosti kostního obratu a podle dalších kritérií. Je však potřeba vědět, že kostní tkáň je změněna nejen kvantitativně, ale i kvalitativně. Kvalitativní změny mohou snižovat mechanickou odolnost kosti i při normálním či dokonce zvýšeném obsahu kostního minerálu. Ke klinickým problémům spojeným s renální osteopatií patří bolesti kostí, zhoršení hybnosti, fraktury s celou řadou navazujících komplikací a celkové zhoršení kvality života i prognózy pacienta.

Z hlediska diagnostiky kostní komponenty CKD-MBD byla určena tato doporučení:

3.2.1. U pacientů s CKD stadia 3–5D je v různých situacích vhodné provést kostní biopsii. K těmto situacím patří mimo jiné nevysvětlitelné zlomeniny, perzistující bolesti kostí, nevysvětlitelná hyperkalcémie, nevysvětlitelná hypofosfatémie a další, včetně rozvahy o terapii bisfosfonáty (vyloučení adynamické osteopatie) (názor, neklasifikováno podle GRADE).

3.2.2. U pacientů s CKD stadia 3–5D s evidencí CKD-MBD navrhujeme, aby stanovení kostní denzity (denzitometrie, BMD) nebylo prováděno rutinně, neboť naměřené hodnoty nevypovídají o riziku fraktur (na rozdíl od diagnózy osteoporózy u pacientů obecné populace, tj. bez CKD); a navíc denzitometrický nález nevypovídá o typu renální osteopatie (2B).

3.2.3. Pro posouzení typu renální osteopatie lze využít stanovení kostního izoenzymu ALP a koncentrace PTH, neboť vysoké či nízké hodnoty těchto ukazatelů predikují daný (vysoký či nízký) kostní obrat (2B).

3.2.4. U pacientů s CKD 3–5D není doporučováno rutinní stanovení dalších markerů kostního obratu (jako například PICP, cross-laps, aj) (2C).

### 3) Diagnostika kalcifikací v rámci CKD-MBD

Mimokostní kalcifikace jsou u pacientů s CKD časté. V současné době se již významně méně často setkáváme s rozsáhlými periartikulárními depozity. Postižení tepen, chlopní a myokardu je bohužel stále klinickým problémem, který je důležité rozpoznat. Není jasná evidence o tom, který vyšetřovací postup a která léčebná strategie je v tomto kontextu nejpřípustnější. Text doporučení vychází z dostupných diagnostických postupů pro běžnou praxi a jeho volný překlad je následující:

3.3.1. U pacientů s CKD stadia 3–5D je navrženo zhotovit laterální nativní rtg snímek břišní oblasti k posouzení přítomnosti či nepřítomnosti kalcifikací. Současně je doporučeno využít i výsledky echokardiografického vyšetření (přítomnost kalcifikací chlopní). Tato dvě vyšetření představují dostupnou a akceptovatelnou alternativu ke stanovení kalcifikací sofistikovanými (avšak málo dostupnými) metodami, jako je například počítačová tomografie (2C).

3.3.2. Je navrženo, aby pacienti se zjištěnými cévními/srdečními kalcifikacemi byli posuzováni jako ti s nejvyšším kardiovaskulárním rizikem (2A). Tuto informaci je potom vhodné aplikovat při volbě léčebné strategie (neklasifikováno).

### Léčba CKD-MBD (kapitola 4)

V současné době je k dispozici široká paleta terapeutických možností, od vazačů fosfátů v zažívacím traktu až po aktivátory receptoru vitamínu D a kalcimimetika. V jednotlivých lékových skupinách (kromě kalcimimetik) existují různé přípravky, jejichž odlišnost je třeba posuzovat zejména v doprovodných efektech. Vlastní výběr postupu proto může být odlišný. KDIGO doporučení neurčují výběr přípravku, ale volbu strategie.

#### 1) Léčba se zaměřením na snížení vysokých koncentrací fosforu v séru a na udržení fyziologických koncentrací kalcia v séru

4.1.1. U pacientů s CKD 3–5 má být cílová koncentrace fosforu shodná s fyziologickou, ve stadiu CKD 5 má být co nejbližší koncentraci fyziologické (2C).

4.1.2. U pacientů s CKD 3–5 má být koncentrace kalcia v séru ve fyziologickém rozmezí (2D).

4.1.3. Dialyzační roztok má obsahovat 1,25–1,50 mmol/l kalcia (2D).

4.1.4. U pacientů s CKD 4–5 (evidence 2D) a u pacientů s CKD 5D (evidence 2B) je vhodné používat vazače fosfátů

v léčbě hyperfosfatémie. Volba typu vazače má respektovat stadium, má zohlednit přítomnost dalších komponent CKD-MBD, další souběžnou léčbu a profil nežádoucích účinků.

4.1.5. U pacientů s CKD 3–5 při přetrvávající či opakované hyperkalcémii je doporučováno omezit dávku kalciových vazačů a/nebo kalcitriolu, resp. analog vitamínu D (1B). Dávka kalciových vazačů má být omezena u pacientů s teprve příjmy kalcifikacemi (2C) a/nebo adynamickou osteopatií (2C).

4.1.6. U pacientů stadia CKD 3–5 nejsou doporučovány aluminiové vazače fosfátů a rovněž je potřeba zajistit, aby nebyl kontaminován alumiem dialyzační roztok (1C).

4.1.7. U pacientů stadia CKD 3–5 je doporučeno omezení příjmu fosforu v potravě, a to samostatně či v kombinaci s dalšími postupy (2D).

4.1.8. U pacientů stadia CKD 5D má být v případě hyperfosfatémie navýšena dialyzační dávka (2C).

Jak vyplývá ze znalosti patofyziologie metabolismu vápníku a fosforu, má řešení kterékoliv výše uvedené laboratorní odchylky zásadní význam, neboť může navodit i změnu ostatních ukazatelů: například vzestup koncentrace PTH může být upraven již samotnou korekcí hyperfosfatémie (bližší viz dále, 4.2.1.). Pro korekci laboratorních abnormalit se využívají známé postupy, spočívající ve snížení příjmu fosforu v dietě, aplikaci některého z vazačů fosfátů v zažívacím traktu, zajištění suplementace kalcia a/nebo doplnění vitamínu D a zajištění aktivace receptoru pro vitamín D.

#### 2) Léčba zaměřená na úpravu abnormálních koncentrací PTH

Rozmezí cílových koncentrací PTH je překvapivě široké. Je však potřeba zdůraznit, že sami autoři doporučení uvádějí, že jakákoliv odchylka od dříve naměřených (předchozích) koncentrací je závažná a je potřeba jí věnovat pozornost (kontrola stávající léčby, změna léčby).

Pro volbu optimální strategie je nezbytná znalost patofyziologie i znalost mechanismu účinků jednotlivých léků, takovýto přehled je však mimo rámec sdělení. Jen stručně připomeneme, že základním krokem je vždy úprava fosfatémie a až poté je možno použít léky cílené na potlačení aktivity příštítných tělísek.

Sledování sérových koncentrací parathormonu u pacientů s CKD patří k velmi důležitým a současně i velmi diskutovaným okruhům. Z hlediska interpretace dat je nezbytné nutně znát základní informace o metodice stanovení [13].

4.2.1. Cílová koncentrace PTH u pacientů s CKD 3–5 (dosud nedialyzovaných) není známa. Pokud je však koncentrace PTH zvýšená, je vhodné nejprve vyloučit **hypokalcémii, hyperfosfatémii či deficit vitamínu D** (2C).

4.2.2. Pokud koncentrace PTH u pacientů s CKD 3–5 progresivně stoupá a je zvýšená i při korekci modifikovatelných vlivů (tj. přetrvává po úpravě hyperfosfatémie a hypokalcémie), je doporučena léčba kalcitriolem či analogy vitamínu D (2C).

4.2.3. Při CKD 5D je navržena cílová koncentrace PTH přibližně na 2–9ti násobek horní referenční meze (2C).

Výrazné změny koncentrací PTH v séru (bez ohledu na to, že stále mohou být ve výše uvedeném pásmu), jsou samy o sobě důvodem k zahájení či změně léčby.

4.2.4. U pacientů s CKD 5D a zvýšeným či stoupajícím PTH je navržena léčba kalcitriolem nebo analogy vitamínu D nebo kalcimimetiky nebo kombinací těchto léků (2B). Volba iniciální léčby je závislá na koncentraci Ca, P a na dalších aspektech CKD-MBD:

- Léčba vazači fosfátů v zažívacím traktu má nejen normalizovat fosfatémii, ale i kalcémii. Pokud nastane hyperkalcémie, má být snížena či vysazena kalcitriol či jiný vitamín D, resp. aktivátor receptoru pro vitamín D (VDR aktivátor).
- Při hyperfosfatémii má být snížena či vysazena kalcitriol či jiný VDR aktivátor.
- Při hypokalcémii má být snížena či vysazena léčba kalcimimetiky (v závislosti na doprovodné medikaci, závažnosti nálezu a klinických příznacích).
- Pokud koncentrace PTH v séru při léčbě klesne pod dvojnásobek horní hranice referenčního rozmezí, má být léčba kalcitriolem či vitamínem D a/nebo kalcimimetiky redukována či ukončena.

4.2.5. U pacientů s CKD 3–5D se závažnou hyperparatyreózou, kteří neodpovídají na adekvátně zvolenou medikamentózní, dialyzační a dietní terapii, je navržena parathyreoidektomie (2B).

Prakticky všechny navazující komentáře, včetně stanoviska pracovní skupiny České nefrologické společnosti, se věnují širokému definovanému rozmezí koncentrací PTH. Považujeme za potřebné zdůraznit, že se jedná o rozmezí vztažené nikoliv ke kostní patologii, ale k mortalitním datům publikovaným do roku 2009. Navíc, v navazujícím textu KDIGO je zdůrazněna nutnost reagovat i na výkyvy koncentrací PTH. Pracovní skupina ČNS doporučuje reagovat na jakoukoliv změnu PTH, která je vyšší než 10 pmol/l, a to jak směrem nahoru, tak i směrem dolů [14].

### 3) Renální osteopatie (léčba bisfosfonáty a dalšími léky pro osteoporózu)

Renální osteopatie je podle současné definice biopticky verifikované postižení skeletu. V běžné praxi však tento diagnostický podklad nemáme. Až v poslední době je diskutováno, jak vlastně přistupovat ke kostním změnám charakteru osteoporózy (úbytku kostní hmoty). Protože při poškození funkce ledvin jsou denzitometrické nálezy jen velmi obtížně interpretovatelné, není DXA zařazována mezi rutinní vyšetřovací metody. To však jen ukazuje na to, jak je celá problematika překrývání změn kostního metabolismu v souvislosti s postižením ledvin se změnami v důsledku zcela jiných faktorů (hormonální deficit, pokročilý věk) naprosto nedostatečně prozkoumána [15].

Současné názory jsou následující:

4.3.1. U pacientů s CKD stadia 1–3 s osteoporózou a/nebo s rizikem kostních zlomenin (dle WHO kritérií) je doporučeno aplikovat shodné postupy, jako u osob bez postižení ledvin (1A).

4.3.2. U pacientů s CKD stadia 3 s normální koncentrací PTH v séru a osteoporózou a/nebo zvýšeným rizikem zlomenin (dle WHO kritérií) je rovněž doporučováno postupovat shodně, jako u pacientů obecné populace (2B).

4.3.3. U pacientů s CKD stadia 3 s biochemickými znám-

kami CKD-MBD a s nízkou kostní denzitou a/nebo rizikem fraktur je navrženo, aby léčebné postupy zohlednily rozsah a reverzibilitu laboratorních ukazatelů a současně i progresi CKD; ke zvážení je případně i kostní biopsie (2D).

4.3.4. U pacientů s CKD 4–5 s biochemickými známkami CKD-MBD a nízkou kostní denzitou a/nebo rizikem fraktur jsou navrhovány další vyšetřovací postupy, zahrnující i kostní biopsii (dříve než se zahájí eventuální léčba antiosteoresorpčními léky) (2C).

V kontextu problematiky osteoporózy, léčby bisfosfonáty a dalšími antiresorpčními či osteoanabolickými léky je vhodné zmínit i doplňující text, resp. východiska autorů pro formulaci závěrů. V tomto doprovodném textu autoři zdůrazňují, že neexistují žádné kontrolované studie s antiresorpčními či osteoanabolickými léky, které by byly cílené na pacienty s pokročilým onemocněním ledvin. Navíc u pacientů s CKD nárůst BMD neznámá průkaz snížení rizika fraktur. Studie, které se zaměřují na sledování vlivu antiresorpčních léků, vylučují pacienty s poruchou funkce ledvin (mimo jiné i pro možné nežádoucí renální účinky, viz SPC jednotlivých léků, nedoporučujících podávání při poklesu funkce ledvin).

V některých případech až „post-hoc“ analýzy ukazují, zda pokles fraktur byl dosažen i v podskupinách nemocných s CKD, ale přenesení závěrů pro praxi u nefrologických pacientů musí být opatrné. V této oblasti stále panuje velká míra neurčitosti a právě na toto pomezí osteologie a nefrologie je v budoucnu potřeba zaměřit cílenou pozornost.

### Diagnostika a léčba CKD-MBD u pacientů po transplantaci ledviny (kapitola 5)

Počet transplantovaných pacientů dnes již významně překračuje počet pacientů v dialyzačním programu a vzhledem k výborným výsledkům transplantačního programu se bude počet osob s funkčním štěpem ledviny i nadále zvyšovat. Kostní změny představují jednu z klinicky nejvýznamnějších doprovodných komplikací. Jejich patogeneze je značně komplikovaná. Uplatňuje se nejen předchozí poškození vlivem chronického selhání ledvin, ale i stupeň funkce štěpu (CKD-T) a vliv imunopresiv, spolu s řadou modifikujících faktorů [16,17]. Současně platí, že transplantovaná populace pacientů je heterogenní (různá funkce ledvin, různé imunopresivní režimy, různé trvání a intenzita předchozího selhání ledvin, včetně různé předchozí farmakoterapie).

V diagnostice a léčbě CKD-MBD těchto pacientů je potřeba rozlišit časně pooperační období a období s již stabilní funkcí štěpu. Proto pravidla monitorování a léčby zohledňují nejen stupeň CKD (v případě transplantovaných pacientů se označuje jako CKD-T), ale i časové období vzhledem k transplantaci. Dosažení stabilního stavu kolísá od několika týdnů až po období jednoho roku.

V zásadě se diagnostika a léčba CKD-MBD po transplantaci ledviny řídí stejnými pravidly jako léčba CKD-MBD u netransplantovaných pacientů s CKD-MBD. Znění jednotlivých doporučení je následující:

5.1. V časném potransplantačním období je doporučeno vyšetřovat sérové koncentrace kalcia a fosforu přinejmenším jedenkrát týdně, a to až do stabilizace hodnot (1B).

5.2. V navazujícím potransplantačním období je doporučována frekvence vyšetření, která zohledňuje přítomnost a rozsah abnormalit a renální funkce (neklasifikováno).

Doporučené intervaly monitorování jsou následující:

- U pacientů CKD stadia 1–3T má být stanovena kalcémie a fosfatémie každých 6–12 měsíců a PTH nejméně jedenkrát (vstupně); intervaly a pro další vyšetření Ca, P a PTH jsou závislé na vstupních hodnotách laboratorních parametrů a na progresi CKD.
- U pacientů CKD stadia 4T je doporučováno vyšetření kalcémie a fosfatémie v intervalech 3–6 měsíců a vyšetření PTH jedenkrát za 6–12 měsíců.
- U pacientů CKD stadia 5T je doporučováno vyšetření kalcémie a fosfatémie v intervalech 1–3 měsíce a vyšetření PTH jedenkrát za 3–6 měsíců.
- U pacientů CKD stadia 3T–5T je doporučováno vyšetřit alkalickou fosfatázu jedenkrát ročně, častěji, pokud je souběžně zvýšená koncentrace PTH. Současně platí, že pokud jsou zjištěny biochemické abnormality v uvedených ukazatelích, má být frekvence vyšetření **častější** (monitorování účinnosti a bezpečnosti léčby).

5.3. U pacientů stadia CKD 1T–5T je navrženo stanovit hladinu 25(OH)D a měření má být opakováno podle výsledků vstupní koncentrace a podle zvoleného způsobu léčby (2C).

5.4. U pacientů stadia CKD 1T–5T má být deficit vitamínu D korigován shodným postupem jako u obecné populace s normální funkcí ledvin (2C).

5.5. U pacientů s odhadnutou glomerulární filtrací (eGFR) vyšší než 30 ml/min (0,5 ml/s) je navrženo vyšetřit kostní denzitometrii (BMD) metodou DXA v prvních třech měsících po transplantaci, pokud jsou léčeni kortikoidy, nebo pokud mají rizikové faktory pro osteoporózu (2D).

5.6. U pacientů v prvních 12ti měsících po transplantaci s eGFR více než 30 ml/min (0,5 ml/s) a nízkou kostní denzitou je doporučována léčba vitamínem D, kalcitriolem/alfakalcidolem nebo bisfosfonáty (2D). Současně je navrženo, aby se výběr způsobu léčby řídil laboratorní komponentou CKD-MBD (abnormální koncentrace kalcia, fosforu, PTH, ALP a 25(OH)D). Je též k úvaze provést před volbou léčebného postupu kostní biopsii, a to zejména před zvažovanou terapií bisfosfonáty, vzhledem k častému výskytu adynamické osteopatie (neklasifikováno).

Pro období po prvním roce po transplantaci jsou nedostatečná data, a není proto v současné době možné stanovit konkrétní doporučené postupy léčby. K textu vlastního doporučení 5.6. je vhodné poznamenat, že podle pravidel léčby osteoresorpčními přípravky je léčbu bisfosfonáty potřeba doplnit podáváním vitamínu D vždy.

5.7. U pacientů stadia CKD 4–5T není doporučováno rutinně vyšetřovat kostní denzitu, neboť BMD neurčí v těchto případech riziko fraktur jako v běžné populaci a nevyovídá o typu kostního poškození (2B).

5.8. U pacientů stadia CKD 4–5T s detekovanou nízkou kostní denzitou je doporučováno postupovat shodně jako u pacientů s CKD 4–5 dosud nedialyzovaných (viz kapitola 4) (2C).

#### Poznámky k postupům u dětí a dospívajících pacientů s CKD

Některé jednotlivé oddíly doporučení pro diagnostiku i terapii obsahují specifika pro dětský věk a dospívání. Většinou je však postup shodný (věkové odlišnosti jsou pod-

statně méně významné, než vlastní poškození ledvin). Specifika dětského věku jsou uvedena samostatně níže, s příslušným označením kapitoly, resp. odkazu na paragraf, ke kterému se vztahují. Kromě postupu monitorování laboratorních ukazatelů se hlavně jedná o sledování výšky, resp. dosaženého vzrůstu, a to z důvodu známé poruchy růstu a zvažení indikace k léčbě rekombinantním růstovým hormonem.

3.1.1. Monitorování sérové koncentrace Ca, P a PTH a aktivity ALP: u dětí je doporučeno zahájit monitorování ve stadiu CKD2 (evidence 2D).

3.2.5. U malých dětí s CKD2–5D je doporučováno nejméně jedenkrát za čtvrt roku změřit tělesnou výšku, u větších dětí s CKD2–5D má být výška měřena nejméně jedenkrát za rok.

4.3.5. Pro děti a dospívající pacienty s onemocněním ledvin CKD2–5D a s dokumentovaným nedostatečným vzrůstem je doporučována léčba růstovým hormonem s cílem dosáhnout nárůstu výšky spolu s úpravou nutričního stavu a laboratorních ukazatelů CKD-MBD (1A).

#### Doporučení pro výzkum (kapitola 6)

Základní teze pro doporučení dalšího výzkumu tak, jak je uvádí KDIGO dokument, lze shrnout do těchto deseti bodů:

- Vypracování nástroje pro stratifikaci prognostického rizika založeného na jednotlivých komponentách CKD-MBD a ověření klinické a prognostické výpovědi pro jednotlivá stadia CKD (CKD 3–5, CKD 5D a CKD 3–5T).
- Určit, zda stanovení kostní denzity (jednotlivé, či opakované v čase; DXA či kvantitativní CT), má význam pro predikci rizika kostních fraktur.
- Určit, zda přítomnost či nepřítomnost cévních a chlopniných kalcifikací u pacientů s CKD-MBD může přispět k identifikaci pacientů, kteří by mohli profitovat z určitých terapeutických intervencí.
- Určit, zda intenzivní cílená léčba (například protokolem podložená kombinovaná léčba zaměřená na dosažení specifických cílových koncentrací PTH či fosfatémie) je prognosticky příznivější než současná standardní léčba, či léčba s méně striktními cílovými koncentracemi.
- Určit, zda je výhodnější léčba cílená na plnou normalizaci fosfatémie s užitím různých vazačů fosfátů.
- Určit, zda nižší či vyšší sérové koncentrace parathormonu mají prognostický význam.
- Určit, zda-li léčba nativním vitamínem D (případně v kombinaci s aktivním metabolitem či analogy) může zlepšit prognózu pacientů s CKD.
- Určit, který vazač a které další postupy cílené na korekci fosfatémie mohou přispět ke zlepšení prognózy pacientů se stadii CKD 3–5D a CKD 3–5T.
- Určit, zda bisfosfonáty, teriparatid/rekombinantní lidský PTH či raloxifen snižují výskyt fraktur nebo cévních kalcifikací u pacientů stadia CKD 3–5D a CKD 1–5T.
- Určit, jaké léčebné strategie mohou ovlivnit adynamickou kostní nemoc související s nízkou endogenní sekrecí PTH (například dialyzační roztok s nízkou koncentrací kalcia či exogenně podávaný teriparatid) a zda tyto postupy mohou mít i prognostický význam.

Je patrné, že prakticky všechny tyto záměry jsou cíleny nikoliv jen na laboratorní ukazatele, ale i na klinické výstu-

py (fraktury), a zejména na možnost příznivého ovlivnění prognózy („hard“ data). Dosažení tohoto cíle však nebude jednoduché. CKD-MBD je velmi komplikovanou laboratorní, morfológickou a klinickou jednotkou, kde nelze použít terapeutický postup zaměřený jedním směrem, ale vždy je třeba postupy kombinovat. To ovšem velmi ztěžuje vzájemné porovnání efektu jednotlivých farmakologických postupů a volbu mezi nimi. Navíc, zcela jasně se ukazuje, že léčba samotné sekundární hyperparatyreózy je jen jednou částí celkového postupu. Využití dalších farmak (bisfosfonáty, teriparatid/rekombinantní PTH, raloxifen, nově i denosumab, v budoucnu pak i další vyvíjené přípravky) je provázeno otázkami, mimo jiné pro kontraindikaci při pokročilém onemocnění/selhání ledvin, ale i pro nejasnost, zda jejich efekt lze aproximovat i pro nefrologické pacienty. Problematika CKD-MBD přesahuje hranice nefrologie a stává se společnou výzvou pro osteology a nefrology.

*Práce byla podpořena Výzkumným záměrem MSM 0021620819 a dále MZO 00023001.*

#### Literatura:

1. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42, Suppl 3:S1–S201.
2. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality and morbidity in maintenance haemodialysis. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:2208–2218.
3. Moe SM, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, Ott S, Sprague S, Lameire N, Eknoyan G. Definition, evaluation and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006;69:1945–1953.
4. Dusilová Sulková S. Kostní a minerálová porucha při chronickém onemocnění ledvin – přehled problematiky. *Osteologický bulletin* 2008;13:144–151.
5. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD work group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention and treatment of chronic kidney disease – mineral bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 2009;76, Suppl 113:S1–S130.
6. Uhlig K, MacLeod AM, Craig J, Lau J, Levey S, Levin A, Moist L, Steinberg R, Walker C, Wanner C, Lameire N, Eknoyan G. Grading evidence and recommendations for clinical practice guidelines in nephrology. A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006;70:2058–2065.
7. Uhlig K, Jeffrey B, Kestenbaum B et al. KDOQI US commentary on the 2009 KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation and Treatment of CKD-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Am J Kidney Dis* 2010;55:773–799.
8. Goldsmith DJA, Covic A, Fogue D, Locatelli F, Olgaard K, Rodriguez M, Spasovski G, Urena P, Zoccali C, London GM, Vanholder R. Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) Chronic Kidney Disease – Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guidelines: a European Best Practice (ERBP) commentary statement. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:3823–3831.
9. Manns BJ, Hodsmann A, Zimmerman DL, Mendelssohn DC, Soroka SD, Chan C, Jindal K, Klarenbach S. Canadian Society of Nephrology commentary on the 2009 KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation and Treatment of CKD-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Am J Kidney Dis* 2010;55:800–812.
10. London M, Guerin AP, Marchais SJ, Métivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact of all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1731–1740.
11. Moe SM. Vascular calcification and renal osteodystrophy relationship in chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest* 2006;36:61–62.
12. GRADE Working Group. Grade quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004;328:1490.
13. Souberbielle JC, Cavalier E, Jean G. Interpretation of serum parathyroid hormone concentrations in dialysis patients: what do the KDIGO guidelines change for clinical laboratory? *Clin Chem Lab Med* 2010;48:769–774.
14. Dusilová Sulková S, Opatrná S, Ryšavá R, Tesař V, Teplan, Viklický O, Zahálková J. KDIGO doporučení pro diagnostiku a léčbu CKD-MBD: komentovaný návod pro klinickou praxi. *Aktuality v nefrologii* 2010;16:113–121.
15. Ambrus C, Marton A, Nemeth ZK, Mucsi I. Bone mineral density in patients on maintenance dialysis. *Int Urol Nephrol* 2010;42:723–739.
16. Weisinger JR, Carlini RG, Rojas E, Bellorin-Font E. Bone disease after renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1:1300–1313.
17. Copley JB, Wurhrich RP. Therapeutic management of post-kidney transplant hyperparathyroidism. *Clin Transplant* 2011;25:24–39.

# Ovlivnění signální cesty RANK/RANKL/OPG

O. RŮŽIČKOVÁ

*Osteocentrum, Revmatologický ústav, Praha*

## SOUHRN

Růžičková O.: **Ovlivnění signální cesty RANK/RANKL/OPG**

Chronická onemocnění spojená s postižením kostí, jako jsou revmatoidní artritida a osteoporóza, postihují miliony lidí a představují obrovské ekonomické náklady na zdravotní a sociální péči.

Kostra je živá tkáň, která v průběhu celého života podléhá obměně. Remodelace, která zahrnuje kostní resorpci a novotvorbu, tak umožňuje adaptaci skeletu na aktuální potřeby organismu a zároveň sanuje vzniklá mikropoškození. Ztráta kostní hmoty provází mnoho onemocnění, jako jsou chronická infekční onemocnění, revmatoidní artritida, leukemie, postmenopauzální osteoporóza, kostní metastázy a mnohá další.

Kostní tkáň obsahuje tři typy specializovaných kostních buněk, jsou to osteoklasty, osteoblasty a osteocyty. Remodelace kosti je děj, který v daném čase probíhá v základních mnohobuněčných jednotkách BMU (basic multicellular unit) jen na určitých místech kostních povrchů. Je to kontinuální proces dvou dějů, a to kostní resorpce a kostní novotvorby, který umožňuje obnovu kostry při zachování její struktury. Diferenciace a aktivace osteoblastů a osteoklastů je regulována pomocí transkripčních faktorů (TF), cytokinů a růstových faktorů (GF), které jsou produkovány jednak lokálně, samotnými kostními buňkami, jednak systémovými faktory. RANKL/RANK má zásadní roli v diferenciaci a přežívání osteoklastů. OPG (osteoprotegerin) a RANKL mají zásadní úlohu v propojení funkce osteoblastů a osteoklastů. Stávají se tak cílem možného farmakologického ovlivnění kostní resorpce.

Po vazbě RANKLu na RANK dochází k aktivaci signální kaskády regulující diferenciaci a aktivaci osteoklastů. RANKL-RANK stimulace je nepostradatelná pro indukci osteoklastogeneze, ostatní signální dráhy mohou jen pozitivně či negativně tuto signalizaci ovlivnit.

OPG není schopen ovlivnit zánětlivou aktivitu onemocnění, ale je schopen zabránit vzniku erozí a destrukci kloubu. Efekt OPG je tedy spojen s regulací kostního obratu.

Kostní remodelace, ztráta kostí jsou kontrolovány osou RANKL-RANK-OPG. RANKL je také produkován T buňkami po antigenním stimulu. Tyto T buňky se mohou podílet také na vývoji a aktivaci osteoklastů. Imunitní buňky se tedy účastní kostního metabolismu jak ve zdraví, tak v přítomnosti zánětlivých nebo autoimunitních onemocnění, jako je revmatoidní artritida.

Inhibice RANKL u pacientů s revmatoidní artritidou nemá žádný efekt na samotný zánětlivý děj, ale brání kostní ztrátě a vzniku erozí. Vývoj humánní monoklonální protilátky proti RANKLu, denosumabu, představuje nový, vysoce účinný přístup v prevenci fragilních osteoporotických fraktur, skeletálních komplikací malignit a kostních erozí u revmatoidní artritidy. Blokáda RANKL/RANK signalizace nevede k imunitní dysfunkci. Inhibice RANKLu nemá vliv na průběh zánětlivé reakce mediované T buňkami u RA.

*Klíčová slova: osteoporóza, revmatoidní artritida, kostní remodelace, RANK, RANKL, OPG, denosumab*

## SUMMARY

Růžičková O.: **Modification of the RANK/RANKL/OPG signaling pathway**

Chronic diseases associated with bone involvement such as rheumatoid arthritis and osteoporosis affect millions of people and require enormous health and social care costs.

The skeleton is a living tissue undergoing renewal throughout the entire life. Thus, remodeling involving bone resorption and formation allows adaptation of the skeleton to the current needs of the organism and microdamage repair. Bone mass loss accompanies many diseases such as chronic infectious diseases, rheumatoid arthritis, leukemia, postmenopausal osteoporosis, bone metastases and many others.

Bone tissue contains three types of specialized bone cells – osteoclasts, osteoblasts and osteocytes. Bone remodeling is a process occurring at a given time in basic multicellular units (BMUs) in only certain areas of bone surfaces. It is a continuous process of two actions, bone resorption and bone formation, allowing renewal of the skeleton while preserving its structure. Differentiation and activation of osteoblasts and osteoclasts is regulated by transcription factors (TFs), cytokines and growth factors (GFs), produced both locally by bone cells themselves and by systemic factors. RANKL/RANK play a crucial role in osteoclast differentiation and survival. OPG (osteoprotegerin) and RANKL have a key role in interconnecting osteoblast and osteoclast functions. Thus, they become a target of potential pharmacological influence on bone resorption.

After RANKL binds to RANK, a signaling cascade regulating osteoclast differentiation and activation is activated. RANKL-RANK stimulation is indispensable for induction of osteoclastogenesis. The other signaling pathways may only influence this signaling positively or negatively.

Although OPG is unable to influence the inflammatory activity of diseases it is able to prevent the development of joint erosion and destruction. Thus, the effect of OPG is associated with bone turnover regulation.

Bone remodeling and bone loss are controlled by the RANKL-RANK-OPG axis. RANKL is also produced by T cells after antigenic stimuli. These T cells may also participate in osteoclast development and activation. Thus, immune cells are involved in bone metabolism in both health and in the presence of inflammatory or autoimmune diseases such as rheumatoid arthritis.

Inhibition of RANKL in patients with rheumatoid arthritis has no effect on the inflammatory action itself but prevents bone loss and development of erosions.

The development of denosumab, a human monoclonal antibody against RANKL, represents a new, highly effective approach to prevention of fragility osteoporotic fractures, skeletal complications of malignancies and bone erosions in rheumatoid arthritis. Blockade

of RANKL/RANK signaling does not lead to immune dysfunction. Inhibition of RANKL has no impact on the course of inflammatory reaction mediated by T cells in rheumatoid arthritis.

**Keywords:** osteoporosis, rheumatoid arthritis, bone remodeling, RANK, RANKL, OPG, denosumab

*Osteologický bulletin 2012;17(1):21–31*

**Adresa:** MUDr. Olga Růžičková, Osteocentrum, Revmatologický ústav, Na Slupi 4, 120 00 Praha 2, e-mail: ruzic@revma.cz

Došlo do redakce: 28. 11. 2012

Přijato k tisku: 3. 4. 2012

## Úvod

Chronická onemocnění spojená s postižením kostí, jako jsou revmatoidní artritida a osteoporóza, postihují miliony lidí a představují obrovské ekonomické náklady na zdravotní a sociální péči. Je proto nutné přizpůsobit diagnostické a terapeutické procesy novým klinickým výsledkům. Díky výsledkům výzkumu v posledních letech se strategie léčby těchto onemocnění zaměřila směrem k třem molekulám z rodiny tumor necrosis factor TNF, kterými jsou receptor aktivátor NF-kappaB (RANK), jeho ligand RANKL a kompetitivní receptor pro RANKL, osteoprotegerin (OPG). Výzkum potvrdil centrální roli těchto molekul v procesu diferenciace, funkce a přežívání osteoklastů. RANK-RANKL signální cesta nemá význam jen pro činnost osteoklastů, ale ovlivňuje mnoho dalších dějů. Má vliv na homeostázu kostí, je nezastupitelná v procesu formace lymfatických uzlin, mikroprostředí thymu, pro rozvoj prsní žlázy v průběhu gravidity. Zároveň je tato signální cesta ovlivňována mnoha dalšími faktory jak v prostředí kosti, tak systémově prostřednictvím různých působků a cytokinů. Ovlivnění signální cesty RANK-RANKL se zdá být slibné z hlediska možnosti léčby kostní ztráty u artritidy, kostních metastáz,

osteoporózy a dalších [20]. Z posledních výzkumů vyplývá, že i imunitní buňky mohou zasahovat do metabolismu kostí.

Osteoporóza je chronické metabolické onemocnění skeletu, charakterizované nerovnováhou mezi procesem kostní resorpce a kostní formace, vedoucí ke ztrátě kostní hmoty a deterioraci mikroarchitektury kosti. U postmenopauzálních žen vede pokles hladiny estrogenů k prudkému nárůstu kostní remodelace, kdy vzestup kostní resorpce není následován dostatečně kostní novotvorbou. S prohlubujícím se úbytkem kostní hmoty dochází ke ztrátě pevnosti kosti a stoupá riziko zlomenin, které ve svém důsledku vedou k nárůstu morbidity a mortality [1].

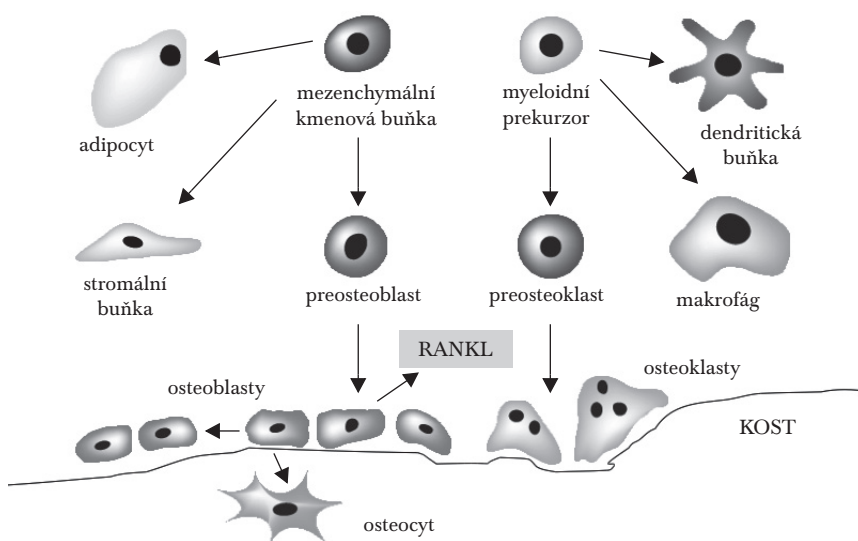
## Remodelace kosti

Kostra je živá tkáň, která v průběhu celého života podléhá obměně. Skelet slouží jako opora pro svalový aparát, chrání vnitřní orgány, je místem krvetvorby, podílí se na udržení homeostázy organismu. Celý skelet se obnovuje přibližně každých 10–20 let. Remodelace, která zahrnuje kostní resorpci a novotvorbu, tak umožňuje adaptaci skeletu na aktuální potřeby organismu a zároveň sanuje vzniklá mikro-

poškození. Pokud dojde k porušení rovnováhy mezi novotvorbou a resorpcí kosti, vzniká nejprve osteopenický stav, a pokud tato nerovnováha trvá, dojde ke vzniku osteoporózy se všemi jejími komplikacemi, vedoucí k výraznému zhoršení kvality života a zvýšení morbidity i mortality. Na vzniku této nerovnováhy se mohou podílet hormonální změny, nadprodukce zánětlivých cytokinů, růstové faktory. Ztrátu kostní hmoty provází mnoho onemocnění, jako jsou chronická infekční onemocnění, revmatoidní artritida, leukemie, postmenopauzální osteoporóza, kostní metastázy a mnohá další.

Kostní remodelace probíhá jak na endokortikálním, tak na trabekulárním kostním povrchu, a také intrakortikálně k zajištění správné adaptace a funkce skeletu, včetně hojení mikropoškození a zajištění homeostázy kalcia. Kostní tkáň je rezervoárem kalcia

Obr. 1  
Diferenciace a zrání kostních buněčných linií



Upraveno dle: Walsh MC, et al. Ann. Rev. Immunol. 2006; 24:33-63

a fosfátu, který je schopen se v případě nutnosti podílet na udržení homeostázy vnitřního prostředí. Remodelace kosti probíhá na kostních površích, tento děj zahrnuje kostní resorpci zprostředkovanou osteoklasty, následovanou depozicí nové kosti produkované osteoblasty. Osteoblasty tvoří osteoid, který začíná mineralizovat asi po 10 dnech. Za fyziologických okolností jsou procesy resorpce a formace vyrovnány a množství odbourané a novotvořené kosti je v rovnováze. Běžný remodelační cyklus trvá 4–6 měsíců, většinu času zabírá novotvorba. Během jednoho roku je remodelováno přibližně 10 % skeletu, tzn. že celá kostra se obnoví přibližně za deset let. Remodelace probíhá na všech površích kostí dle aktuální potřeby.

Kostní tkáň obsahuje tři typy specializovaných kostních buněk, jsou to osteoklasty, osteoblasty a osteocyty. Osteoklast je buňka odvozená z hematopoetických buněk monocytomakrofágové linie. Hemopoetická prekurzorová buňka kostní dřeně potřebuje pro svou diferenciaci v preosteoklast stimulaci růstovým faktorem – kolonie makrofágů stimulující faktor 1 CSF 1 (colony stimulating factor 1). Osteoklast je zodpovědný za resorpci kosti. Diferencovaný osteoklast je mnohjaderná buňka, vybavená zřasenou membránou schopnou přilnutí k povrchu kosti. Zde pak dochází k sekreci kyselin a enzymů (tkáňové metalloproteinázy, kathepsin K), které umožňují vlastní resorpci kostní tkáně. Ke vzniku mnohjaderného zralého osteoklastu dochází po navázání cytokinu – ligandu aktivátoru receptoru nukleárního faktoru kappaB (RANKL), který je produkován osteoblasty a T lymfocyty a který se váže na svůj receptor (RANK). RANKL/ RANK má zásadní roli v diferenciaci a přežívání osteoklastů. Osteoblasty jsou pak odvozeny z pluripotentní mezenchymální kmenové buňky (MSC). Jejich úkolem je syntéza nové kostní hmoty, osteoidu a umožnění následné mineralizace. Osteocyty jsou terminálně diferencované osteoblasty zavzaté do vlastní mineralizované kostní hmoty. Osteocyty představují asi 90 % všech kostních buněk dospělého skeletu. Tyto buňky jsou propojeny vzájemně a také s osteoblasty na kostním povrchu pomocí rozsáhlé sítě kanálků, které jsou naplněny kostní extracelulární tekutinou. Takto propojené buňky pak pracují jako mechanosenzor, registrující působící síly a mikropoškození. V návaznosti na tuto funkci dále probíhá remodelace a reparace kostí (obrázek 1).

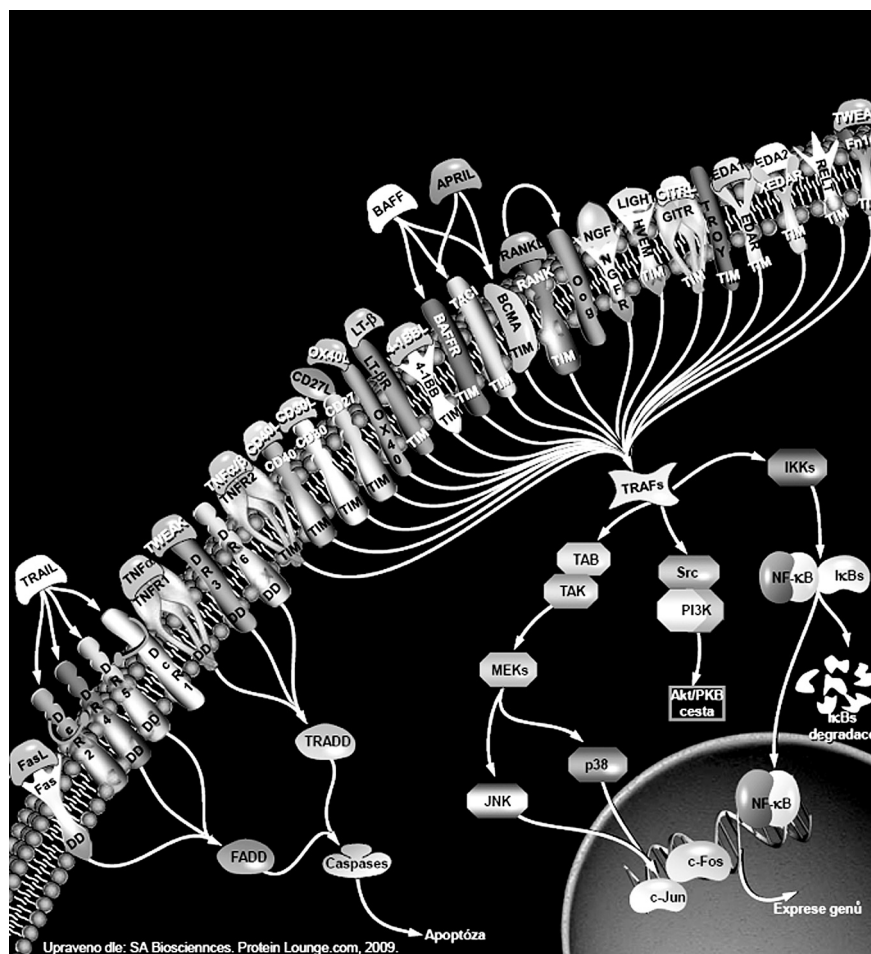
Remodelace kosti je děj, který v daném čase probíhá v základních mnohobuněčných jednotkách BMU (basic multicellular unit) jen na určitých místech kostních površích. Je to kontinuální proces dvou dějů, a to kostní resorp-

ce a kostní novotvorby, který umožňuje obnovu kostry při zachování její struktury.

Diferenciace a aktivace osteoblastů a osteoklastů je regulována pomocí transkripčních faktorů (TF), cytokinů a růstových faktorů (GF), které jsou produkovány jednak lokálně, samotnými kostními buňkami, jednak systémovými faktory. Pro rozvoj osteoblastické řady jsou klíčové TF Runx2/cbfa 1 a Osx (osterix). Protichůdně pak na pluripotentní kmenovou buňku působí TF Ppar gamma, který vede k přeměně kmenové buňky na adipocyt. A to je důležitý faktor stárnutí skeletu. Protein 5 a/nebo 6 spojený s LDL receptorem (LRP5, LRP6), spojený s koreceptorem frizzled (Fzd), jeho agonistou (Wnts) a antagonistou (Dickkopf, Dkk1, sklerostin, SOST) využívající beta-kateninové cesty, jsou hlavními regulátory kostní formace. Ačkoliv terminální specifické faktory účastníci se konečné diferenciace osteoblastů v osteocyty nejsou přesně známy, je jisté, že v tomto procesu se účastní sclerostin, fibroblastový růstový faktor (FGF-23), periostin, dentinový kyselý fosfoprotein (DMP-1) a další molekuly zapojené do homeostázy mineralizované tkáně [2,3].

Diferenciace osteoklastu je závislá na několika transkripčních faktorech (PU.1 a AP-1 skupiny, jako je Fos) a nukleárním faktoru aktivovaných T buněk (NFATc1)

Obr. 2  
TNF superrodina



a velmi specifickém cytokinu, ligandu aktivátoru receptoru nukleárního faktoru kappaB (RANKL), který je produkován osteoblasty a T lymfocyty, a který se váže na svůj receptor (RANK). B lymfocyty a další buňky produkují osteoprotegerin (OPG), který působí jako kompetitivní antagonistu vazby RANKLu na RANK, a brání tak osteoklastogenezi. OPG a RANKL mají zásadní úlohu v propojení funkce osteoblastů a osteoklastů. Stávají se tak cílem možného farmakologického ovlivnění kostní resorpce.

Pro zdárný průběh remodelace kosti je nutná vzájemná interakce mezi osteoklasty a osteoblasty. Tato komunikace v mikroprostředí kosti probíhá pomocí již zmíněných tří

molekul z rodiny TNF alfa ligandů a receptorů. Jsou to: ligand pro receptor aktivátoru nukleárního faktoru kappaB (RANKL), jeho receptor RANK a OPG. RANKL je klíčovým faktorem diferenciaci, aktivace a přežívání osteoklastů. Je produkován osteoblasty a T lymfocyty [4]. Osteoprotegerin je pak kompetitivním inhibítozem vazby RANKLu na RANK, tedy inhibítozem diferenciaci a aktivace osteoklastů, tedy inhibítozem osteoresorpce. Vzájemný poměr RANKL a OPG v mikroprostředí kosti určuje převahu nebo deficit osteoresorpce vůči novotvorbě kosti. Tento mechanismus je univerzální pro děje spojené s resorpcí kosti. U žen s nízkou hladinou estrogenu, u postmenopauzálních žen byly nalezeny zvýšené hladiny RANKLu na buňkách kostní dřene.

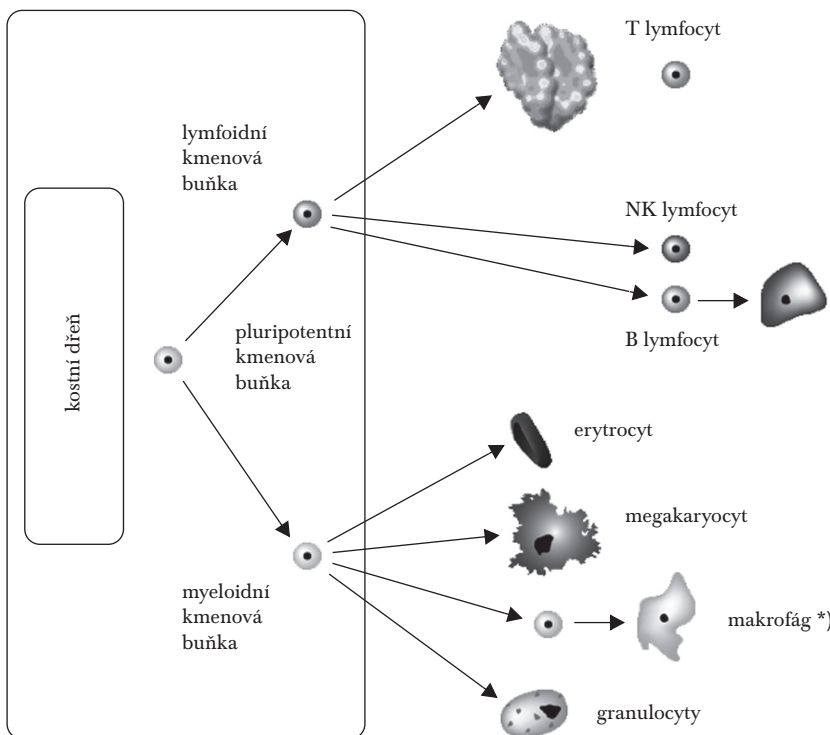
Z některých studií vyplývá souvislost mezi vzájemným poměrem RANKL a OPG a vznikem cévních kalcifikací. V patogenetickém procesu úbytku kostní hmoty se účastní i další faktory jako: IGF (inzulinu podobný růstový faktor), TGF – beta. I další cytokiny jako IL-1, prostaglandiny, IL-6, TNF-alfa. Dále do kostní remodelace zasahují i oxid dusnatý a leukotrieny (obrázek 2).

### Osteoprotegerin

Osteoprotegerin (OPG) je členem superrodiny TNF alfa ligandů a receptorů, byl poprvé identifikován nezávisle na sobě dvěma skupinami vědců v roce 1997 (Simone et al., 1997; Tsuda et al., 1997). Byl podán důkaz o jeho centrální roli v regulaci kostní remodelace inhibicí osteoklastogeneze. Osteoprotegerin je složen z 401 aminokyselin [5]. Je to secernovaný glykoprotein účastnící se regulace kostní remodelace. Působí jako kompetitivní receptor pro ligand receptoru aktivátoru nukleárního faktoru kappaB (RANKL) a změna jeho koncentrace v mikroprostředí kosti je spojena s celou řadou kostních onemocnění. Osteoprotegerin (OPG), ochránce kosti, byl první objevenou molekulou v systému RANK-RANKL-OPG. Jde o solubilní protein syntetizovaný v podobě prekursoru. OPG lze nalézt v mozku, játrech, plicích, srdci, ledvinách, kosterních svalech, kůži, žaludku, varlatech a placentě. Inhibicí s TNF spojeného apoptotického ligandu (TRAIL, TNF- related apoptosis – inducing ligand) inhibuje apoptózu.

K udržení rovnováhy mezi kostní formací a resorpcí je nutná inhibice interakce RANKL a RANK vazbou OPG. Osteoprotegerin je produkován osteoblasty a působí jako decoy receptor

Obr. 3 Diferenciace a zrání osteoklastů



\*) linie makrofágů se diferencuje v různé typy buněk: osteoklasty, dendritické buňky, mikroglie

Upraveno dle: Yin T, Li L. J. Clin. Invest. 2006; 116:1195-1201.

Obr. 4 Cytokiny modulující expresi RANK/RANKL

Cytokin	RANKL	OPG	RANK
TNF	↑	↑	↑
IL-1	↑	↑	
Ca <sup>2+</sup>	↑	↑	
IL-17	↑		
CD40L		↑	
TGF	↓	↑	↓
dexametazon	↑	↓	↑
CsA, FK506	↑	↓	
IL-6			stimulace zrání makrofágů

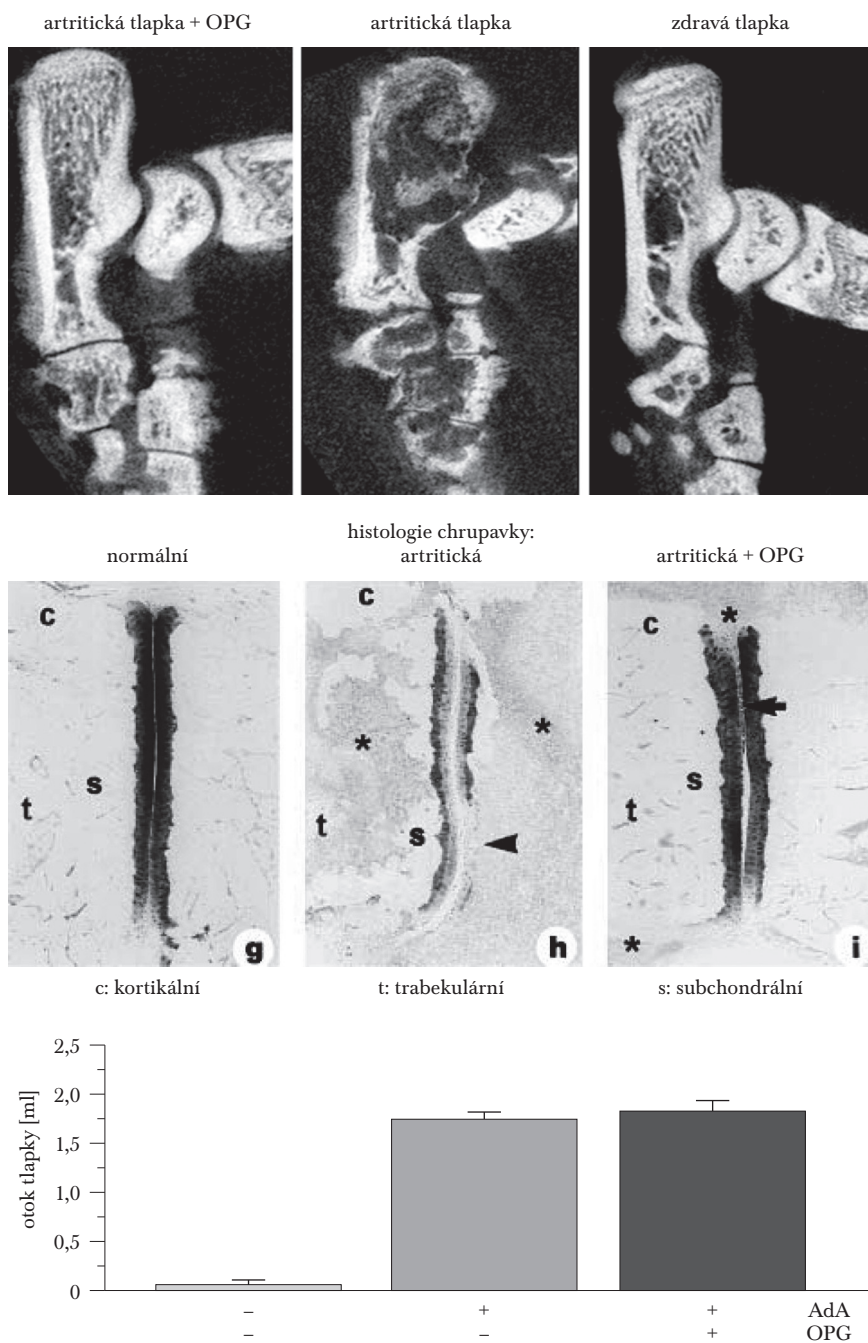
váží se na RANKL, čímž brání vazbě na RANK, a tím následně aktivaci osteoklastů, a tedy i kostní resorpci [6,7]. Osteoprotegerin má klíčovou úlohu v regulaci kostní remodelace a mnoho studií prokázalo jeho úlohu při mnoha kostních onemocněních. Byla prokázána úloha OPG v patogenezi osteoporózy a revmatoidní artritidy. Osteoporóza je onemocnění spojené se snížením denzity kostního minerálu (BMD) díky zvýšené osteoklastické aktivitě, která je spjata s poklesem hladiny estrogenů u žen po menopauze. Bylo prokázáno, že podání estrogenů do kultury lidských osteoblastů vede ke zvýšení produkce OPG. Obdobné výsledky byly získány ve studii se SERM [8]. Z toho vyplývá, že estrogény regulovaná produkce OPG je částečně odpovědná za jeho ochranný efekt na kostní denzitu, která po menopauze klesá. Obdobně bisfosfonáty vedou k normalizaci kostního obratu inhibicí osteoklasty zprostředkované kostní resorpce a jsou schopny zvýšit hladinu osteoprotegerinu v trabekulárních osteoblastech [9].

Faktory chránící před ztrátou kostní hmoty vedou k nárůstu OPG, faktory indukující osteoporózu jako např. glukokortikoidy snižují hladinu OPG. U dexametazonu bylo potvrzeno snížení exprese mRNA pro OPG u osteoblastických buněk [10].

Zatímco osteoporóza je charakterizována zvýšeným rizikem fraktur při sníženém množství kostní hmoty a poruše mikroarchitektury kosti, revmatoidní artritida je charakterizována chronickým zánětem synoviální tkáň kloubů, který vyústí v destrukci chrupavky i kosti, částečně zapříčiněné zvýšenou osteoklastogenezí. V reakci in vitro v kulturách synoviálních fibroblastů u revmatoidní artritidy a mononukleárních buněk periferní krve dochází k formaci osteoklastům podobných buněk [11]. V souladu s pozorováním in vitro byly výsledky studií provedených in vivo, které také prokázaly spojení mezi OPG, osteoporózou, revmatoidní artritidou, ale také zánětlivým střevním onemocněním, které také může být spojeno s kostní ztrátou. OPG může zabránit úbytku kostní hmoty a akumulaci osteoklastů, stejně tak jako ochránit chrupavku. U TNF alfa indukované artritidy brání OPG vzniku kostních erozí a snad také destrukci kloubů spojené s artritidou. I když OPG není schopen ovlivnit zánětlivou aktivitu onemocnění, je schopen zabránit vzniku erozí a destrukci kloubu. Efekt OPG je tedy spojen s regulací kostního obratu [12].

Byla také provedena celá řada klinických studií, zaměřených na sledování souvislosti OPG a některých kostních nemocí. Silná asociace byla prokázána u mutací genu OPG a juvenilní Pagetovy choroby (JPD). Toto onemocnění známé také jako idiopatická hyperfosfatázie, je autozomálně recesivně dědičné onemocnění, charakterizované akcelerovaným kostním obratem celého skeletu. Závažnost JPD se pohybuje ve škále od těžkých deformit skeletu zabraňujících mobilitě, vedoucích k frakturám, zástavě růstu, morbiditě a mortalitě až po mírné formy s minimálním postižením, kdy není postižen růst. Již zjištěných mutací je celá řada,

Obr. 5  
Inhibice RANKL brání vzniku erozí chrupavky a kosti bez vlivu na zánětlivou aktivitu artritidy u krys



Upraveno dle: Kong YY, et al. Nature. 1999; 397:315-23. Stolina M, et al. J Bone Miner Res. 2005; 20:1756-65.

mimo změny samotné molekuly, může být postižena vazebná afinita k molekule RANKL, nebo je tato vazba nedostačující [13].

U postmenopauzální osteoporózy byla provedena celá řada studií, zaměřených na souvislost mezi sérovou hladinou OPG a BMD u postmenopauzálních žen. Výsledky těchto sledování nejsou jednotné. V jedné srovnávací studii 206 bílých postmenopauzálních žen byla pozorována pozitivní korelace mezi sníženou sérovou hladinou osteoprotegerinu a sníženou hodnotou BMD, stejně tak jako se zvýšenou incidencí obratlových zlomenin [14]. V dalších studiích bylo zjištěno, že u postmenopauzálních žen s osteoporózou při léčbě bisfosfonáty dochází při měřeních po 6 a 12 měsících k pozitivní korelaci mezi sérovou hladinou OPG a BMD. Tento nárůst je přisuzován zvýšené sekreci OPG osteoblasty po léčbě bisfosfonáty [15]. Stejně tak zvyšuje hladinu sérového OPG podání raloxifenu u žen s nízkou BMD [16].

U pacientů s Pagetovou chorobou, která je charakterizována excesivní kostní resorpcí následovanou abnormální kostní novotvorbou, léčba bisfosfonáty pamidronátem a risedronátem vede k nárůstu sérové hladiny OPG, což opět může být následek zvýšené produkce OPG osteoblasty [17].

Zajímavé je, že u pacientů s revmatoidní artritidou byly nalezeny zvýšené hladiny OPG oproti zdravým kontrolám. Tento jev může být připisován kompenzatornímu zvýšení OPG spíše než jeho kauzální úloze v chorobném procesu [18]. Při analýze synoviální tkáně pacientů s revmatoidní artritidou bylo zjištěno zvýšení hladiny OPG po podání anti-TNF léčby, což podporuje ohranný vliv OPG. Více informací než měření izolovaně sérové hladiny OPG nám poskytuje sledování poměru OPG a RANKL [19].

## RANKL

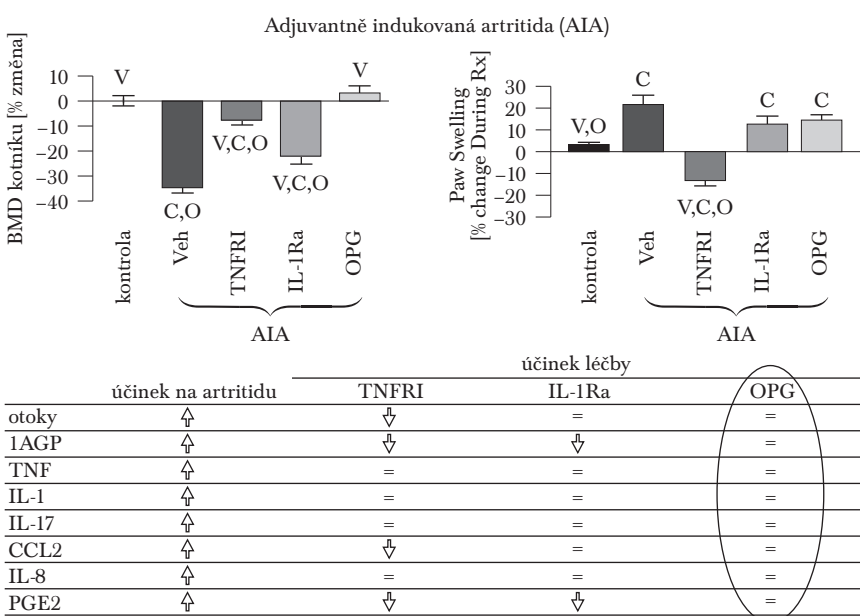
RANKL je také členem superrodiny TNF receptorů a ligandů. Po antigenním stimulu dochází v T lymfocytech k výrazné upregulaci RANKLu, zároveň bylo prokázáno, že RANKL zvyšuje schopnost dendritických buněk stimulovat proliferaci naivních T buněk. Lidský RANKL je syntetizován jako glykoprotein obsahující 317 aminokyselin. Vyskytuje se ve formě membránově vázané a solubilní. Ve vysoké hladině je exprimován ve skeletu a v primární i sekundární lymfatické tkáni, mRNA pro RANKL lze nalézt i v kožních keratinocytech, v epitelálních buňkách prsní žlázy, v srdci, v kosterním svalu, plicích, žaludku, placentě, štítné žláze a mozku. Membránově vázaný RANKL může být posttranslačně regulován některými desintegriny a metalloproteinázami. Na modelu murin karcinomu prostaty byla nalezena zvýšená exprese metalloproteinázy osteoklasty, která může změnit membránově vázaný RANKL na solubilní, a zvýšit tak aktivaci osteoklastů a vznik osteolytických lézí [21–31].

## RANK

Objevení RANKu bylo opět nezávisle na sobě prezentováno několika výzkumnými týmy. Opět jde o člena superrodiny TNF receptorů a ligandů. Jde o signální receptor v procesu diferenciaci osteoklastů. RANK mRNA se vyskytuje v dendritických buňkách, v kostech, kosterním svalstvu, thymu, játrech, tenkém a tlustém střevě a v adrenálních žlázách. RANK je možno detekovat na povrchu dendritických buněk, CD4+ a CD8+ T lymfocytů, Langerhansových buněk, epitelálních buněk prsní žlázy v průběhu těhotenství [32–35].

OPG byl první identifikovanou molekulou v ose RANK-RANKL-OPG a byl klonován jako potenciální inhibitor osteoklastogeneze. Overexprese OPG u transgenických myší vedla ke vzniku osteoporózy a naopak chybění OPG vedlo k časně osteoporóze. Osteoklastogenní faktor RANKL zvyšuje diferenciaci buněk kostní dřene v osteoklasty a zvyšuje aktivitu zralých osteoklastů v odbourávání kosti. Může být inhibován vazbou na OPG. Hlavní úloha RANKL-RANK interakce je pozitivní regulace osteoklastogeneze, vyvažovaná kompetitivní vazbou OPG na RANKL. Dá se shrnout, že všechny faktory mající pozitivní či negativní vliv na kostní osteoklastickou resorpci pozitivně či negativně ovlivňují RANKL a OPG mRNA. Funkce osy RANK-RANKL-OPG souvisí s rozvojem některých geneticky vzácných onemocnění skeletu, např. duplikace signálního peptidu RANK je spojena s výskytem Pagetovy choroby. Pacienti trpící expanzivní skeletální hyperfosfatázií, familiárním metabolickým kostním onemocněním vyznačujícím se hyperostózou dlouhých

Obr. 6  
Inhibice RANKL nesnižuje lokální nebo systémové zánětlivé parametry artritidy u krys s artritidou



Upraveno dle: Stolina M, et al. EULAR 2009

koští, zkrácenou dobou života, předčasnou ztrátou zubů a epizodickou hyperkalcemií je dána insercí v exonu 1 pro RANK. Je popsáno větší množství mutací, které vedou k osteopatii, úbytku kostní hmoty, frakturám a kostním deformitám [36–46].

RANK je člen superrodiny TNF receptorů (TNFR), nemá žádnou kinázovou aktivitu, proto potřebuje další asociované faktory, které zprostředkují přenos signálu po navázání ligandu. Jsou to TNFR asociované faktory (TRAFs), které se váží na různé oblasti cytoplazmatické části TNF receptorů a zprostředkují ligandem indukovanou signalizaci. Jedním z TRAFs pro RANKL je TRAF 6, dalšími jsou 2,5. Tyto TRAFs zprostředkují aktivaci NF-kappaB a c-Jun NH2-terminální kinázy (JNK). Zdá se, že pro aktivaci NF-kappaB je esenciální interakce s TRAF6. TRAF6 je tedy hlavní molekulou nutnou pro komunikaci RANK a NF-kappaB cesty, která je nutná pro osteoklastogenezi [47–51].

RANKL-RANK signalizace zahrnuje aktivaci transkripce faktoru NF-kappaB. Proteiny NF-kappaB1 a NF-kappaB2 jsou syntetizovány jako dlouhé prekurzory, které jsou skladovány v cytoplazmě ve vazbě na I-kappaB inhibiční proteiny. Tyto proteiny jsou rychle degradovány po aktivaci I-kappaB kinázy (IKK). IKK komplex obsahuje dvě katalytické subjednotky IKK alpha a IKK beta a regulační podjednotku. Pro RANK signalizaci osteoklastogeneze je esenciální IKK beta [52].

Mitogen-activated protein kinázy (MAPK) patří do rodiny Ser/thr protein kináz. Některé z těchto kináz jsou zahrnuty do RANK aktivace. Některé z nich jsou opět nepostradatelné k aktivaci osteoklastogeneze [53–56].

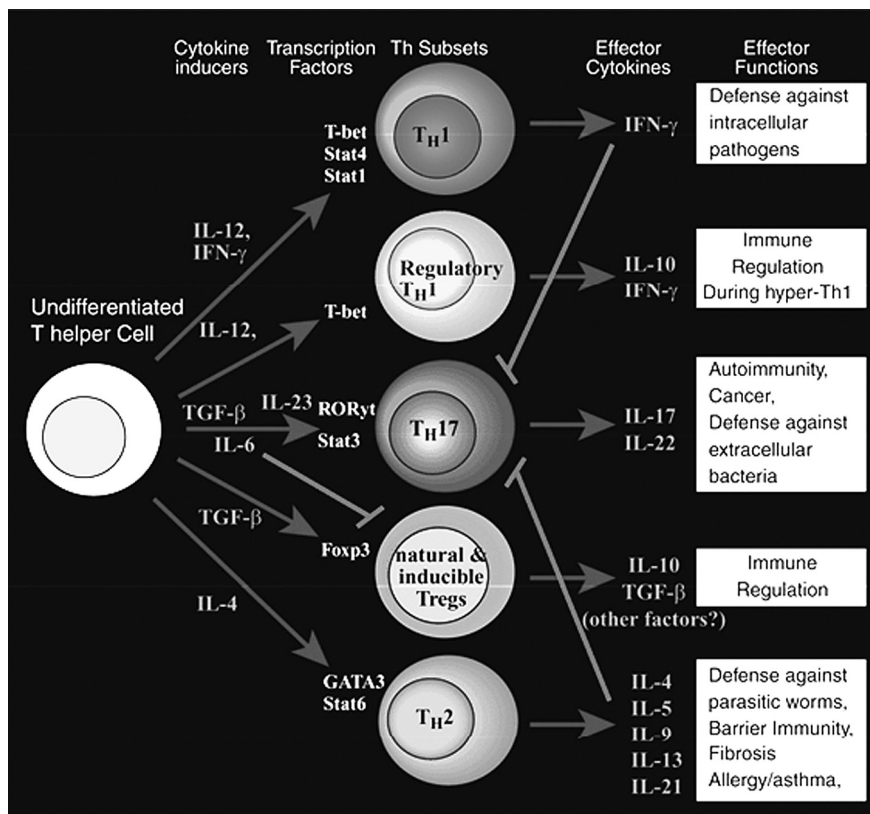
Před několika lety byl objeven transkripční faktor NFATc1 (nukleární faktor aktivovaných T buněk) jako faktor indukovaný RANKL, ale nikoli IL-1 v průběhu diferenciaci osteoklastů. Expres NFATc1 závisí na NF-kappaB a C-Fos cestě. Expres NFATc1 vede k diferenciaci osteoklastů. NFAT rodina transkripčních faktorů vyžaduje pro svou aktivaci a nukleární translokaci CA2+/kalmodulin závislou Ser/Thr fosfatázu calcineurin [57–59].

RANKL uvolňuje Ca<sup>2+</sup> z intracelulárních zásob cestou PLC (phosphoinositide-specific phospholipase C),

což vede k akceleraci translokace NF-kappaB do jádra a prodloužení přežívání osteoklastů.

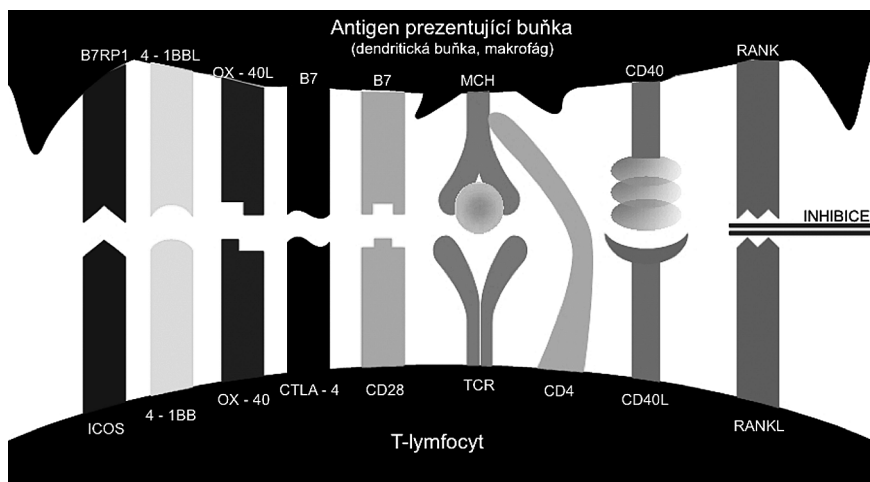
RANK stimulace a regulace kostního metabolismu souvisí a je závislá na kalciové signalizaci Calcineurin-NFATc1 a proteiny protein kinázy C(PKC) jsou také aktivovány kalcie a jsou nepostradatelné v regulaci kostní remodelace.

Obr. 7 Diferenciace T-lymfocytů a výkonné funkce



Fundamental Immunology, 6<sup>th</sup> Ed., et. W. E. Paul

Obr. 8 RANK-RANKL je jednou z mnoha molekul exprimovaných na lymfoidních buňkách



Upraveno dle: Fontenot AP, Kotzin BL. Textbook of Respiratory Medicine. Murray JF, et al. eds. W. B. Saunders Company. 2000. pp.413-444.

## Osteoimunologie

RANKL je exprimován na aktivovaných T buňkách, ale T buňky zároveň secernují faktor, který negativně ovlivňuje RANK signalizaci. Mezi tyto faktory patří IFN-gamma, který akceleruje degradaci TRAF6 cestou ubiquitin-proteasomu, což vede k silné inhibici RANKL indukované NF-kappaB a JNK aktivace. RANKL také indukuje produkci IFN-beta v osteoklastických prekurzorových buňkách, IFN-beta je inhibítozem diferenciaci osteoklastů cestou interference s RANKL indukovanou expresí c-Fos [60,61] (obrázek 3).

Estrogeny a androgeny suprimují diferenciaci osteoklastů indukovanou RANKL downregulací JNK-c-Jun a zároveň kontrolují produkci OPG. Podávání OPG snižuje počet osteoklastů a kostní ztrátu po ovariectomii u krys. Estrogeny také regulují délku přežití osteoklastů.

Také další cytokiny regulují osteoklastogenezi. IL4 ruší osteoklastogenezi, zatímco členové TGF rodiny umocňují RANKL indukovanou osteoklastogenezi. M-CSF je klíčový pro proliferaci a přežití osteoklastických prekurzorových buněk, stejně tak jako pro makrofágy. M-CSF zprostředkuje RANKL indukovanou přeměnu prekurzorových buněk do osteoklastické řady [62,63].

TNF alfa hojně se vyskytující v místech zánětlivých kostních erozí je velmi silným akcelerátorem osteoklastogeneze. Dokáže zvýšit expresi RANK na prekurzorových buňkách, z toho vyplývá synergie signalizace RANKL-RANK a TNF alpha-TNFR.

Shrňme tedy, že RANKL-RANK stimulace je nepostradatelná pro indukci osteoklastogeneze, ostatní signální dráhy mohou jen pozitivně či negativně tuto signalizaci ovlivnit.

Genotyp Rankl<sup>-/-</sup> a Rank<sup>-/-</sup> vede k fenotypu s kompletní absencí lymfatických uzlin 9–11. I další členové TNF rodiny mají vliv na vývoj a uspořádání sekundární lymfatické tkáně. Jejich nepřítomnost může vyvolat poruchu či chybění lymfatických uzlin, Peyeroých pláků, dendritických buněk, změnu architektury sleziny. RANKL-RANK signalizace kontroluje formaci lymfatických uzlin u lidí. K rozvoji lymfatických uzlin je třeba několika odlišných buněčných typů, jako jsou fibroblasty, makrofágy, retikulární buňky a endoteliální buňky. Primordiální lymfatické uzliny jsou poté osídleny T a B buňkami a buňkami, které se vyvíjejí do NK buněk, antigen prezentujícími buňkami a folikulárními buňkami. RANKL a RANK exprimující buňky se vyskytují ve zralých lymfatických uzlinách, v jejich kortikální části. RANKL a RANK jsou dále exprimovány ve slezině a Peyeroých plátech. RANKL se účastní regulace vývoje lymfatických uzlin kontrolou jejich buněčné kolonizace [64–72].

Dendritické buňky jsou specializované na vazbu a zpracování antigenu. Ve většině tkání se vyskytují v nezralé formě, neschopné stimulovat T buňky. Kontakt s antigenem vede k jejich maturaci jako odpověď na zánětlivý stimul. Zralé dendritické buňky s antigenem putují do T buněčných zón sekundárních lymfatických orgánů a prezentují antigen antigen-specifickým T buňkám. T buněčné oblasti sekundárních lymfatických orgánů představují mikroprostředí umožňující interakci mezi dendritickými buňkami, T buňkami a B buňkami iniciujícími adaptivní imunitní reakci. RANKL není exprimován na klidových CD 4+ nebo CD 8+ T buňkách, ale 4 hodiny po stimulaci anti-CD3/CD 28, je povr-

chový RANKL detekovatelný na CD4+ T buňkách s vrcholem za 48 hodin, který trvá až 96 hodin. Expresce RANKL na CD8+ T buňkách podléhá obdobné kinetice po stimulaci, ale v množství nižším než na CD4+ T buňkách. Povrchová exprese RANK je přítomna na všech dendritických buňkách. Interakce mezi RANKL na aktivovaných T buňkách a RANK na dendritických buňkách má vliv na přežívání dendritických buněk. RANKL zvyšuje antigen-specifickou primární T buněčnou odpověď. RANKL může indukovat v dendritických buňkách tvorbu mnoha cytokinů, jako je IL-1, IL-6, IL-12, IL-15. Signalizace RANKL-RANK z T buněk na DC nemá vliv na expresi povrchových molekul MHC třídy II, CD 80, CD 86, CD 54. Zdá se, že RANKL má roli v odpovědi paměťových T buněk [73–76] (obrázek 4).

OPG je také možno identifikovat na povrchu DC buněk, kde váže molekulu z rodiny TNF TRAIL, která je produkována aktivovanými T buňkami a která je zodpovědná za apoptózu DC buněk. Zdá se, že rovnováha mezi RANKL a TRAIL, které jsou oba produkovány aktivovanými T buňkami, mají vliv na přežívání DC buněk a OPG může modifikovat tento stav. Zdá se, že RANKL, RANK, OPG mají vliv na některé funkce lymfocytů a DC buněk, nemají však nezastupitelnou roli pro funkci těchto buněk, která by nemohla být zastoupena jinými molekulami.

Expresce RANKL a OPG je ovlivněna sexuálními hormony. Z toho mohou vyplývat rozdíly v imunitních reakcích obou pohlaví a autoimunitních onemocněních s preferencí jednoho pohlaví, jako je revmatoidní artritida u žen [77,78].

Poslední studie prokázaly vliv RANKL-RANK na rozvoj AIRE+ epiteliálních buněk thymu. AIRE (autoimunitní regulátor), transkripční faktor. Mutace AIRE vede k rozvoji multiorgánové autoimunitní reakce. RANK signalizace má tedy jednu z klíčových úloh v regulaci centrální tolerance [79,80].

Expresce RANKL v kůži má vliv na počet regulatorních T buněk (Tregs). Tregs udržují imunologickou autotoleranci a tlumí excesivní reakci vůči vlastním antigenům u autoimunitních reakcí nebo alergií. Kůže je zdrojem vitamínu D3, což je klíčový spouštěč exprese RANKL v průběhu osteoklastogeneze. RANKL je exprimován i v kožních keratinocytech, kde jeho množství výrazně narůstá po UV ozáření. UV záření prostřednictvím upregulace RANKL v keratinocytech vede k aktivaci exprese RANK lymfatickými buňkami cestou RANKL-RANK interakce. RANKL aktivuje lymfatické buňky, preferenčně Tregs, což vede k supresi imunitní reakce v kůži i jiných tkáních [81–83].

Kostní remodelace a ztráta kostí jsou kontrolovány osou RANKL-RANK-OPG. RANKL je také produkován T buňkami po antigenním stimulu. Tyto T buňky se mohou podílet také na vývoji a aktivaci osteoklastů. V buněčné kultuře prekurzorových hematopoetických buněk kostní dřene bylo zjištěno, že aktivované CD4+ T buňky mohou indukovat osteoklastogenezi, která může být blokována přidáním OPG, a není závislá na cytokinech produkováných T buňkami, jako jsou IL-1 a TNF alpha, které také mohou zvyšovat RANKL. Imunitní buňky se tedy účastní kostního metabolismu jak ve zdraví, tak v přítomnosti zánětlivých nebo autoimunitních onemocnění, jako je revmatoidní artritida [84].

Revmatoidní artritida (RA) je chronické autoimunitní onemocnění, které postihuje 1–2 % populace. Jde o chro-

nický zánět synoviálních kloubů, progresivní destrukce chrupavky a kostí, pro pacienta představuje trvalé kruté bolesti, toto onemocnění vede k invalidizaci, zhoršení kvality života a zkrácení jeho délky [85–88]. Zdá se, že RANKL hraje klíčovou úlohu při vzniku erozí u pacientů s RA. T buňky v prostředí kloubního zánětu produkují velké množství prozánětlivých cytokinů, přesto inhibice RANKL cestou OPG nemá žádný vliv na tíži zánětlivé reakce. OPG pouze brání kostní ztrátě kortikální i trámčité a vzniku erozí v postižených kloubech. Velmi důležitým momentem je destrukce chrupavčitéch struktur, která vede ke kolapsu chrupavky. Není zcela jasné, zdali destrukce chrupavky probíhá nezávisle na kostní ztrátě, anebo jestli je destrukce subchondrální kosti nepřímou podmíněna zničením chrupavky. OPG může chrupavku před erozemi ochránit. RANKL-RANK jsou exprimovány na chondrocytech a přímo se účastní růstu a homeostázy chrupavky. Inhibice RANKL OPG může předejít destrukci chrupavky, kritickému a nevratnému momentu v patogenezi artritidy. Expresí RANKL je přítomna u zánětlivých buněk izolovaných ze synoviální tekutiny pacientů s RA a JIA, také pacientů s artrózou, zatímco OPG nebyl přítomen. Expresí RANKLu je také zvýšena u synoviálních fibroblastů ze zánětem postižených kloubů, které tak mohou indukovat osteoklastogenezi. RANKL signalizace z T buněk a synoviocytů je hlavním mediátorem destrukce kosti u artritidy lidí. Inhibice RANKL u pacientů s revmatoidní artritidou nemá žádný efekt na samotný zánětlivý děj, ale brání kostní ztrátě a vzniku erozí. Tato zjištění zároveň vysvětlují kostní ztrátu u mnoha dalších onemocnění s chronickou aktivací imunitního systému, jako je leukemie, chronické infekce včetně hepatitidy C, HIV, autoimunitní choroby, jako je diabetes mellitus, lupus erytematosodes, alergie, astma, kostní metastázy. Kostní postižení může samo o sobě způsobit ireverzibilní změny, invaliditu, výrazné snížení kvality života a obrovské ekonomické náklady pro celou společnost. Inhibicí RANKL nelze u všech těchto onemocnění zasáhnout do progresu samotného onemocnění, ale výrazně zlepšit kvalitu života nemocných. Logicky přichází otázka: proč T buňky v našem těle, které jsou neustále aktivovány různými antigeny, nepůsobí kostní ztrátu? Mechanismem, který může působit proti RANKL mediované resorpci indukované aktivovanými T lymfocyty, je upregulace interferonu gamma v určitých subsetech T buněk. INF gamma blokuje RANKL indukovanou osteoklastogenezi cestou degradace TRAF 6. Dále T buňky uvolňují IL 12, který synergicky s IL 18 inhibuje formaci osteoklastů, dalším cytokinem s obdobným účinkem na osteoklastogenezi je IL-4. Určitá podskupina CD4+ T pomahačských buněk, konkrétně Th 17, které produkují IL-17, jsou zodpovědné za mnoho autoimunitních zánětlivých reakcí. IL-17 je potentní induktor exprese RANKL a vyskytuje se v synoviální tekutině pacientů s RA. Th17 jsou klíčovými mediátory kostní destrukce u pacientů s RA. Tyto buňky stimulují lokální zánět cestou IL-17, expresí RANKL a indukci exprese RANKL na osteoblastech a synoviálních fibroblastech, celkově tedy podporují vznik kostních erozí. Tento efekt Th17 je vyrovnáván působením Th1 a Th2 buněk, prostřednictvím jimi produkovaných INF gamma a IL4. Tzn., že snaha ovlivnit Th17, může být důležitý krok v prevenci vzniku kostních erozí asociovaných

s kostní destrukcí aktivovanou T buňkami u R [89–102] (obrázek 5, 6).

Objevení RANKL, jeho receptoru RANK, kompetitivního receptoru OPG jako klíčových regulátorů vývoje osteoklastů, jejich aktivace a zrání dalo příležitost k vývoji nových účinných léků. RANKL je produkován aktivovanými T buňkami, které tak mohou přímo indukovat osteoklastogenezi. Z těchto zjištění také vyplynulo částečné pochopení kostní ztráty asociované s onemocněními zahrnujícími imunitní systém. RANKL-RANK kontroluje vývoj prsní žlázy v těhotenství, formaci lymfatických uzlin, buněk thymu. Dále může být RANKL chybějícím článkem mezi slunečním světlem a Treg působenou imunopresí. Inhibice RANKL se jeví být důležitým momentem v prevenci vzniku kostních a chrupavkových defektů u osteoporózy a artritidy (obrázek 7, 8).

### Denosumab – inhibitor RANKL

Teprve krátkou dobu máme možnost používat v léčbě osteoporózy nový preparát, který cíleně zasahuje do procesu kostní remodelace, a to ve smyslu útlumu resorpce kosti. Jeho použití je tedy neefektivnější v případě vystupňované resorpce kosti, která není následována adekvátně zvýšenou novotvorbou. Je to zejména případ postmenopauzální osteoporózy a případ mužů léčených androgen deprivační terapií pro nemetastázující karcinom prostaty, která u těchto mužů vyvolává prudký nárůst kostní resorpce, vedoucí k rychlé a výrazné ztrátě kostní hmoty, vedoucí k nárůstu rizika zlomenin. Nový preparát denosumab je plně humánní monoklonální IgG2 protilátka proti RANKLu. Tento lék je prvním reprezentantem biologického léku v oblasti léčby osteoporózy, neboť je to protilátka proti členu superrodiny TNF alfa ligandů a receptorů. Po navázání denosumabu na RANKL v metabolicky aktivních oblastech kostních povrchů dochází k inhibici diferenciaci a aktivaci osteoklastů, tedy k inhibici osteoresorpce, což má za následek snížení abnormálně zvýšené resorpce, snížení úbytku kostní hmoty a s ním spojeného nárůstu rizika nových zlomenin.

Účinek denosumabu byl prokázán v mnoha klinických studiích. Nejprve byl denosumab jednorázově aplikován 49 postmenopauzálním zdravým ženám. Toto podání vedlo k rychlému a hlubokému, na dávce závislému poklesu kostní resorpce. Tento efekt přetrvával téměř 6 měsíců. Pokles novotvorby nastal přibližně po měsíci od podání léku.

V další klinické studii byl denosumab podáván 412 postmenopauzálním ženám se sníženou hodnotou denzity kostního minerálu (T-skóre bederní páteře  $-1,8$  až  $-4,0$  SD, T-skóre total hip  $-1,8$  až  $-3,5$  SD). Tato studie byla randomizovaná, multicentrická, placebem kontrolovaná, s větví srovnání oproti aktivnímu komparátoru. Randomizace proběhla do několika dávkovacích režimů: jedenkrát za 3 měsíce byla podávána dávka 6 mg, 14 mg + mg; a 30 mg; jedenkrát za 6 měsíců byla podána dávka 14 mg, 60 mg, 100 mg, 210 mg. Aktivním komparátorem v jedné větvi byl alendronát podávaný jedenkrát týdně perorálně v dávce 70 mg. Po roce léčby došlo u žen léčených denosumabem k nárůstu hodnot BMD (denzita kostního minerálu, bone mineral density) v oblasti bederní páteře o 3,0–6,7 %, v oblasti proximálního femuru o 1,9–3,6 %. U žen v alendronátové větvi došlo k nárůstu hodnot BMD v oblasti bederní

páteře o 4,6 %, v oblasti proximálního femuru o 2,1 %. V placebové větvi došlo k poklesu hodnot BMD ve všech měřených lokalitách. Markery kostní resorpce klesly na minimum po 3 dnech od aplikace denosumabu a přetrvání tohoto účinku bylo na dávce závislé. I po extenzi této studie na 24 měsíců byly shledány obdobné výsledky. V dalším prodloužení této studie došlo k přerušení a znovuzavedení léčby denosumabem u stejně definované skupiny postmenopauzálních žen. Ženy, které byly v předchozím průběhu studie léčené denosumabem, v dvouleté extenzi dostaly subkutánně podány denosumab v dávce 60 mg jedenkrát za 6 měsíců, nebo jim byla léčba na 12 měsíců přerušena a následně na 12 měsíců znovuzavedena, nebo jim již léčba denosumabem nebyla podána. V nárůstu BMD profitovaly nejvíce ženy na kontinuální čtyřleté léčbě denosumabem, kdy nárůst BMD v oblasti bederní páteře byl 9,4–11,8 %, v oblasti proximálního femuru 4,0–6,1 %. U pacientek, u kterých byla léčba definitivně ukončena, došlo k poklesu hodnot BMD v oblasti bederní páteře o 6,6 %, v oblasti proximálního femuru o 5,3 %, a to již v průběhu prvních 12 měsíců od přerušení léčby. Znovuzahájení léčby pak vedlo k opětovnému nárůstu hodnot BMD oproti vstupním hodnotám. Markery kostní resorpce při přerušení léčby jeví tendenci k návratu k původním vstupním hodnotám, při opětovném zahájení léčby došlo opět k jejich supresi [103–107].

Hlavní zlomeninovou studii, která byla provedena s denosumabem, byla studie FREEDOM (Fracture REduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis every 6 Moths). Další studií byla studie STAND (Study of Transitioning from Alendronate to Denosumab). V průběhu obou těchto studií byly provedeny kostní biopsie z lopaty kosti kyčelní. Ve studii FREEDOM byly vzorky odebrány po dvou nebo třech letech trvání léčby, ve studii STAND po 12 měsících léčby. Histomorfometrickou analýzou odebraných vzorků byla prokázána zcela normální mikroarchitektura trabekulární i kortikální kosti u pacientek léčených denosumabem. Byl prokázán signifikantní pokles resorpce i formace kosti oproti placebové větvi i oproti skupině léčené alendronátem [108,109].

## Závěr

Vývoj humánní monoklonální protilátky proti RANKLu, denosumabu, představuje nový, vysoce účinný přístup v prevenci fragilních osteoporotických fraktur, skeletálních komplikací malignit a kostních erozí u revmatoidní artritidy. RANKL je kromě osteoblastů hojně produkován aktivovanými T buňkami a synoviocyty u RA, zatímco receptor RANK je také exprimován monocyty/makrofágy a dendritickými buňkami. V preklinických a klinických studiích s pacienty s RA, kteří mají určitý stupeň imunoprese, RANKL inhibitory nemají signifikantní vliv na zánětlivý proces. V klinických studiích byla četnost infekcí, zhubných onemocnění a úmrtí obdobná pro skupinu léčenou denosumabem a skupinu placebovou. Blokáda RANKL/RANK signalizace nevede k imunitní dysfunkci. Inhibice RANKLu nemá vliv na průběh zánětlivé reakce mediované T buňkami u RA.

## Literatura

1. Kanis JA, Burles N, Cooper C et al. European Guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2008; 19(4): 399–428.

2. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337–341.
3. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004;292:490–495.
4. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclasts differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:3540–3545.
5. Reid P, Holen I. Pathophysiological role of osteoprotegerin (OPG). *European Journal of Cell Biology* 2009;88:1–17.
6. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309–319.
7. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S et al. Isolation of novel cytosine from human fibroblasts that specifically inhibit osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:137–143.
8. Viereck V, Grundker C, Blaschke S et al. Raloxifene concurrently stimulates osteoprotegerin and inhibits interleukin 6 production by human trabecular osteoblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4206–4213.
9. Viereck V, Emons G, Lauck V et al. Bisphosphonates pamidronate and zoledronic acid stimulate osteoprotegerin production by primary human osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291:680–686.
10. Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL et al. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999;140:4382–4389.
11. Takayanagi H, Lizuka H, Juji T et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synovial cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:259–269.
12. Schett G, Middleton S, Bolon B et al. Additive bone protective effect of anabolic treatment when used in conjunction with RANKL and tumor necrosis factor inhibition in two rat arthritis models. *Arthritis Rheum* 2005;52:1604–1611.
13. Whyte MP. Paget's disease of bone and genetic disorders of RANKL/OPG/RANK/NF-kappaB signaling. *Ann NY Acad Sci* 2006;1068:143–164.
14. Mezquita-Raya P, de la Higuera M, Garcia DF et al. The contribution of serum osteoprotegerin to bone mass and vertebral fractures in postmenopausal women. *Osteoporosis Int* 2005;16:1368–1374.
15. Dobnig H, Hofbauer LC, Viereck V et al. Changes in the RANK ligand/osteoprotegerin system are correlated to changes in bone mineral density in bisphosphonate-treated osteoporotic patients. *Osteoporosis Int* 2006;17:693–703.
16. Messalli EM, Mainini G, Scaffa C et al. Raloxifene therapy interacts with serum osteoprotegerin in postmenopausal women. *Maturitas* 2007;56:38–44.
17. Martini G, Gennari L, Merlotti D et al. Serum OPG and RANKL levels before and after intravenous bisphosphonate treatment in Paget's disease of bone. *Bone* 2007; 40:457–463.
18. Feuerherm AJ, Borset M, Seidel C et al. Elevated levels of osteoprotegerin (OPG) and hepatocyte growth factor (HGF) in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2001;30:229–234.
19. Geusens PP, Landewe RB, Garnero P et al. The ratio of circulating osteoprotegerin to RANKL in early rheumatoid arthritis predicts later joint destruction. *Arthritis Rheum* 2006;54:1772–1777.
20. Leibbrandt A, Penninger JM. RANK/RANKL: Regulators of Immune Responses and Bone Physiology. *Ann NY Acad Sci* 2008;1143:123–150.
21. Anderson DM et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390:175–179.
22. Wong BR et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997;272: 25190–25194.
23. Lacey DL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165–176.
24. Yasuda H et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3597–3602.
25. Wong BR et al. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 1997;186:2075–2080.
26. Kartsogiannis V et al. Localization of RANKL (receptor activator of NF-kappaB ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskeletal tissues. *Bone* 1999;25: 525–534.
27. Fata JE et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000;103:41–50.
28. Loser K et al. Epidermal RANKL controls regulatory T-cell numbers via activation of dendritic cells. *Nat Med* 2006;12:1372–1379.
29. Schlondorff J, Lum L, Blobel CP. Biochemical and pharmacological criteria define two shedding activities for TRANCE/OPGL that are distinct from the tumor necrosis factor alpha convertase. *J Biol Chem* 2001;276:14665–14674.
30. Chesneau V et al. Catalytic properties of ADAM19. *J Biol Chem* 2003;278: 22331–22340.
31. Lynch CC et al. MMP-7 promotes prostate cancer-induced osteolysis via the solubilization of RANKL. *Can Cell* 2005;7:485–496.
32. Fata JE et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000;103:41–50.
33. Nakagawa N et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *BBRC* 1998;253:395–400.
34. Williamson E, Bilsborough JM, Viney JL. Regulation of mucosal dendritic cell function by receptor activator of NF-kappaB (RANK)/RANK ligand interactions: impact on tolerance induction. *J Immunol* 2002;169:3606–3612.
35. Gonzalez-Suarez E et al. RANK overexpression in transgenic mice with mouse mammary tumor virus promoter-controlled RANK increases proliferation and impairs alveolar differentiation in the mammary epithelia and disrupts lumen formation in cultured epithelial acini. *Mol Cell Biol* 2007;27:1442–1454.

36. Simonet WS et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309–319.
37. Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol* 2002;20:795–823.
38. Kong YY et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315–323.
39. Li J et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1566–1571.
40. Bucay N et al. 1998. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998;12:1260–1268.
41. Mizuno A et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;247:610–615.
42. Hughes AE et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat Genet* 2000;24:45–48.
43. Whyte MP et al. Expansile skeletal hyperphosphatasia: a new familial metabolic bone disease. *J Bone Miner Res* 2000;15:2330–2344.
44. Whyte MP, Hughes AE. Expansile skeletal hyperphosphatasia is caused by a 15-base pair tandem duplication in TNFRSF11A encoding RANK and is allelic to familial expansile osteolysis. *J Bone Miner Res* 2002;17:26–29.
45. Cundy T et al. A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet* 2002;11:2119–2127.
46. Chong B et al. Idiopathic hyperphosphatasia and TNFRSF11B mutations: relationships between phenotype and genotype. *J Bone Miner Res* 2003;18:2095–2104.
47. Darnay BG et al. Characterization of the intracellular domain of receptor activator of NF-kappaB (RANK). Interaction with tumor necrosis factor receptor-associated factors and activation of NF-kappaB and c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem* 1998;273:20551–20555.
48. Wong BR et al. The TRAF family of signal transducers mediates NF-kappaB activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem* 1998;273:28355–28359.
49. Wong BR, Josien R, Choi Y. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. *J Leukoc Biol* 1999;65:715–724.
50. Galibert L et al. The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factors in the signaling mechanisms of receptor activator of NF-kappaB, a member of the TNFR superfamily. *J Biol Chem* 1998;273:34120–34127.
51. Lee ZH et al. Activation of c-Jun N-terminal kinase and activator protein 1 by receptor activator of nuclear factor kappaB. *Mol Pharmacol* 2000;58:1536–1545.
52. Ruocco MG et al. I{kappa}B kinase (IKK){beta}, but not IKK{alpha}, is a critical mediator of osteoclast survival and is required for inflammation-induced bone loss. *J Exp Med* 2005;201:1677–1687.
53. David JP et al. JNK1 modulates osteoclastogenesis through both c-Jun phosphorylation-dependent and -independent mechanisms. *J Cell Sci* 2002;115:4317–4325.
54. Wagner EF. Functions of AP1 (Fos/Jun) in bone development. *Ann Rheum Dis* 2002;61(Suppl 2):ii40–ii42.
55. Yamamoto A et al. Possible involvement of IkappaB kinase 2 and MKK7 in osteoclastogenesis induced by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand. *J Bone Miner Res* 2002;17:612–621.
56. Kenner L et al. Mice lacking JunB are osteopenic due to cell-autonomous osteoblast and osteoclast defects. *J Cell Biol* 2004;164:613–623.
57. Takayanagi H et al. Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Dev Cell* 2002;3:889–901.
58. Takayanagi H. Osteoimmunology: Sharp mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immunol* 2007;7:292–304.
59. Mao D et al. PLCgamma2 regulates osteoclastogenesis via its interaction with ITAM proteins and GAB2. *J Clin Invest* 2006;116:2869–2879.
60. Takayanagi H et al. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature* 2000;408:600–605.
61. Takayanagi H et al. RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon-beta. *Nature* 2002;416:744–749.
62. Abu-Amer Y. IL-4 abrogates osteoclastogenesis through STAT6-dependent inhibition of NFkappaB. *J Clin Invest* 2001;107:1375–1385.
63. Koseki T et al. Role of TGF-beta family in osteoclastogenesis induced by RANKL. *Cell Signal* 2002;14:31–36.
64. Dougall WC et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999;13:2412–2424.
65. Kong YY et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315–323.
66. Li J et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:1566–1571.
67. Koni PA et al. Distinct roles in lymphoid organogenesis for lymphotoxins alpha and beta revealed in lymphotoxin beta-deficient mice. *Immunity* 1997;6:491–500.
68. Alimzhanov MB et al. Abnormal development of secondary lymphoid tissues in lymphotoxin beta-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:9302–9307.
69. Sobacchi C et al. Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutations in the gene encoding RANKL. *Nat Genet* 2007;39:960–962.
70. Fu YX, Chaplin DD. Development and maturation of secondary lymphoid tissues. *Annu Rev Immunol* 1999;17:399–433.
71. Mebius RE. Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol* 2003;3:292–303.
72. Kim D et al. Regulation of peripheral lymph node genesis by the tumor necrosis factor family member TRANCE. *J Exp Med* 2000;192:1467–1478.
73. Lacey DL et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165–176.
74. Yasuda H et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3597–3602.
75. Josien R et al. TRANCE, a tumor necrosis factor family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2000;191:495–502.
76. Bachmann MF et al. 1999. TRANCE, a tumor necrosis factor family member critical for CD40 ligand-independent T helper cell activation. *J Exp Med* 1999;189:1025–1031.
77. Fata JE et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000;103:41–50.
78. Hofbauer LC et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999;140:4367–4370.
79. Starr TK, Jameson SC, Hogquist KA. Positive and negative selection of T cells. *Annu Rev Immunol* 2003;21:139–176.
80. Kyewski B, Klein L. A central role for central tolerance. *Annu Rev Immunol* 2000;24:571–606.
81. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005;6:345–352.
82. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol* 2003;21:685–711.
83. Loser K et al. Epidermal RANKL controls regulatory T-cell numbers via activation of dendritic cells. *Nat Med* 2006;12:1372–1379.
84. Kong YY et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999;402:304–309.
85. Feldman M, Brennan FM, Maini RN. Rheumatoid arthritis. *Cell* 1996;85:307–310.
86. Panayi GS, Lanchbury JS, Kingsley GH. The importance of the T cell in initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1992;35:729–735.
87. Campagnuolo G, Bolon B, Feige U. Kinetics of bone protection by recombinant osteoprotegerin therapy in Lewis rats with adjuvant arthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:1926–1936.
88. Bolon B, Campagnuolo G, Feige U. Duration of bone protection by a single osteoprotegerin injection in rats with adjuvant-induced arthritis. *Cell Mol Life Sci* 2002;59:1569–1576.
89. Keffer J et al. Transgenic mice expressing human tumour necrosis factor: a predictive genetic model of arthritis. *EMBO J* 1991;10:4025–4031.
90. Mori H et al. RANK ligand, RANK, and OPG expression in type II collagen-induced arthritis mouse. *Histochem Cell Biol* 2002;117:283–292.
91. Redlich K et al. Tumor necrosis factor alphas mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis Rheum* 2002;46:785–792.
92. Romas E et al. Osteoprotegerin reduces osteoclast numbers and prevents bone erosion in collagen-induced arthritis. *Am J Pathol* 2002;161:1419–1427.
93. Nakashima T, Wada T, Penninger JM. RANKL and RANK as novel therapeutic targets for arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15:280–287.
94. Takayanagi H et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synovial cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000;43:259–269.
95. Oliveri MB et al. Vertebral compression fractures at the onset of acute lymphoblastic leukemia in a child. *Henry Ford Hosp Med J* 1991;39:45–48.
96. Stollon AJ et al. Bone loss in autoimmune chronic active hepatitis on maintenance corticosteroid therapy. *Gastroenterology* 1985;89:1078–1083.
97. Ebeling PR et al. Bone mineral density and bone turnover in asthmatics treated with long-term inhaled or oral glucocorticoids. *J Bone Miner Res* 1998;13:1283–1289.
98. Mahamed DA et al. G(-) anaerobes-reactive CD4+ T-cells trigger RANKL-mediated enhanced alveolar bone loss in diabetic NOD mice. *Diabetes* 2005;54:1477–1486.
99. Sato K et al. Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006;203:2673–2682.
100. Harrington LE et al. Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the Thelper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005;6:1123–1132.
101. Park H et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005;6:1133–1141.
102. Dong C. Diversification of T-helper-cell lineages: finding the family root of IL-17-producing cells. *Nat Rev Immunol* 2006;6:329–333.
103. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB et al. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006;354:821–831.
104. Miller PD, Bolognese MA, Lewiecki EM et al. Effect of Denosumab on bone density and turnover in postmenopausal women with low bone mass after long term continued, discontinued, and restarting of therapy: a randomized, blinded phase 2 clinical trial. *Bone* 2008;43:222–229.
105. Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK et al. Effect of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:2149–2157.
106. Brown JP, Prince RL, Deal C et al. Comparison of the effect of Denosumab and Alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res* 2009;24:153–161.
107. Lewiecki EM, Miller PD, McClung MR et al. AMG 162 Bone Loss Study Group. Two year treatment with Denosumab (AMG 162) in randomised phase 2 study of postmenopausal women with low BMD. *J Bone Miner Res* 2007;22:1832–1841.
108. Kendler DL, Roux C, Benhamou CL et al. Effect of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 2010;25:72–81.
109. Reid IR, Miller PD, Brown JP et al. Effect of Denosumab on bone histomorphometry: the FREEDOM and STAND studies. *J Bone Miner Res* 2010;25:2256–2265.

## Secondary prevention of osteoporosis among general practitioners

Š. BLAŽKOVÁ<sup>1</sup>, M. VYTRÍŠALOVÁ<sup>1</sup>, J. ŠTĚPÁN<sup>2</sup>, V. PALIČKA<sup>3</sup>, S. BÝMA<sup>4</sup>, T. HÁLA<sup>5</sup>, J. VLČEK<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Social and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Hradec Králové,

<sup>2</sup>Institute of Rheumatology, Prague and Department of Rheumatology of the First Faculty of Medicine, Charles University in Prague

<sup>3</sup>Osteocentre, Institute of Clinical Biochemistry and Diagnostics, Charles University in Prague, Faculty of Medicine and University Hospital in Hradec Králové

<sup>4</sup>Department of Social Medicine, Faculty of Medicine in Hradec Králové, Charles University in Prague,

<sup>5</sup>Osteoporosis Centre, Pardubice Regional Hospital and Centre for Clinical and Basic Research, CCBR Czech, Pardubice

### SOUHRN

Blažková Š., Vytříšalová M., Štěpán J., Palička V., Býma S., Hála T., Vlček J.: **Sekundární prevence osteoporózy mezi praktickými lékaři**  
**Cíle:** Praktičtí lékaři mají klíčovou roli v prevenci a léčbě osteoporózy (OP). Cílem této studie bylo zhodnotit jejich aktivity v sekundární prevenci OP.

**Metodika:** Analyzovali jsme dotazníkový průzkum realizovaný na vzorku náhodně vybraných praktických lékařů (PL) v České republice. Hodnotili jsme demografická data, vnímání důležitosti úlohy PL v boji proti OP, hodnocení rizika a management OP a jejich bariéry.

**Výsledky:** Návratnost dotazníků byla 38% (n = 525), průměrný věk respondenta byl 52 let. Frakturu jako důsledek osteoporózy zvažuje 91 % respondentů, ale více než polovina z nich pouze občas nebo výjimečně. Osteologickou etiologii zvažovali častěji kvůli věku pacienta a nepřiměřeně malému úrazu, který zlomeninu způsobil. Rizikové faktory OP (jiné než věk) uvádělo 70 % respondentů. Nejčastější aktivitou PL následující po fraktuře je odeslání pacienta ke specialistovi (82 %), doporučení úpravy životního stylu (64 %) a předepsání přípravků s vápníkem/vitamínem D (61 %). Méně než polovina PL uvedla snahu zajistit prevenci pádů.

**Závěr:** Praktičtí lékaři se účastní sekundární prevence osteoporózy, ale mohli by být více zainteresováni a mohli by mít větší povědomí o prevenci OP. Je důležité je motivovat, aby se stali aktivnějšími v managementu osteoporotických fraktur.

*Klíčová slova: praktický lékař, sekundární prevence, osteoporóza, zlomenina*

### SUMMARY

Blažková Š., Vytříšalová M., Štěpán J., Palička V., Býma S., Hála T., Vlček J.: **Secondary prevention of osteoporosis among general practitioners**

**Objectives:** General practitioners (GPs) should play an integral role in the prevention and treatment of osteoporosis (OP). The objective of this study was to evaluate their activities in the secondary prevention of OP.

**Methods:** We analyzed a postal questionnaire survey among a randomly selected sample of GPs practicing in the Czech Republic. Information on demographic data, attitude to the GP's role in the fight against OP, OP risk assessment and management and their barriers were analyzed.

**Results:** The questionnaire return rate was 38 % (n = 525) and the respondents' mean age was 52 years. Fracture as a consequence of OP was considered by 91% of respondents, but by more than half of them only sometimes or exceptionally. Osteoporotic etiology was most often suspected because of the patient's age and of the fact that the fracture was caused by a relatively low impact. Risk factors (other than age) were reported by about 70 % of respondents. The most frequent GP post-fracture activity was referral to a specialist (82 %), recommendation for lifestyle adjustments (64 %) and prescription of calcium /vitamin D supplements (61 %). Less than half of GPs stated instruction on fall prevention.

**Conclusions:** GPs take part in the secondary prevention of OP, but they could be more deeply interested in and have greater awareness of the prevention of OP. It is important to motivate GPs to become more active in the management of OP fractures.

*Keywords: general practitioner, secondary prevention, osteoporosis, fracture*

*Osteologický bulletin 2012;17(1):32–35*

**Adresa:** Mgr. Šárka Blažková, Department of Social and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Charles University in Prague, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, Czech Republic, e-mail: blazkova@faf.cuni.cz

Došlo do redakce: 21. 11. 2011

Přijato k tisku: 10. 4. 2012

## Introduction

Osteoporosis (OP) is an important health, economic and social concern for an ever increasing proportion of the elderly population. Fragility fracture is a major risk factor for the future event: following the first vertebral fracture, patients have a four to five times increased risk of experiencing subsequent fracture within the next year [1]. In the light of this fact, the national OP guidelines (including the Czech ones) recommend specific treatment not only in women with OP values of BMD but also in those with a history of OP fracture [2]. A history of fracture is also one of the input variables for the FRAX tool that predicts the ten-year risk of fracture after entering a patient's clinical risk factors and femoral neck BMD if available [3,4].

Effective therapeutic options that reduce by about half the risk of fracture are currently available in routine clinical practice [5]. However, at eight months after fragility fracture, adequate treatment is provided to as few as 16 % of women [6] and 10 % of men [7] in Canada, 20 % of women [8] in the USA and 18 % [9] to one third of women [10] in Australia.

The objective of this study was to evaluate the activities of general practitioners (GPs) in the secondary prevention of OP.

## Methods

We analysed data from a two-round postal questionnaire survey. The addressed GPs were a randomly selected sample of GPs practicing in the Czech Republic. A four-page questionnaire (including a cover letter) with multiple choice questions was distributed in 2007. The questionnaire collected information on demographic data, attitude to the GP's role in the fight against OP, OP risk assessment and management and its barriers, knowledge of OP and sources of information. The method has been described in detail elsewhere [11].

Knowledge of OP was assessed using 21 items (mostly with two response alternatives) that covered general information and essential risk factors, epidemiology, prevention and consequences. Each correct response scored one point. The total osteoporosis knowledge score was used as a continuous variable in statistical analysis.

### Statistical analysis

The results are given as valid percentages of the number of respondents (N) who answered the given question. To investigate the associations between variables, Kendall correlations for two continuous (ordinal) variables and Mann-Whitney test for dichotomous and continuous (ordinal) variables were used.  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

## Results

As has been published in more detail, the questionnaire return rate was 38 % (525 respondents, mean age 52 years, 61.5 % of women). The demographic data are listed in Table I. Only 7 % of respondents rate the GP's role in the fight against OP as small, the remaining part rate the GP's role as either medium (56 %) or essential (38 %). The mean knowledge score was  $12.2 \pm 3.3$  of 21 possible points [11].

When facing a patient with fracture, OP as a cause is considered by 91 % of respondents: 9 % of them always consider OP as a cause of fracture, 31 % do so often, 55 % sometimes and 5 % exceptionally. The cause of OP is considered more often by the GPs who rate their role in the fight against OP higher ( $p = 0.009$ ).

The reasons for suspecting OP fracture are listed in Table II. OP fracture is suspected because of a relatively low impact that caused the fracture, patient's age and risk factors more often by the GPs with a higher knowledge score ( $p < 0.001$  for each reason).

The steps taken by the respondents when facing a patient with fracture as a consequence of OP are reviewed in Table III. If the GP refers the patient to a specialist (82 % of GPs do so), most referrals are to an osteologist or orthopedist, followed by rheumatologist, internist or another specialist. Proactive management (fall prevention, prescription of calcium/vitamin D supplements, lifestyle changes and referral to a specialist) is most frequently reported by the GPs with a higher knowledge score ( $p < 0.001$  for each activity). Fall prevention is most often recommended by male ( $p = 0.004$ ) and younger GPs ( $p = 0.008$ ).

## Discussion

This analysis of activities within the secondary prevention of OP is part of a comprehensive questionnaire survey "Barriers to management of osteoporosis-related fractures among general practitioners". Some results have already been published [11]. It is the first attempt to map the attitudes of GPs towards the prevention, diagnosis and treatment of osteoporosis in the Czech Republic. Questionnaire survey is the only way, how to assess this topic.

Table I  
Characteristics of the study population

<b>age</b>	N = 495
mean (range)	52 (30–83)
< 50 years (%)	33
50–60 years (%)	46
> 60 years (%)	21
<b>Length of professional experience</b>	N = 477
mean (range)	25 (1–53)
<b>gender</b>	N = 501
male (%)	38.5
female (%)	61.5
<b>Community size</b>	N = 499
< 2000 population (%)	16
2000–10 000 population (%)	31
10 000–100 000 population (%)	33
> 100 000 population (%)	20

Possible selection bias (the higher participation of GPs who are better acquainted with the studied area) is an expected limitation to our study. As has been described in detail elsewhere [11], the bias should not be too great. Some respondents could overrate their own activities.

OP as a cause of fracture is considered by most respondents, most frequently due to striking characteristics. Pro-

active post-fracture care is reported more often by GPs with a higher awareness of OP. Mean score of 12 of possible 21 points in the knowledge assessment should be considered as alerting in this context.

When facing a patient with fracture, OP as a cause is considered by most respondents (91 %), but more than half of them consider OP as a cause of fracture only sometimes. One of the possible reasons might be a lack of ownership of the responsibility for treating OP [12].

In the Czech Republic, the GPs readily prescribe calcium/vitamin D supplements. As antiresorptive (and osteoanabolic) drugs can only be prescribed by selected outpatient specialists, close collaboration between the GPs and these specialists is needed for the management of OP. Expectedly, OP as a cause of fracture is more frequently considered by the GPs who rate higher their role in the fight against OP. The most frequent reasons for suspecting an OP-related fracture (> 80 % of respondents) are the patient's age and a relatively low trauma that has caused the fracture, i.e. striking characteristics. Risk factors requiring a deeper analysis are reported by about 70 % of respondents.

In the assessment of the knowledge of OP, including the risk factors, the respondents obtained a mean score of 12 of possible 21 points. Improvement could be achieved by using simple tools such as FRAX for fracture risk assessment. Expectedly again, OP as a cause of fracture is suspected because of risk factors, a relatively low trauma and the patient's age most often by the GPs with a higher knowledge score.

According to the Czech OP guidelines [2], any patient after fracture should receive specific therapy which is covered, at least in part, by the health insurance company, when prescribed by a specialist. Nevertheless, referral to a specialist after OP-related fracture was only reported by 82 % of GPs in our survey.

More than 60 % of respondents recommend lifestyle changes and prescribe calcium/vitamin D supplements. In a similar survey conducted in Israel, 75 % of GPs recommended to patients after fracture that they should quit smoking, 57 % of GPs instructed them to increase physical activity, 39 % of GPs prescribed vitamin D and 51 % 1-alpha D3 [13]. In Australia, 24 % of patients after fracture reported to have been instructed to increase calcium intake and 33 % of patients were told to increase physical activity. Since the Australian survey addressed the patients, it is not clear whether these recommendations were actually given by the GPs [9]. Less than half of GPs report to provide instruction on fall prevention to patients after OP-related fracture; nevertheless, fall is often a cause of fracture and fall prevention should be an integral part of post-fracture care.

Expectedly again, proactive post-fracture care (fall prevention, prescription of calcium/vitamin D supplements, recommendation of lifestyle changes, referral to a specialist) is reported more often by the GPs with a higher awareness of OP (higher knowledge score, higher self-rating of the role in the fight against OP). Surprisingly, the instruction on fall prevention is more often provided by the male and younger GPs. A possible explanation is that these GPs more readily participate in various physical activities and thus are more aware of the risk of accidents including falls.

Table II

Question: On what grounds do you suspect osteoporosis as a cause of fracture? (multiple choice, please underline the most relevant option, if any): N = 525

	Yes (most relevant option), %
The suspicion/diagnosis has been reported by the specialist	36.8 (0.8)
The fracture was caused by a relatively low impact	83.5 (7.5)
Patient's age	83.9 (3.6)
Osteoporosis risk factors (other than age)	68.6 (4.0)
Fracture location	50.8 (1.3)
Other	5.4 (0)

Table III

Question: What steps do you take when facing a patient with a fracture as a consequence of osteoporosis? (multiple choice, please underline the most relevant option, if any): N = 525

	Yes (most relevant option), %
I provide instruction on fall prevention.	39.4 (0.4)
I prescribe calcium/vitamin D supplements.	61.3 (2.5)
I recommend lifestyle changes (appropriate diet, physical activity).	63.7 (2.5)
I refer the patient to a specialist, if not yet under follow up.	81.8 (4.0)
I take other steps.	2.7 (0)
The patient presents after full recovery and there is no need for intervention.	1.7 (0)
The patient is not likely to present for a post-fracture check-up and thus there is no opportunity for intervention.	2.1 (0)

As has been shown, the extent of the knowledge of OP has a significant impact on the post-fracture management. The knowledge has a positive effect on the GP's initiative. Education of GPs to raise their awareness of the issue is therefore essential, particularly in the light of the fact that a 57 % score was only obtained for the knowledge of OP. Nevertheless, a lack of knowledge is only one of the barriers to OP management in primary care and is not considered as the most important by the GPs [11].

### Conclusion

General practitioners participate in the secondary prevention of osteoporosis. Their role could be emphasized because they are the first contact for patients. It could be achieved by closer cooperation between GPs and specialists, continuing education, implementation of simple fracture risk assessment tools into clinical practice (i.e. FRAX) and increasing ownership of the responsibility for treating OP by allowing prescribing specific treatment.

### Acknowledgements

*The project was fully supported by The Charles University Grant Agency (grant GAUK 103107/2007/C/FaF) and SVV 265005.*

*We acknowledge all GPs, who responded our questionnaire. There was no conflict of interest.*

### References

1. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA 3rd, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res* 2000;15:721–739.
2. Bayer M, Jeníček S, Kučerová I, Palička V, Kutlík Š, Rosa J. Doporučené postupy pro diagnostiku a léčbu osteoporózy II. Část první. *Osteol bull* 2007;1:27–33.
3. FRAX: WHO Fracture Risk Assessment Tool; <http://www.shef.ac.uk/FRAX/> last access 10/Jan/2010.
4. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008; 19:385–397.
5. Delmas PD. Treatment of postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 2002;359: 2018–2026.
6. Bessette L, Jean S, Davison KS, Roy S, Ste-Marie L-G, Brown JP. Factors influencing the treatment of osteoporosis following fragility fracture. *Osteoporos Int* 2009;20:1911–1919.
7. Papaioannou A, Kennedy CC, Ioannidis G, Gao Y, Sawka AM, Goltzman D, Tenenhouse A, Pickard L, Olszynski WP, Davison KS, Kaiser S, Josse RG, Kreiger N, Hanley DA, Prior JC, Brown JP, Anastassiades T, Adachi JD; CaMos Research Group. The Osteoporosis care gap in men with fragility fractures: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Osteoporos Int* 2008;19:581–587.
8. Teng GG, Warriner A, Curtis JR, Saag K. Improving Quality of care in Osteoporosis: Opportunity and Challenges. *Curr Rheumatol Rep* 2008;10:123–130.
9. Bliuc D, Ong CR, Eisman JA, Center JR. Barriers to effective management of osteoporosis in moderate and minimal trauma fractures: a prospective study. *Osteoporos Int* 2005;16:977–982.
10. Eisman J, Clapham S, Kehoe L. Osteoporosis Prevalence and Levels of Treatment in Primary Care: The Australian Bone Care Study. *J Bone Miner Res* 2004;19: 1969–1975.
11. Blažková S, Vytřísalová M, Palička V, Štěpán J, Býma S, Kubena AA, Hála T, Vlček J. Osteoporosis risk assessment and management in primary care – focus on quantity and quality. *J Eval Clin Pract* 2010;16(6):1176–1182.
12. Levinson MR, Clay FJ. Barriers to the implementation of evidence in osteoporosis treatment in hip fracture. *Intern Med J* 2009;39(3):199–202.
13. Werner P, Vered I. Management of osteoporosis: a survey of Israeli physicians' knowledge and attitudes. *Isr Med Assoc J* 2000;2:361–364.

## Ze světové literatury

**Regul Pept. 2011 Oct 10;170(1–3):52–56**

**Nasal administration of a novel recombinant human parathyroid hormone (1–34) analog for the treatment of osteoporosis of ovariectomized rats.**

**Shi X, Wang C, Zhuang Z, Lu J, Liu J, Wu J, Cao R, Li T.**

O syntetickém lidském parathormonu (hPTH 1–34) je známo, že z hlediska léčby osteoporózy má plnou biologickou účinnost kompletní molekuly PTH. Autoři se ve studii zabývali návrhem nového analogu hPTH 1–34, který by byl vhodný k intranazální aplikaci. Současně hodnotili účinnost takových nosních kapek proti osteoporóze. Složitým technickým postupem byla získána účinná látka Pro-Pro-[Arg(11)] hPTH (1–34)-Pro-Pro. Připravené nosní kapky pak dostávaly ovariectomované samice laboratorních potkanů. Kontrolní skupina dostávala nosní kapky se solným roztokem. Po dvanácti týdnech terapie dosáhla denzita kostního minerálu obratlů (vyšetřeno metodou DXA) u aktivně léčené skupiny o 28,0–47,2 % ( $p < 0,01$ ) vyšších hodnot než ve skupině léčené placebem. Autoři dále vyšetřili subchondrální vzorky kostní hmoty z hlavic femurů pokusných zvířat pomocí elektronové mikroskopie a s pomocí fotografií definovaného profilu tkáně vypočítali procento plochy trámčité kosti. Nálezy byly významně vyšší u skupiny léčené peptidem ( $p < 0,001$ ) a dosahovaly hodnot zdravých zvířat. Uvedená zjištění prokazují účinnost nosních kapek s obsahem Pro-Pro-[Arg(11)] hPTH (1–34)-Pro-Pro na osteoporotickou kostní tkáň.

**J Bone Miner Res. 2011 Aug;26(8):1774–1782**

**WHO absolute fracture risk models (FRAX): Do clinical risk factors improve fracture prediction in older women without osteoporosis?**

**Hillier TA, Cauley JA, Rizzo JH, Pedula KL, Ensrud KE, Bauer DC, Lui LY, Vesco KK, Black DM, Donaldson MG, Leblanc ES, Cummings SR.**

Ačkoli denzita kostního minerálu (BMD) je významným předpovědním faktorem zlomeniny, nejvíce fraktur utrpí ženy, které denzitometrická kritéria osteoporózy nespĺňují. Aby se možnost předpovědi rizika zlomeniny zlepšila, byl ve spolupráci s WHO vytvořen místně specifický index rizika pomocí klinických rizikových faktorů (FRAX), který určuje desetiletou pravděpodobnost fraktury proximálního femuru a hlavních osteoporotických zlomenin. Kromě odlišení základních kategorií podle BMD autoři v projektu Study of Osteoporotic Fractures zhodnotili pomocí FRAX desetiletou pravděpodobnost fraktury proximálního femuru a hlavních osteoporotických zlomenin (tj. oblasti kyčle, klinicky manifestní fraktury obratle, předloktí a humeru) u 6 252 žen ve věku nejméně 65 let a výsledky porovnali s incidencí zlomenin během deseti let sledování. Celková schopnost FRAX předpovědět riziko fraktury na základě počáteční hodnoty T-skóre (kategorie normální, snížená kostní hmota a osteoporóza) byla hodnocena pomocí ROC (receiver-operating-characteristic) analýz užívajících plochu pod křivkou (AUC, area under curve). Během deseti let

sledování utrpělo 368 žen zlomeninu proximálního femuru a 1 011 některou z hlavních osteoporotických fraktur. Většina žen sledovaného souboru měla nízkou kostní hmotu ( $n = 3 791$ , 61 %) a u nich došlo k nejvíce případům zlomenin (proximální femur  $n = 176$ , 48 %; hlavní osteoporotické fraktury  $n = 569$ , 56 %). U žen s normální nebo nízkou kostní hmotou byla metoda FRAX (včetně BMD) celkově lepším prediktorem fraktury proximálního femuru (AUC = 0,78 a 0,70) než hlavních osteoporotických zlomenin (AUC = 0,64 a 0,62). Jednodušší modely, zahrnující věk a předchozí frakturu, měly podobné AUC s FRAX, včetně žen, u nichž bylo dbáno na primární prevenci (bez předchozí zlomeniny nebo osteoporózy prokázané denzitometrií). FRAX a jednodušší modely jsou tedy schopny předpovědět desetileté riziko fraktur proximálního femuru a hlavních osteoporotických zlomenin u starších žen s normální či sníženou kostní hmotou.

**J Bone Miner Res. 2011 Aug;26(8):1822–1828**

**Mild hyponatremia as a risk factor for fractures: The rotterdam study.**

**Hoorn EJ, Rivadeneira F, van Meurs JB, Ziere G, Stricker BH, Hofman A, Pols HA, Zietse R, Uitterlinden AG, Zillikens MC.**

Nedávné studie ukazují, že hyponatrémie má zřejmě vztah ke zlomeninám, ale prospektivní studie na toto téma chybějí. Autoři zkoumali, zda hyponatrémie souvisí s frakturami, pády a/nebo s denzitou kostního minerálu (BMD). Využili k tomu 5 208 seniorů z prospektivní, populační Rotterdamské studie, u nichž byla na počátku vyšetřena natriémie. Analyzovali následující hodnoty: BMD, zlomeniny obratlů (průměrná doba sledování byla 6,4 let), nevertebrální fraktury (7,4 let), počty pádů, komorbiditu, současnou medikaci a mortalitu. Hyponatrémie byla zjištěna u 399 jedinců (7,7 %;  $133,4 \pm 2,0$  mmol/l). Subjekty s hyponatrémií byly starší ( $73,5 \pm 10,3$  let versus  $70,0 \pm 9,0$  let,  $p < 0,001$ ), měli v nedávné minulosti více pádů (23,8 % versus 16,4 %,  $p < 0,01$ ), měli vyšší prevalenci diabetu 2. typu (22,2 % versus 10,3 %,  $p < 0,001$ ) a častěji užívali diuretika (31,1 % versus 15,0 %,  $p < 0,001$ ). Hyponatrémie neměla vztah k nižší hodnotě BMD, ale byla po korekci na věk, pohlaví a body mass index spojena s vyšším rizikem nevertebrálních zlomenin [míra rizika (HR) = 1,3; 95% interval spolehlivosti (CI) 1,11–1,73,  $p = 0,004$ ]. Další přizpůsobení podle indexu invalidity, užívání diuretik či psycholeptik, nedávných pádů nebo přítomnosti diabetu už na výsledky vliv nemělo. Při plné korekci měli jedinci s hyponatrémií také zvýšené riziko výskytu fraktur obratlů na začátku studie [odds ratio (OR) = 1,78; 95% CI 1,04–3,06,  $p = 0,037$ ], ale ne při dalším sledování. Při hyponatrémii také stoupala mortalita jako taková (HR = 1,21; 95% CI 1,03–1,43;  $p = 0,022$ ). Lze tedy uzavřít, že mírná hyponatrémie je u seniorů spojena se zvýšeným rizikem vertebrálních i nevertebrálních zlomenin, ale nikoli s hodnotou BMD. Zvýšené riziko fraktury při hyponatrémii také nezávisí na předchozích pádech, což vede

k domněnce o možném vlivu této odchylky na kvalitu kostní hmoty.

**J Clin Endocrinol Metab. 2011 Oct;96(10):3095–3105**  
**Abnormal Bone Microarchitecture and Evidence of Osteoblast Dysfunction in Premenopausal Women with Idiopathic Osteoporosis.**

**Cohen A, Dempster DW, Recker RR, Stein EM, Lappe JM, Zhou H, Wirth AJ, van Lenthe GH, Kohler T, Zwahlen A, Müller R, Rosen CJ, Cremers S, Nickolas TL, McMahon DJ, Rogers H, Staron RB, Lemaster J, Shane E.**

Idiopatická osteoporóza (IOP) představuje u premenopauzálních žen málo častou chorobu s nejasnou patogenezi, při níž se fraktury s nepřiměřeným mechanismem objevují u jinak zdravých žen s normální funkcí gonád. Není jasné, jestli ženy s idiopatickou nízkou densitou kostního minerálu, které neutrpěly žádnou zlomeninou, mají vůbec osteoporózu. Cílem této studie bylo ozřejmit, čím se liší mikroarchitektura a remodelace u premenopauzálních žen s IOP. Autoři u 104 žen provedli transiliakální kostní biopsii po značení tetracyklínem. 45 účastnic mělo v anamnéze osteoporotickou frakturu (IOP), u 19 byla pouze snížená densita kostního minerálu (Z-skóre  $\leq -2,0$ ) a 40 žen sloužilo jako kontrolní skupina. Biopsie byly vyhodnoceny pomocí dvojrozměrné kvantitativní histomorfometrie a trojrozměrné mikropočítačové tomografie.

Výsledky: Ženy s patologií měly zeslabenou kortikalis; menší počet kostních trámečků, které byly slabší, více odělené a nerovnoměrně rozložené. Šíře osteoidu byla snížena. Ve sledovaných parametrech nejsou mezi ženami s IOP a idiopatickou nízkou densitou kostního minerálu žádné rozdíly. Ačkoli v dynamických histomorfometrických ukazatelích remodelace, plazmatické koncentraci kalcitropních hormonů, markerech kostního obratu či hodnotách IGF-I nebyly ve skupinách významné odlišnosti, jedinci v nejnižším tercilu míry kostní formace měli významně méně osteoidu, závažněji narušenou mikroarchitekturu, menší pevnost kosti a vyšší sérovou koncentraci IGF-I než ženy v horních dvou tercilech. Z toho lze usuzovat, že ženy s nízkou obratovou IOP mají dysfunkci osteoblastů s rezistencí vůči IGF-I. Ženy s vysokým kostním obratem měly významně vyšší plazmatickou koncentraci kalcitriolu a nevýznamný trend k vyšším sérovým hladinám parathormonu a odpadu kalcia do moči.

Závěry: Výsledky naznačují, že diagnóza IOP nemusí být podmíněná frakturou v anamnéze. Ženy s IOP mají vysoký, normální nebo nízký kostní obrat. Při nízkém kostním obratu jsou poruchy mikroarchitektury a pevnosti kosti nejvíce zřetelné. Patogeneze idiopatické osteoporózy je zřejmě různorodá a může se lišit v závislosti na remodelační aktivitě.

**Osteoporos Int. 2011 Sep;22(9):2421–2437**

**Lifestyle factors, medications, and disease influence bone mineral density in older men: findings from the CHAMP study.**

**Bleicher K, Cumming RG, Naganathan V, Seibel MJ, Sambrook PN, Blyth FM, Le Couteur DG, Handelsman DJ, Creasey HM, Waite LM.**

Samotné stárnutí není u mužů-seniorů jediným faktorem, jenž ohrožuje jejich skelet. Existuje řada vlivů, které na stav kostní hmoty působí a mohou vést k vyšší densitě kostního

minerálu (BMD) a menšímu riziku zlomeniny i u velmi starých mužů. Cílem této průřezové studie bylo nalézt faktory ovlivňující plošnou BMD a míru jejich významu u starších mužů. Potřebné údaje autoři získali z populační studie Concord Health and Ageing in Men Project, která proběhla v Sydney. Zúčastnilo se jí 1 705 mužů ve věku 70–97 let. BMD v oblasti páteře a kyčle byla měřena pomocí dvouenergií rtg absorpciometrie.

Výsledky: V modelu mnohočetné regresní analýzy souvisela BMD proximálního femuru s tělesnou hmotností a fyzickou zátěží, ale nezávisle na věku. Nicméně pozitivní vztah mezi vyšší BMD a rekreační sportovní aktivitou se stoupajícím věkem slábne. Mezi faktory nezávisle spojené s nižší BMD v oblasti kyčle patří neschopnost vstát bez pomoci ze sedu, nefrolitiáza v anamnéze, léčba thyroxinem a asijský původ. U BMD bederní páteře to byla chronická obstrukční plicní nemoc, fraktura v anamnéze rodičů a léčba thyroxinem. Vyšší tělesná hmotnost, tělesná aktivita (tanec, tenis, jogging), síla kvadricepsu, požívání alkoholu a užívání statinů mělo vztah k vyšší BMD proximálního femuru, zatímco vyšší věk, osteoartrtida, vyšší tělesná hmotnost a užívání aspirinu bylo zaznamenáno u vyšších hodnot BMD v bederní páteři.

Závěry: Udržení tělesné hmotnosti, fyzické aktivity a síly má jednoznačně pozitivní vliv na BMD i u přestárlých mužů. Řada ostatních parametrů také BMD ovlivňuje, a pokud jsou zavzaty do mnohočetné regresní analýzy, závislost BMD na věku mizí. To znamená, že způsob životního stylu, průběh chorob s vyšším věkem spojených a užívání různých medikamentů může BMD ovlivnit spíše než věk jako takový.

**Osteoporos Int. 2011 Sep;22(9):2557–2560**

**Skeletal fluorosis due to excessive tea and toothpaste consumption.**

**Joshi S, Hlaing T, Whitford GM, Compston JE.**

Článek popisuje kazuistiku 53leté ženy, jež byla vyšetřována pro frakturu metatarsu. Byla odeslána na kostní densitometrii, která přinesla nečekané výsledky. Densita kostního minerálu (BMD) vyjádřená jako T-skóre dosáhla v bederní páteři hodnoty +11 a v oblasti kyčle hodnoty +7,6. Následné laboratorní vyšetření odhalilo velmi vysoké koncentrace fluoridů v séru, moči i tkáních. Příčinou byl excesivní příjem čaje a konzumace zubní pasty. Tento případ zdůrazňuje nutnost vyloučení fluorózy u jedinců s překvapivým nálezem vysoké BMD.

**J Bone Miner Res. 2011 Sep;26(9):2261–2270.**

**A single infusion of zoledronic acid produces sustained remissions in Paget's disease – data to 6.5 years.**

**Reid IR, Lyles K, Su G, Brown J, Walsh J, Del Pino-Montes J, Miller P, Fraser W, Cafoncelli S, Bucci-Rechtweg C, Hosking D.**

Dosavadní proběhlé dvě studie ukázaly, že jednorázová infuze 5 mg zoledronátu vede u nemocných s Pagetovou chorobou k výraznější reakci organismu než při terapii risedronátem. Není ovšem známo, jak dlouho účinek tohoto jednorázového podání přetrvává. Autoři tedy v otevřené studii sledovali účastníky uvedených dvou studií (152 pacientů po podání zoledronátu, 115 léčených risedronátem), a to po dobu až 6,5 roku bez jakékoli další intervence. Výstupem

bylo zjištění doby, po níž došlo k relapsu (návrat plazmatické aktivity alkalické fosfatázy /ALP/ k hodnotám rozdílným o méně než 20 % oproti aktivitě před terapií) nebo ke ztrátě odpovědi organismu (odpověď = normalizace ALP nebo snížení jejích maximálních hodnot alespoň o 75 %). Ve skupině léčené zoledronátem dosahovaly během sledování ukazatele kostního obratu nižších hodnot a průměrná aktivita ALP zůstávala v referenčním rozmezí. Ve skupině s rise-dronátem stoupala ALP nad normu již po roce. K relapsu došlo častěji na risedronátu (23/115; 20 %) než po podání zoledronátu (1/152; 0,7 %;  $p < 0,001$ ). Ztráta odpovědi byla ve skupině se zoledronátem zaznamenána v 19 případech (12,5 %), kdežto při risedronátu u 71 nemocných (62 %) –  $p < 0,0001$ . Míra rizika relapsu a ztráty odpovědi dosáhla po podání zoledronátu 0,02 (95% interval spolehlivosti 0,00–0,18) a 0,12 (95% interval spolehlivosti 0,07–0,19). Změny v kvalitě života nemocných, vyjádřené pomocí skórovacího systému SF-36, byly ve skupině po zoledronátu pozitivnější během celého sledování ( $p = 0,01$ ). Prediktivní hodnotu k trvání odpovědi organismu měly markery kostního obratu vyšetřené po šesti měsících.

**Závěr:** Současné pozorování zaznamenalo u Pagetovy choroby po jednorázovém podání zoledronátu dosud nepopsané dlouhodobé přetrvávání remise, provázené zlepšením kvality života.

#### **J Bone Miner Res. 2011 Sep;26(9):2287–2297**

##### **A 7-day continuous infusion of PTH or PTHrP suppresses bone formation and uncouples bone turnover.**

**Horwitz MJ, Tedesco MB, Sereika SM, Prebehala L, Gundberg CM, Hollis BW, Bisello A, Garcia-Ocaña A, Carneiro RM, Stewart AF.**

Dosud nikdo nezkusil u lidského organismu modelovat stav primární hyperparatyreózy (HPT), humorální onkogení hyperkalcémie (HOH) nebo stav mobilizace kostní hmoty při laktaci po dobu delší než 48 hodin. Autoři proto využili zdravé dospělé dobrovolníky ke studii, při níž jim po sedm dní podávali kontinuální infuzi lidského parathormonu 1–34 (hPTH 1–34) a lidského parathormonu podobného proteinu 1–36 (hPTHrP 1–36). U sledovaných došlo k mírnému setrvalému vzestupu kalcémie a výraznému potlačení endogenní sekrece PTH. Maximální tolerované infundované dávky během sedmi dnů (2 a 4 pmol/kg/hod pro PTH a PTHrP, v daném pořadí) byly výrazně nižší než použité v předchozích krátkodobých studiích na lidech (8–28 pmol/kg/hod). Na rozdíl od předchozích pozorování po užití vyšších dávek nyní nedošlo k výkyvům kalcitriolu ani hodnoty tubulárního maxima pro fosfáty (TmP/GFR), přestože se objevila hyperkalcémie a hyperkalciurie. Intenzita kostní resorpce se podle očekávání rychle zvýšila a po přerušení infuze se záhy navrátila k původnímu stavu. Nicméně, zcela odlišně od HPT, byla po sedm dní infuzí potlačena formace kosti na 30–40 %. S přerušením infuzí PTH či PTHrP markery kostní formace opět prudce nastoupaly, což potvrdilo, že během kontinuálního podávání PTH či PTHrP je formace kosti utlumena. Studie ukazují, že kontinuální působení PTH a PTHrP na lidskou kostní tkáň in vivo vede k aktivaci dějů kostní resorpce, ale dozrávání osteoblastů je pozastaveno. Taková situace nejlépe imituje děje při HOH. Ačkoli to není zcela přesný model, počáteční vzestup resorpce kosti a opětně stoupající kostní formace po

ukončení infuzí připomíná též mobilizaci skeletálního kalcia v mateřském organismu a jeho opětně ukládání po ukončení laktace. Pozorování osvětlují podobnosti a rozdíly mezi modelovým stavem a vlastní HPT.

#### **Bone. 2011 Oct;49(4):605–612**

##### **A new active vitamin D(3) analog, eldecalcitol, prevents the risk of osteoporotic fractures – A randomized, active comparator, double-blind study.**

**Matsumoto T, Ito M, Hayashi Y, Hirota T, Tanigawara Y, Sone T, Fukunaga M, Shiraki M, Nakamura T.**

Eldecalcitol je analog 1,25-dihydroxyvitaminu D<sub>3</sub>, který zlepšuje denzitu kostního minerálu, neznáme však jeho vliv na riziko zlomeniny. Cílem této studie proto bylo zjistit, zda eldecalcitol v účinku na prevenci osteoporotických fraktur předstihne alfacalcidol. Šlo o tříletou dvojité zaslepenou studii s náhodným výběrem za použití aktivního komparátoru. Testovala se účinnost denního perorálního podávání 0,75 ug eldecalcitolu vůči 1,0 ug alfacalcidolu na prevenci zlomenin. Projektu se zúčastnilo 1 054 osteoporotických osob ve věku 46–92 let. Po náhodném výběru užívalo eldecalcitol 528 jedinců, alfacalcidol 526 osob. V obou skupinách proběhla stratifikace podle plazmatické koncentrace 25-hydroxyvitaminu D. Nemocní s jeho nízkou koncentrací (pod 50 nmol/l) dostávali denně 400 IU vitamínu D<sub>3</sub>. Primárním výstupem studie byly nové zlomeniny obratlů. Druhotně autoři sledovali všechny ostatní fraktury, změny denzity kostního minerálu a markerů kostního obratu.

**Výsledky:** Po 36 měsících byla incidence zlomenin obratlů nižší ve skupině s eldecalcitolem (13,4 versus 17,5 %; míra rizika HR = 0,74; předdefinovaný 90% interval spolehlivosti 0,56–0,97). Eldecalcitol snižoval parametry kostního obratu a zvyšoval denzitu kostního minerálu mnohem výrazněji než alfacalcidol. Post-hoc analýza ukázala, že eldecalcitol snižoval také incidenci hlavních nevertebrálních fraktur, zejména zlomenin distálního předloktí (1,1 versus 3,6 %; HR 0,29; 95% interval spolehlivosti 0,11–0,77). Co se týče nežádoucích účinků, při eldecalcitolu častěji došlo ke vzestupu kalcémie a kalciurie, ale v míře glomerulární filtrace mezi skupinami rozdíl nebyl.

**Závěr:** U nemocných s osteoporózou bez deficitu vitamínu D je v prevenci fraktur obratlů a distálního předloktí eldecalcitol stejně bezpečný ale účinnější než alfacalcidol.

#### **Br J Cancer. 2011 Sep 27;105(7):881–883.**

##### **Intravenous bisphosphonate therapy and atrial fibrillation/flutter risk in cancer patients: a nationwide cohort study.**

**Erichsen R, Christiansen CF, Frøslev T, Jacobsen J, Sørensen HT.**

O riziku léčby osteoporózy bisfosfonáty ve smyslu výskytu fibrilace komor existují protichůdné nálezy. Při onkologických onemocněních se v terapii kostních metastáz a hyperkalcémie podávají bisfosfonáty v mnohem větších dávkách než u osteoporózy, ale o riziku fibrilace komor u těchto nemocných není známo nic. Autoři proto zorganizovali plošnou populační kohortovou studii s využitím národních dánských databází. Každý onkologicky nemocný, který mezi rokem 2000–2008 dostával intravenózní bisfosfonáty, byl porovnán se dvěma onkologickými pacienty, kteří takto léčení nebyli, s přihlédnutím na typ nádoru, přítomnost vzdálených metastáz v době diagnózy, věk a pohlaví.

K určení míry rizika fibrilace/flutteru komor včetně korekce na souběžné důležité faktory byla využita Coxova regrese.

Výsledky: Mezi 3 981 onkologicky nemocnými léčenými intravenózními bisfosfonáty došlo k fibrilaci/flutteru komor ve 128 (3,2 %) případech. U 7 906 ostatních onkologických pacientů byla taková situace zaznamenána 192x (2,4 %). Korigovaná míra rizika tedy činí 1,7 (95% interval spolehlivosti 1,2–2,4).

Závěr: U onkologicky nemocných mohou intravenózní bisfosfonáty zvýšit riziko fibrilace či flutteru komor.

**J Bone Miner Res. 2011 Oct;26(10):2341–2357**

**Vitamin D supplementation during pregnancy: Double-blind, randomized clinical trial of safety and effectiveness. Hollis BW, Johnson D, Hulsey TC, Ebeling M, Wagner CL.**

Otázky potřeby, bezpečnosti a účinnosti podávání suplementace vitamínem D během gravidity nejsou ještě vyřešeny. V této kontrolované studii s náhodným výběrem dostávaly ženy s jednočetnou graviditou ve stadiu 12 až 16 týdnů 400, 2 000 nebo 4 000 IU vitamínu D3 denně až do porodu. Primárním výstupem studie bylo stanovení plazmatické koncentrace 25-hydroxyvitamínu D (25/OH/D) u matky i dítěte v době porodu; sekundárním výstupem bylo překročení plazmatické koncentrace 25/OH/D 80 nmol/l a zjištění, jaká plazmatická koncentrace 25/OH/D je třeba k dosažení maximální produkce kalcitriolu. Do studie bylo zařazeno 494 žen, 350 z nich vytrvalo až do porodu. Střední plazmatické koncentrace 25/OH/D měsíc před porodem a v jeho době se u jednotlivých skupin významně lišily ( $p < 0,0001$ ) stejně jako procento žen, jež dosáhly saturace organismu (nejvíce při dávce 4 000 IU) ( $p < 0,0001$ ). Relativní „riziko“ dosáhnout plazmatické koncentrace 25/OH/D 80 nmol/l či vyšší v období jednoho měsíce před porodem se významně lišilo při srovnání suplementace 2 000 a 400 IU (RR = 1,52; 95% interval spolehlivosti CI 1,24–1,86) a při srovnání suplementace 4 000 a 400 IU (RR = 1,6; 95% CI 1,32–1,95). Mezi dávkou 4 000 a 2 000 IU už významný rozdíl nebyl (RR = 1,06; 95% CI 0,93–1,19). Cirkulující 25/OH/D měl během gravidity přímý vliv na plazmatickou koncentraci kalcitriolu ( $p < 0,0001$ ) s největším efektem ve skupině se suplementací 4 000 IU. Z hlediska bezpečnosti se mezi skupinami nevyskytly žádné rozdíly. Ve vztahu k suplementaci vitamínem D či plazmatické koncentraci 25/OH/D nedošlo k žádným nežádoucím účinkům.

Závěry: Suplementace těhotných žen denní dávkou 4 000 IU vitamínu D3 se jevila jako bezpečná a nejúčinnější v dosažení saturace organismu u všech žen a jejich dětí bez ohledu na etnickou příslušnost. V porovnání s výsledky studie současná doporučení k dosažení potřebné plazmatické koncentrace 25/OH/D nedostačují, zejména u afroameričanů.

**Calcif Tissue Int. 2011 Oct;89(4):265–270**

**Risk of newly diagnosed type 2 diabetes is reduced in users of alendronate. Vestergaard P.**

Autor se snažil zjistit, zda užívání antiresorpční léčby při osteoporóze je spojeno s rizikem rozvoje diabetu prvního (T1D) nebo druhého (T2D) typu. Využil přehled dánských léčených nemocných s osteoporózou ( $n = 103.562$ ) v porovnání se ztrojenou skupinou náhodně vybraných osob bez diabetu téhož věku a pohlaví ( $n = 310.683$ ). Hlavní výstupní proměnnou byl výskyt diabetu po počátečním datu. Mezi pacienty na alendronátu, etidronátu či raloxifenu nebylo nalezeno odlišné riziko rozvoje T1D. Ovšem riziko rozvoje T2D bylo u všech tří typů terapie sníženo (alendronát – míra rizika HR = 0,71; 95% interval spolehlivosti CI 0,59–0,85; etidronát – HR = 0,77; 95% CI 0,69–0,86; raloxifen – HR = 0,46; 95% CI 0,25–0,87). U alendronátu (nikoli etidronátu či raloxifenu) závisel pokles rizika na dávce ( $\geq 1$  definovaná denní dávka /DDD/ HR = 0,22; 95% CI 0,12–0,41;  $p$  pro trend je  $< 0,01$ ).

Závěr: Antiresorpční léčba osteoporózy zřejmě není spojena se zvýšením rizika rozvoje diabetu, naopak zde lze postihnout určitý protektivní účinek ve vztahu k potlačení kostního obratu. Tuto problematiku bude třeba ještě blíže prozkoumat.

**Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. 2011 Dec;18(6):359–370.**

**Familial hypocalciuric hypercalcaemia: a review.**

**Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, Mosekilde L.**

Hyperkalcémie může být stavem život ohrožujícím. Familiární hypokalciurická hyperkalcémie (FHH) je vzácnou, celoživotní a benigní klinickou jednotkou. Je třeba ji odlišit od ostatních hyperkalcemických stavů, jako je hyperkalcémie při malignitách nebo primární hyperparatyreóze (PHPT). Podle nedávných objevů je FHH způsobena inaktivační mutací genu pro kalcium sensing receptor (CASR), vedoucí k hyposenzitivitě organismu na vápník, následné hyperkalcémii a hyperkalciurii. Dědičnost poruchy je autozomálně dominantní. Podobně jako při PHPT, také u FHH nacházíme hyperkalcémii, normální nebo zvýšenou plazmatickou koncentraci parathormonu a plně zachované renální funkce. Pacienti mají zcela normální fenotyp a postrádají jakoukoli klinickou manifestaci hyperkalcémie. Je zde typická relativně nízká exkrece kalcia do moči, na rozdíl od PHPT, kde bývá hyperkalciurie. Hodnoty plazmatických koncentrací 25(OH)-vitamínu D se pohybují v běžných mezích včetně sezónních výkyvů, nicméně koncentrace kalcitriolu mohou být mírně zvýšené. Přes lehké navýšení kostního obratu jsou hodnoty denzity kostního minerálu vyjádřené jako Z-skóre normální. V diferenciální diagnostice nutno uvažovat o PHPT, někdy též o hyperkalcémii při malignitě nebo při užívání thiazidů.

Závěr: Z celkového pohledu FHH nevyžaduje žádnou léčbu. Autoři doporučují dvoustupňový diagnostický proces. Nejdříve je třeba vyšetřit poměr kalcia ke clearance kreatininu při sběru moči za 24 hodin. U všech pacientů se zjištěnou hodnotou 0,020 či méně pak hledat mutace genu pro CASR pomocí molekulární genetiky. Diagnostická senzitivita tohoto postupu je 98 %.

## Pokyny pro autory

Redakce časopisu *Osteologický bulletin* (OB) přijímá příspěvky v češtině, slovenštině nebo angličtině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Zasláný příspěvek musí být určen výhradně pro publikaci v časopise *Osteologický bulletin* a musí být doplněn prohlášením, že nebyl a nebude zadán k uveřejnění v jiném časopise. Zároveň musí být imprimován všemi autory, kteří svým podpisem stvrdí, že souhlasí s údaji v rukopise, s jejich rozbohem a závěry. Na konci rukopisu uveďte celá jména, vědecké hodnosti a tituly všech autorů a adresy jejich pracovišť. Hlavní autor uvede navíc číslo telefonu, faxu a své rodné číslo.

Příspěvky jsou doplněny souhrnem v češtině a angličtině. Anglický překlad souhrnu může dodat autor, jinak jej zajistí nakladatelství.

Práce je po stránce obsahové a formální posuzována dvěma recenzenty a podle jejich posudku rozhodne redakční rada o přijetí či odmítnutí. O výsledku bude autor vyrozuměn písemně. Podle připomínek recenzentů může být práce vrácena autorům na doplnění, na drobné či větší úpravy či na přepracování. Redakce si vyhrazuje právo provádět drobné stylistické úpravy a zkrátit rukopis, uzná-li za nutné (v případě zkrácení rukopisu bude vyžádán autorův souhlas). Nevyžádané rukopisy a přílohy se nevracejí.

### Zpracování rukopisu

Rukopis zasílejte redakci ve třech exemplářích. Po jeho recenzi a přijetí bude požadována jeho elektronická verze v některém ze standardních textových editorů, předaná elektronickou poštou nebo na příslušném médiu. To opatřete jménem autora (autorů) a názvem příspěvku. Při psaní rukopisu na počítači je třeba psát řádky plynule (tzv. „nekonečný řádek“), tzn. klávesu ENTER stisknout pouze na konci každého odstavce. Rozlišujte znaky I (malé l) a 1 (jedna), O (velké O) a 0 (nula).

### Rukopis musí mít tyto náležitosti:

1. Vlastní text.
2. Souhrn s názvem práce, 3–6 klíčovými slovy, jména autorů, názvy a adresami pracovišť autorů.
3. Seznam literatury.
4. Dokumentaci (grafy, tabulky, obrázky, schémata) v provedení použitelném pro tisk.
5. Texty k dokumentaci.

Souhrn je v současné době důležitou součástí sdělení, je obvykle jedinou informací o obsahu práce, která se ukládá do elektronických databází. Proto je třeba, aby byl při zachované stručnosti co nejvýstižnější. Články k uveřejnění v angličtině zasílejte paralelně v češtině pro kontrolu překladu. Originální práce mají být členěny do následujících kapitol:

Úvod – Materiál a metodika – Výsledky – Diskuze – Závěr.

Zkracování slov, zejména v nadpisech, se nedoporučuje. Pokud se nějaký výraz v textu často opakuje a autor uzná za vhodné jej zkrátit, uvede zkratku v závorce po jejím prvním použití. Všechny zkratky použité v textu vysvětlíte na konci článku na zvláštním listu zařazeném před seznam literatury.

Odkazy na literaturu v textu uvádějte čísla normální velikosti v závorkách. Seznam literatury je třeba sestavit v chronologickém (nikoli abecedním) pořadí podle odkazů v textu a očíslovat. V textu jsou odkazy na literaturu uváděny číslem odpovídajícím číslu citace v seznamu.

Formální úprava seznamu literatury se řídí normou obvyklou v kvalitních odborných časopisech. Užívá se plné formy citací: příjmení a zkratky křestních jmen autorů, plný název citované práce v jazyce originálu, rok vydání, ročník, stránky; u monografií místo vydání, nakladatel, rok vydání a stránkový rozsah. Iniciály křestních jmen a zkratky názvu časopisu se píšou bez teček, za značky oddělující rok vydání, ročník a stránky se nedělá mezera.

Příklady:

Článek v časopise:

Schwartz PJ, Priori SG, Vanoli E, Zaza A, Zuanetti G. Efficacy of diltiazem in two experimental feline models of sudden cardiac death. *J Am Coll Cardiol* 1986;8:661–8.

(Je-li více autorů než čtyři, uveďte první tři a zkratku et al.).

Monografie:

Eisen HN. *Immunology: an introduction to molecular and cellular principles of the immune response*. 5th ed. New York; Harper and Row, 1974:406.

Kapitola z monografie:

Streeter DD Jr. Gross morphology and fiber geometry of the heart. In: Berne RM, Sperelakis N, eds. *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System*. Washington, D.C.: American Physiology Society, 1979:61–112.

Práci je možno doplnit tabulkami a obrazovou dokumentací ve formě grafů, schémat, vzorců, obrázků, černobílých i barevných diapositivů či fotografií. Tyto přílohy připojte volně na konec rukopisu v pořadí podle odkazů v textu. Nadpis tabulky se píše přímo nad tabulku, u ostatních (tj. u obrazové dokumentace) se popisky a legendy píšou na samostatný list. Obrazová dokumentace musí být přiložena v dokonalém provedení (vhodném pro tisk) – tj. originály a nikoli xerokopie pérovek nebo polotónových předloh, fotografie buď v diapositivu, nebo na papíře. Všechny přílohy je třeba na zadní straně opatřit jménem prvního autora, zkratkou nadpisu práce, číslem stránky rukopisu, k níž se příloha vztahuje, a číslem, pod kterým je zmíněna v textu a pod kterým je uveden průvodní text. V textu označte místo, kam má být příloha zařazena, čtverečkem s označením přílohy (např. „obr. 1“). Totéž označení umístíte jako odkaz na přílohu do závorky v textu.

Příspěvky zasílejte na adresu redakce:

Trios, s. r. o.  
redakce *Osteologického bulletinu*  
Zakouřilova 142  
149 00 Praha 4