

Dialyzační koncentrát Citraste®

In vitro testy a výsledky použití koncentrátu Citrasate při *in vivo* bikarbonátové hemodialýze
a on-line hemodiafiltraci

**As. MUDr. Vladimír Polakovič, MBA, Doc. Ing. František Lopot, CSc.,
As. MUDr. František Švára**

Všeobecná fakultní nemocnice Praha, Interní oddělení Strahov,
vedoucí: **prim. MUDr. Vladimír Polakovič, MBA**

Centrum pro expertízu dialyzační techniky

Praha, V/2008 – I/2010

Obsah

1. Ověření použitelnosti koncentrátu Citrasate® na standardních dialyzačních přístrojích
2. Studie *in vivo* bikarbonátové hemodialýzy s koncentrátem Citrasate®
3. Studie *in vivo* on-line hemodiafiltrace s koncentrátem Citrasate®
4. Dlouhodobé výsledky hemodialýzy s koncentrátem Citrasate®
5. Shrnutí a závěry
6. Literatura
7. Seznam prezentací a publikací pracoviště zaměřených na použití koncentrátu Citrasate®
8. Přílohy

1. Ověření použitelnosti koncentráту Citrasate® na standardních dialyzačních přístrojích (*in vitro* test)

1.1 Úvod

Většina současných dialyzačních přístrojů zobrazuje hodnotu koncentrace sodného a bikarbonátového iontu v produkovaném dialyzačním roztoku, přestože tyto veličiny nejsou v přístroji přímo měřeny. Měřena je pouze celková vodivost roztoku. V servisním režimu je však v přístroji zadáno přesné složení použitého koncentrátu, z něhož lze při znalosti mísicího poměru koncentrátu s vodou, disociačních a vodivostních konstant jednotlivých složek a celkové vodivosti údaje o iontových koncentracích spočítat. Zadávat do paměti přístroje ale lze pouze hodnoty navážky předdefinovaných látek, nelze zadávat látku, která není v předdefinovaném seznamu. V tomto seznamu mají všechny stávající přístroje jen běžně používané látky (chlorid sodný, chlorid draselný, chlorid vápenatý, chlorid hořečnatý, octan sodný, kyselinu octovou (KO), hydrouhličitan sodný a glukózu), žádný dosud v tomto seznamu nemá zahrnutu kyselinu citrónovou (KC), která je součástí koncentrátu Citrasate®.

1.2 Cíl *in vitro* testů

Cílem *in vitro* testů bylo proto nejprve zjistit, zda lze A-koncentrát s KC použít bez problémů na stávajících dialyzačních přístrojích nastavených pro A-koncentráty s KO. Vzhledem ke dvoustupňovému míchání koncentrátů v dialyzačním přístroji (nejprve je s vodou míchán A-koncentrát, finální dialyzační roztok vzniká až ve druhém mísicím stupni, kde se k roztoku z prvního stupně přidává B-koncentrát), bylo třeba ověřit, zda nebude docházet k alarmovým stavům vodivosti ani na jednom z mísicích stupňů a zda bude také zachována možnost regulace koncentrací sodíku a bikarbonátu ve finálním roztoku v celém běžně používaném rozsahu (typicky 130 až 150 mmol/l pro sodík a 24 až 38 mmol/l pro bikarbonát).

1.3 Materiál a metoda

In vitro testy byly provedeny na hemodialyzačních přístrojích Dialog Plus B. Braun, 4008S a 5008 Fresenius, AK200 a AK200S Gambro a DBB 05 Nikkiso

Použity byly 2 typy „kyselého“ koncentrátu, obsahující v přepočtu na standardní ředění (1:1,225:32,775) buď 3 mmol/l kyseliny octové (BIC-F08) nebo 2,4 mmol kyseliny citrónové a 0,75 mmol/l octanu sodného (BIC-F322) - Tab. 1.

koncentrát	BIC-F08	BIC-F322
NaCl (g)	214,15	214,15
KCl (g)	7,83	7,83
CaCl ₂ .2H ₂ O (g)	9,01	9,01
MgCl ₂ .6H ₂ O (g)	3,56	3,56
C ₆ H ₁₂ O ₆ .H ₂ O (g)	--	--
CH ₃ COOH (g)	6,31	--
CH ₃ COONa.3H ₂ O (g)	--	1,43
C ₆ H ₈ O ₇ .H ₂ O (g)	--	5,88
Aqua purificata (ml)	ad 1000	ad 1000

Tab. 1 Složení obou „kyselých“ koncentrátů použitých při *in vitro* testech

Ve výsledném dialyzačním roztoku byly měřeny koncentrace Na^+ , K^+ a Ca^{2+} (Ionometer EF, Fresenius) HCO_3^- (ABL-5, Radiometer) při čtyřech různých kombinacích nastavení žádaných koncentrací sodíku a bikarbonátu (134/24, 134/38, 148/24 a 148/38 mmol/l)

Naměřené hodnoty koncentrací jednotlivých iontů byla porovnány s teoretickým výpočtem (za předpokladu úplné disociace všech solí v navážce a poté i s použitím tabulkových hodnot konstant rozpustnosti a konstant disociačních)

1.4 Výsledky:

Regulace koncentrace Na^+ a HCO_3^- pracovala při použití obou koncentrátů normálně a prakticky stejně. Výsledky naměřených hodnot na všech přístrojích ukazují Tab. 2a až 2f.

Chod všech testovaných typů dialyzačních přístrojů byl bezproblémový, včetně prvního mísicího stupně, ve kterém se míchá s vodou právě s kyselá koncentrátová složka.

U všech přístrojů byla při použití koncentrátu s KC zjištěna výrazně nižší koncentrace Ca^{2+} (o 0,4-0,55 mmol/l, v závislosti na nastavené koncentraci Na^+ a HCO_3^-).

Koncentrace HCO_3^- vykazovala při stejném nastavení tendenci k mírně vyšším hodnotám při použití koncentrátu s KC (rozdíl se pohyboval od 0 do 2,5 mmol/l v závislosti na typu přístroje a nastavených koncentrací Na^+ a HCO_3^-). To je zřejmě důsledek toho, že kyselina octová v běžném A-koncentrátu reaguje v dialyzačním roztoku preferenčně s bikarbonátem a o část bikarbonátu, vstupující do této reakce se tedy koncentrace v konečném roztoku sníží. Naproti tomu kyselina citrónová, obsažená v koncentrátu Citrasate® vytváří preferenčně komplex s ionty vápníku a hladina bikarbonátu je proto dána jen velikostí navážky.

4008S Fresenius

měření s koncentráty **BIK-F 300/BIC-F8,4%**

nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
134/24	136	2,98	1,11	7,18	23
134/38	131,4	2,51	0,89	7,39	35
148/24	148,6	3,28	1,22	7,11	22
148/38	145,6	2,84	1	7,36	35
měření s koncentráty BIK-F 08/BIC-F8,4%					
nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
134/24	133,6	2,93	1,59	7,08	22
134/38	130,6	2,45	1,24	7,35	35
148/24	145,2	3,26	1,75	7,01	22
148/38	140,5	2,83	1,39	7,26	35

Tab. 2a

5008S Fresenius

měření s koncentráty **BIK-F 300/BIC-F8,4%**

nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	129,8	2,83	1,06	7,22	22
132/38	127,7	2,41	0,85	7,46	35
148/24	147,3	3,2	1,17	7,15	22
148/38	143,8	2,78	0,98	7,39	35
měření s koncentráty BIK-F 08/BIC-F8,4%					
nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	130,4	2,78	1,5	7,12	22
132/38	127,2	2,4	1,21	7,37	35
148/24	144,7	3,16	1,68	7,03	22
148/38	143,2	2,78	1,39	7,29	34

Tab. 2b

AK200 Gambroměření s koncentráty **BIK-F 300/BIC-F8,4%**

nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	132	2,79	1,05	7,25	24
132/38	131,2	2,42	0,87	7,47	36
148/24	148,1	3,21	1,18	7,18	23
148/38	147	2,81	0,99	7,42	35
měření s koncentráty BIK-F 08/Sol-Cart B					
nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
134/24	132,6	2,81	1,5	7,12	23
134/38	130,1	2,41	1,2	7,34	36
148/24	148,6	3,2	1,69	6,99	22
148/38	146,2	2,78	1,38	7,23	35

Tab. 2c

AK200S Gambroměření s koncentráty **BIK-F 300/BIC-F8,4%**

nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	134,4	2,83	1,04	7,22	25
132/38	132,5	2,44	0,84	7,45	37
148/24	150,4	3,27	1,21	7,15	24
148/38	149,3	2,93	1,03	7,38	37
měření s koncentráty BIK-F 08/BIC-F8,4%					
nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	136,5	2,94	1,59	7,09	23
132/38	130,7	2,47	1,22	7,34	37
148/24	149,5	3,23	1,71	7	22
148/38	147,2	2,81	1,4	7,26	35

Tab. 2d

Dialog Plus, B. Braunměření s koncentráty **BIK-F 300/Sol-Cart B**

nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
132/24	129,8	2,81	1,05	7,11	23
132/38	133,3	2,46	0,86	7,37	40
148/24	148,5	3,07	1,1	7,07	22
148/38	150,1	2,84	0,99	7,33	38
měření s koncentráty BIK-F 08/Sol-Cart B					
nastavení					
Na/HCO ₃	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
134/24	129,9	2,83	1,49	7,06	23
134/38	133,8	2,53	1,27	7,32	40
148/24	146	3,15	1,68	7,01	23
148/38	149,1	2,81	1,39	7,25	38

Tab. 2e

DBB 05 Nikkisoměření s koncentráty **BIK-F 300/BiCart**

nastavení					
celk. a bik. vodivosti	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
13,4/2,5	132,9	2,88	1,09	7,2	24
13,4/3,5	131,5	2,5	0,88	7,38	37
15,4/2,5	155,9	3,38	1,25	7,13	23
15,4/3,5	155,3	3,05	1,07	7,28	35
měření s koncentráty BIK-F 08/Bicart					
nastavení					
celk. a bik. vodivosti	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	pH	HCO ₃ ⁻
	mmol/l	mmol/l	mmol/l	--	mmol/l
13,4/2,5	130,4	2,75	1,48	7,11	24
13,4/3,5	130,1	2,45	1,23	7,3	37
15,4/2,5	153,4	3,44	1,84	6,98	23
15,4/3,5	155,1	3,05	1,53	7,2	35

Tab. 2f

Nález výrazně nižší koncentrace Ca²⁺ a trend k vyšší koncentraci HCO₃⁻ při použití koncentrátu s KC potvrdilo i srovnání naměřených hodnot s teoretickým výpočtem – viz Tab. 3 (výpočet byl proveden u firmy Gambro pomocí speciálního programu používaného při vývoji konduktometrických mísicích systémů dialyzačních přístrojů). Skutečně naměřená koncentrace Ca²⁺ dialyzátu připraveném z koncentrátu s obsahem KO je o cca 16% nižší (3. sloupec

tabulky), než by odpovídalo stavu stoprocentní disociace a nulové interakce mezi jednotlivými složkami (1. sloupec hodnot). U koncentráту Citrasate® s KC je tento rozdíl výrazně vyšší – cca 40% (viz 3. a 6. sloupec). V obou případech to dobře odpovídá teoretické predikci, která bere v úvahu jak omezenou disociaci, tak interakce mezi složkami (2. a 4. sloupec).

	dialyzát s konc. s F08 (s KO)			dialyzát s konc. s F322 (s KC)		
	CD	CD _{teor}	CD _{měř}	CD	CD _{teor}	CD _{měř}
Na ⁺ (mmol/l)	140	140	139,2	140	140	138,6
K ⁺ (mmol/l)	3	3	2,8	3	3	2,81
Ca ²⁺ (mmol/l)	1,75	1,46	1,43	1,75	1,05	0,96
Mg ²⁺ (mmol/l)	0,5	0,42	nm	0,5	0,31	nm
Cl ⁻ (mmol/l)	112,5	112,5	nm	110	110	nm
acetát (mmol/l)	3	3	nm	0,3	0,3	nm
citrát (mmol/l)	--	--	nm	0,8	0,19	nm
HCO ₃ ⁻ (mmol/l)	32	30,77	30,5	35	33,75	32,1
pH	np	Np	7,25	np	np	7,39

np – nepočítáno, nm - neměřeno

Tab.3

Výpočet i měření v Tab. 3 byly provedeny při standardním ředicím poměru A-koncentrát : B-koncentrát : voda = 1 : 1,25 : 32,275 na přístroji AK200S Gambro.

1.5 Závěry:

- HD přístroje nastavené pro použití standardní koncentrátové A-složky s KO lze bez úprav použít pro BHD s koncentrátovou A-složkou s KC typu Citrasate® (*prakticky odzkoušeno pro přístroje Dialog fy B. Braun, 4008/5008 fy Fresenius, AK 100/200/200S fy Gambro a DBB05 fy Nikkiso*)
- Koncentrace ionizovaného vápníku v dialyzačním roztoku je při použití koncentráту Citrasate® s KC oproti koncentráту s KO o 0,4-0,5 mmol/l nižší (*doloženo teoretickým výpočtem a praktickým měřením*)
- Koncentrace sodíkového iontu nevykazuje při použití koncentráту s KC oproti koncentráту s KO prakticky žádný rozdíl (*doloženo teoretickým výpočtem a praktickým měřením*)
- Koncentrace bikarbonátového iontu vykazuje při použití koncentráту Citrasate® s KC oproti koncentráту s KO trend k mírně vyšším hodnotám – o 0,5 až 2,5 mmol/l (*doloženo teoretickým výpočtem a praktickým měřením*)

2. Studie *in vivo* bikarbonátové hemodialýzy s koncentrátem Citrasate® měření

2.1 Úvod, bilanční rozvaha

Po úspěšném ověření technicky bezproblémové použitelnosti koncentrátu Citrasate® u stávající dialyzační techniky bylo přistoupeno k jeho použití při *in vivo* hemodialýzách. (V té době již měl nový koncentrát CE značku.)

Otázky, na které měla odpovědět tato část studie, vycházely z nižší koncentrace ionizovaného vápníku ve výsledném dialyzačním roztoku, zjištěné v *in vitro* studii. Při použití kyseliny citrónové (KC) přechází v dialyzačním roztoku část Ca^{2+} z disociovaného CaCl_2 do komplexované podoby s citrátovým aniontem (viz kap. 1 - naměřené snížení Ca^{2+} o 0,35 – 0,55 mmol/l), čímž se sníží koncentrační gradient Ca^{2+} mezi dialyzátem a plasmou a tím také velikost přestupu Ca^{2+} do plasmy, případně se směr tohoto přestupu může i obrátit. Tato změna je na druhé straně kompenzována difúzí vápníko-citrátových (Ca-C) komplexů z dialyzátu do krve. Difúze Ca-C komplexů do krve ale bude kvůli vyšší molekulové váze (řádově stovky) probíhat pomaleji, než případná difúze vápníkového iontu z krve. Při následném metabolismu Ca-C komplexů v Krebsově cyklu se ionty Ca^{2+} opět uvolní a připojí se k ostatnímu volnému Ca v organismu. Základní otázkou tedy je celková bilance všech těchto pochodů.

2.2 Cíl studie

Cílem *in vivo* studie bylo ověření dopadu dlouhodobějšího použití koncentrátu Citrasate® u menší skupiny pacientů na bikarbonátové hemodialýze (BHD), jmenovitě jeho vlivu na plasmatickou hladinu vápníku a bikarbonátu a srážlivost krve v mimotělním obvodu a s jejími změnami spojené efekty.

2.3 Materiál a metoda

Bylo sledováno 5 pacientů dialyzovaných v dlouhodobém dialyzačním programu po dobu 4 týdnů, nejprve 1 týden na BHD s klasickým A-koncentrátem s kyselinou octovou (KO) a následně další 3 týdny při BHD s A-koncentrátem Citrasate® s kyselinou citrónovou (KC) (při zachování všech provozních parametrů dialýzy – typ dialyzátoru, krevní průtok, doba dialýzy a heparinizace). Charakteristiky pacientů a parametry jejich dialyzační léčby jsou uvedeny v Tab. 1.

	pacient				
	1	2	3	4	5
pohlaví	M	M	F	F	F
stáří (roky)	75	87	67	72	75
„suchá váha (kg)	62	78	58,5	81	74
délka HD (hod)	4	4	4	4	4
průtok krve (ml/min)	320	320	320	320	320
dialyzátor	FDX120GWS	PFL 14L	PES150 DL	PES150DL	Sureflux170L
A-koncentrát s KO	F61	F61	F61	F64	F51
A-konc. Citrasate®	B320	B320	B320	B320	B320

Tab. 1 Charakteristiky monitorovaných pacientů a provozní parametry HD

Při všech dialýzách byly po dobu 4 týdnů měřeny predialyzační a postdialyzační plasmatické koncentrace Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , HCO_3^- a hodnota pH. Jako ukazatele změn v celkových bilancích byly vyhodnocovány intradialyzační změny sledovaných parametrů a sledovány trendy v predialyzačních hodnotách. Samotná bilanční množství při jednotlivých dialýzách vyhodnocována nebyla.

Z koncentrací urey před a po HD bylo počítána standardní Daugirdasovou rovnicí II. generace hodnota spKt/V .

Hemokoagulační statut pacienta byl při každé dialýze hodnocen stanovením časové konstanty K_e exponenciálního poklesu aktivovaného srážecího času (ACT). Byla počítána z hodnot ACT před podáním úvodní dávky heparinu (ACT1), 5 minut po jejím podání (ACT2) a cca po dvou hodinách dialýzy (ACT3), měřených koagulometrem Hemochron 401 (International Technidyne Corp., USA). Konstanta K_e charakterizuje rychlost poklesu srážecího času po podání úvodní dávky heparinu zpět k hodnotě před podáním a udává se v hod^{-1} . Čím je její hodnota kratší, tím pozvolnější je pokles ACT. Při intermitentní heparinizaci byla hodnota K_e počítána ze vztahu

$$K_e = (\ln((\text{ACT2} - \text{ACT1})/(\text{ACT3} - \text{ACT1}))) / \Delta t \quad [2-1]$$

Při heparinizaci kontinuální byl použit vztah

$$K_e = I * (\text{ACT2} - \text{ACT1}) / (M0 * (\text{ACT3} - \text{ACT1})) \quad [2-2]$$

V rovnici [2-1] značí Δt časový interval mezi měřeními ACT2 a ACT3 (obvykle 2 hodiny), v rovnici [2-2] udává $M0$ velikost úvodní dávky heparinu (m.j.) a I rychlost infúze heparinu (m.j./hod). Oba vztahy lze odvodit z kinetiky heparinu za předpokladu lineárního vztahu mezi velikostí podané dávky a prodloužením srážecího času - viz (5, 6).

2.4 Výsledky

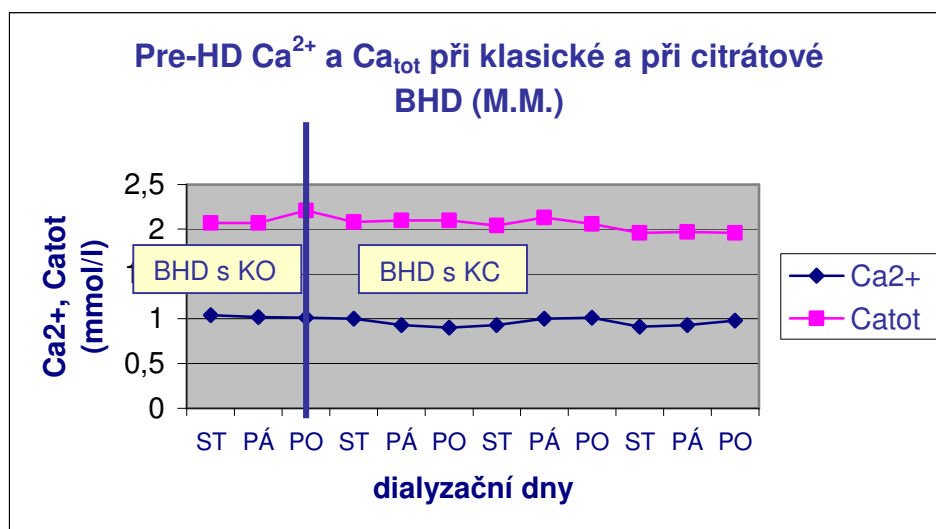
Tab. 2-1 uvádí u všech 5 sledovaných pacientů konkrétní hodnoty parametrů, u kterých

pacient	$\Delta\text{Ca}_{\text{celk}}$ (mmol/l)		spKt/V		K_e (ACT) (hod^{-1})	
	BHD s A-koncentrátem		BHD s A-koncentrátem		BHD s A-koncentrátem	
	BIC F-08	BIC F-300	BIC F-08	BIC F-300	BIC F-08	BIC F-300
1	0,233	0,163	1,41	1,43	0,636	0,513
2	0,430	0,320	1,30	1,34	0,660	0,567
3	0,273	0,038	1,43	1,63	0,562	0,459
4	0,203	0,182	1,11	1,25	0,486	0,439
5	0,380	0,217	1,49	1,56	0,706	0,663
průměr	0,304	0,184	1,348	1,442	0,610	0,528
změna (%)		-39,4		+6,97		-13,41

Tab. 2-1 Parametry, u kterých byla nalezena výrazná změna mezi dialýzami s A-koncentrátem s KO a koncentrátem Citrasate®: intradialyzační změna plasmatické hladiny celkového vápníku ($\Delta\text{Ca}_{\text{celk}}$, počítáno jako predialyzační minus postdialyzační hodnota), spKt/V a časová konstanta poklesu ACT (K_e). Čísla uvedená v řádcích 1 až 5 jsou průměry u jednotlivých pacientů z celotýdenního sledování, tj. ze tří dialýz.

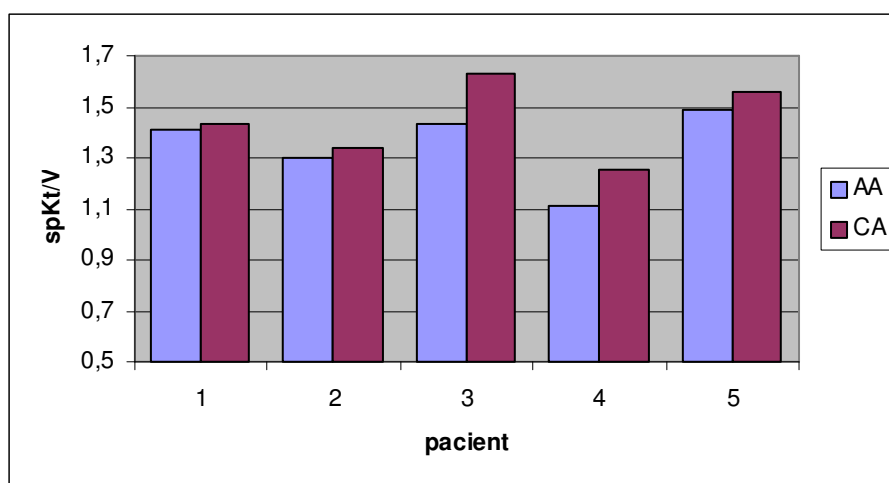
došlo se změnou A-koncentrátu ke změnám - intradialyzační změna koncentrace celkového vápníku (ΔCa_{celk}), hodnoty $spKt/V$ a hodnoty K_e . Uvedeny jsou vždy průměry za vztažné období prvního týdne dialýz s klasickým A-koncentrátem s KO a průměry za následující třítýdenní sledované období dialýz s A-koncentrátem s KC.

Obava z výrazně negativní vápníkové bilance se u žádného ze sledovaných pacientů nepotvrdila, predialyzační plasmatické hladiny vápníku zůstaly prakticky beze změny. S přechodem na koncentrát Citrasate® došlo sice k poklesu intradialyzačního nárůstu plasmatické koncentrace celkového vápníku (ne však u vápníku ionizovaného), poněkud překvapivě se ale tato změna během sledovaného třítýdenního období nijak výrazně neodrazila na predialyzační hodnotě. Jen u celkového vápníku byl patrný mírný pokles (0,1-0,2 mmol/l) - viz Obr. 2-1. Na obrázku je typický průběh koncentrace ionizovaného i celkového vápníku u jednoho ze sledovaných pacientů, průběhy u ostatních pacientů byly v zásadě stejné.



Obr. 2-1 Průběh plasmatické koncentrace celkového a ionizovaného vápníku u jednoho ze sledovaných pacientů po celé sledované období 4 týdnů

Ani u ostatních iontů (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) žádné změny predialyzačních plasmatických hodnot během celého třítýdenního sledování od přechodu na A-koncentrát s KC patrné nebyly, mírný

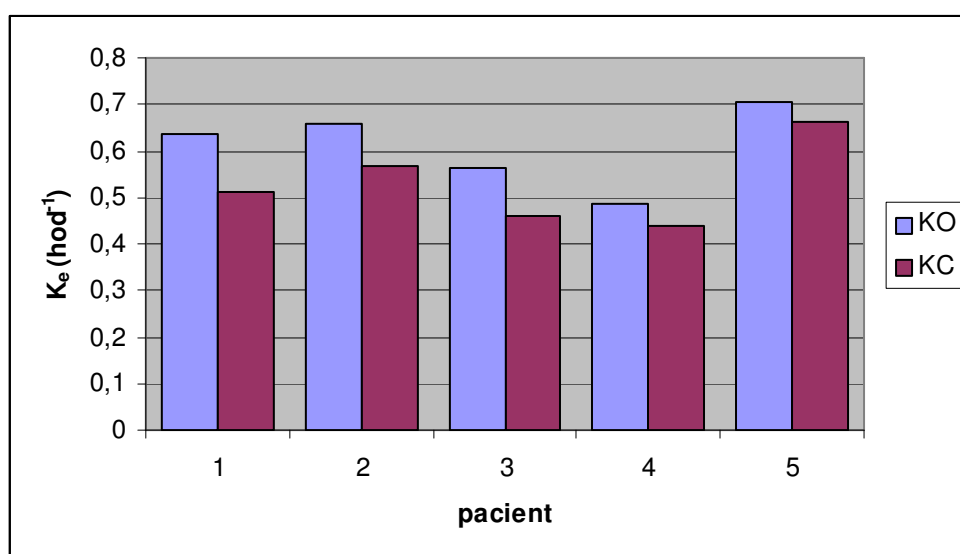


Obr. 2-2 $spKt/V$ u sledovaných pacientů (průměry za celé sledované období)

nárůst o cca 1 mmol/l byl zaznamenán pouze u predialyzační hodnoty bikarbonátu.

Naproti tomu týdenní průměry hodnot dialyzační dávky $spKt/V$ se u všech 5 sledovaných pacientů s přechodem na A-koncentrát s KC zvýšily, v průměru o 7% - viz Obr. 2-2.

Obdobně pozitivní změna byla s tímto přechodem zaznamenána u hodnoty časové konstanty K_e poklesu koagulačního času ACT, uvedená již v Tab. 2-1. Při použití A-koncentrátu Citrasate® byla průměrná hodnota K_e u všech pacientů menší než při použití klasického koncentrátu s KO – graficky je to znázorněno v Obr. 2-3. Toto zjištění dopadu použití koncentrátu Citrasate® je v soulasu s možností snížení dávek heparinu deklarovaném v (2, 4), výpočet změn časové konstanty lze však považovat za objektivnější než zkusmé snižování dávek heparinu. Z analýzy exponenciálního poklesu ACT lze odvodit, že možná procentálně vyjádřená redukce dávky heparinu při kontinuální heparinizaci odpovídá procentálně vyjádřené změně časové konstanty ACT. Nabízí se také úvaha, zda by BHD s koncentrátem Citrasate® nebyla použitelná v případech, kdy je nyní používána technicky náročná regionální citrátová antikoagulace.



Obr. 2-3 Průměrná hodnota časové konstanty poklesu ACT u všech pěti sledovaných pacientů za období s klasickým A-koncentrátem s KO a za období s koncentrátem Citrasate®

2.5 Závěry

- Během třítydenního sledování *in vivo* BHD s koncentrátem Citrasate® u 5 pacientů nebyly zaznamenány žádné významnější změny v predialyzační plasmatické koncentraci sodíku, bikarbonátu ani ionizovaného vápníku .
- Mírný pokles hladiny celkového vápníku, ke kterému může dojít při použití nižších hladin vápníku v dialyzačním roztoku (1,25 a 1,5 mmol/l) lze ošetřit při přechodu na koncentrát Citrasate® zvýšením obsahu (např. z 1,25 na 1,5 mmol/l).
- Po přechodu na koncentrát Citrasate® došlo u všech sledovaných pacientů k nárůstu $spKt/V$ (při nezměněných provozních parametrech dialýzy).
- Při BHD s koncentrátem Citrasate® byl také pomalejší pokles aktivovaného srážecího času (při nezměněné dávce heparinu), který ukazuje na možnost snížení dávek heparinu. Ta ale v rámci této studie nebyla prakticky zkoušena.

3. Studie *in vivo* on-line hemodiafiltrace s koncentrátem Citrasate®

3.1 Úvod

I když se citrátový aniont i vápníko-citrátový komplexu svou „molekulovou“ váhou řadí do oboru malomolekulárních látek (molekulová váha komplexů je 272-816), odstraňovaných při extrakorporálních technikách náhrady ledvinné funkce převážně difúzí, a konvektivní složka transportu při hemodiafiltraci (HDF) by tedy teoreticky neměla zásadním způsobem ovlivnit celkové bilance uvedených látek ve srovnání s klasickou hemodialýzou, považovali jsme za velmi žádoucí praktické ověření skutečného dopadu, zejména s ohledem na to, že všechny dosavadní práce s koncentrátem Citrasate® pocházely z USA, a žádná proto nepokrývala problematiku HDF, v USA dosud stále běžně nepoužívanou.

3.2 Cíl studie:

Cílem *in vivo* studie s použitím koncentrátu Citrasate® při on-line HDF bylo, podobně jako při předchozí studii s HD, vyhodnotit dopad použití koncentrátu Citrasate® na účinnost hemodiafiltrace a koagulační poměry a také zjistit celkovou bilanci vápníku oproti HDF s klasickým „kyselým“ koncentrátem s kyselinou octovou (KO). Zjišťováno bylo rovněž, zda v průběhu HDF s koncentrátem Citrasate® nedochází ke hromadění citrátu v plasmě, které by odráželo překročení maximální možné rychlosti jeho metabolismu v Krebsově cyklu. Celá studie byla provedena formou závěrečné bakalářské práce (J. Jumnr, 2009).

3.3 Materiál a metoda:

Veškerá měření byla prováděna u tří pacientů dlouhodobě léčených on-line hemodiafiltrací. Charakteristiky pacientů a standardní parametry HDF procedury jsou uvedeny v Tab. 3-1.

	pacient		
	1	2	3
pohlaví	M	M	M
věk (roky)	64	62	52
„suchá váha“ (kg)	75	82	81,5
režim HDF	postdiluce	prediluce	prediluce
délka HDF (hod)	5	5	5
průtok krve (ml/min)	370	320	300
celk.objem subst. roztoku (l)	19	25	25
dialyzátor	Rexeed 18UX	PES 210DH	PES 210DH
A-koncentrát s KO	BIK-F59	BIK-F51	BIK-F51
A-koncentrát s KC	BIC-318	BIC-313	BIC-313

Tab. 3-1 Charakteristiky sledovaných pacientů a provozní parametry HDF procedury

Každý z pacientů byl sledován po dobu dvou týdnů. První týden byli pacienti hemodiafiltrováni obvyklým způsobem při použití klasického A-koncentrátu s kyselinou octovou, druhý týden se shodnými parametry, pouze A-koncentrát byl typu Citrasate® (se shodnou koncentrací vápníku jako u koncentrátu s kyselinou octovou). Ke všem hemodiafiltracím byly

použity dialyzační přístroje AK200S Gambro, u kterých je pevně zadán celkový průtok produkovaného dialyzačního roztoku (QD - ve všech případech byl 500 ml/min). Skutečný průtok dialyzačního roztoku dialyzátorem byl tedy vždy o hodnotu průtoku substitučního roztoku nižší.

Účinnost každé monitorované HDF byla hodnocena dialyzační „dávkou“ $spKt/V$, počítanou z pre- a postdialyzační koncentrace urey pomocí Daugirdasovy rovnice II. generace. Srovnávány byly u každého pacienta průměrné hodnoty $spKt/V$ vždy za celý týden.

Dále byly vyhodnocovány predialyzační koncentrace celkového a ionizovaného vápníku a bikarbonátu s cílem zachytit případné změny po změně použitého A-koncentrátu.

Celková bilance vápníku a citrátu byla zjišťována metodou parciálního sběru odpadního dialyzačního roztoku po dobu celé HDF. Z odpadu byl konstantní rychlostí 100 ml/hod pomocí objemové infúzní pumpy odebírán odpadní dialyzát do sběrné nádoby. Celková bilance dané látky byla počítána z koncentrací v produkovaném dialyzačním/ substitučním roztoku (CS) a ve vzorku roztoku v sběrné nádobě odebraném na konci monitorované HDF (CDo) z rovnice

$$m = QD * CS * Td - (QD + UFR) * CDo * Td \quad [3-1]$$

kde m (mmol) je celkové množství látky za danou HDF pacientovi dodané (kladná hodnota) nebo odebrané (záporná hodnota), QD je průtok dialyzačního roztoku (500 ml/min), UFR rychlost ultrafiltrace (ml/min) daného pacienta při monitorované HDF a Td (min) je doba trvání monitorované HDF.

Dopad použití koncentrátu Citrasate® na koagulaci byl vyhodnocován stejným způsobem jako u hemodialýzy (viz kap. 2 této zprávy, rovnice [2-1] a [2-2]), tj. prostřednictvím časové konstanty K_e exponenciálního poklesu aktivovaného srážecího času (ACT), opět průměrované u každého pacienta zvlášť za první a druhý týden.

Lze předpokládat, že pozitivní dopad změn koagulace na účinnost extrakorporální procedury zjištěný při hemodialýze je dán menším zanášením membrány, resp. nižším počtem vláken v dialyzátoru, ve kterých dojde během procedury ke sražení krve. Proto byl v rámci studie s použitím koncentrátu Citrasate® při hemodiafiltraci učiněn pokus postihnout tyto změny měřením objemu krevní cesty dialyzátoru (FBV – z anglického „fibre bundle volume“) na začátku a na konci každé hemodiafiltrace. Tato technika byla vyvinuta N. Krivitským (N. Krivitski, 1998) u fy Transonic Systems a na našem pracovišti prakticky odzkoušena v rámci jedné z předchozích závěrečných bakalářských prací (E. Slavíčková, 2005).

K posouzení případné kumulace citrátu v plasmě bylo použito principu tzv. „vápníkové mezery“ (Ca-gap – Gabutti, 2009), definované jako rozdíl změny plasmatické koncentrace celkového (C_PCa^{tot}) a ionizovaného vápníku v plasmě (C_PCa^{2+}) na začátku a na konci HDF

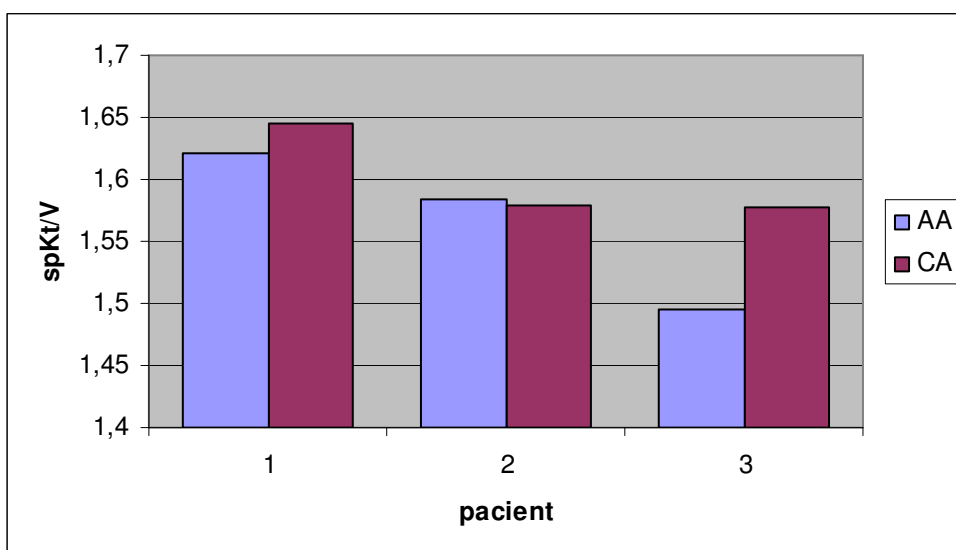
$$Ca\text{-gap} = (C_PCa^{tot}(\text{post}) - C_PCa^{tot}(\text{pre})) - (C_PCa^{2+}(\text{post}) - C_PCa^{2+}(\text{pre})) \quad [3-2]$$

Hodnota tohoto parametru se předpokládala úměrná akumulaci nezmetabolizovaného citrátu v plasmě.

Protože k měření koncentrace citrátu v plasmě bylo použito metodiky vyvinuté v Ústavu klinické biochemie VFN k měření hladiny citrátu v moči, tj. primárně bezbílkovinném prostředí, byla předem otestována její použitelnost k měření na plasmě, do které bylo přidáno definované množství kyseliny citrónové. Naměřené hodnoty plasmatické koncentrace citrátu pak byly přepočítávány na „skutečné“ zjištěným korelačním vztahem.

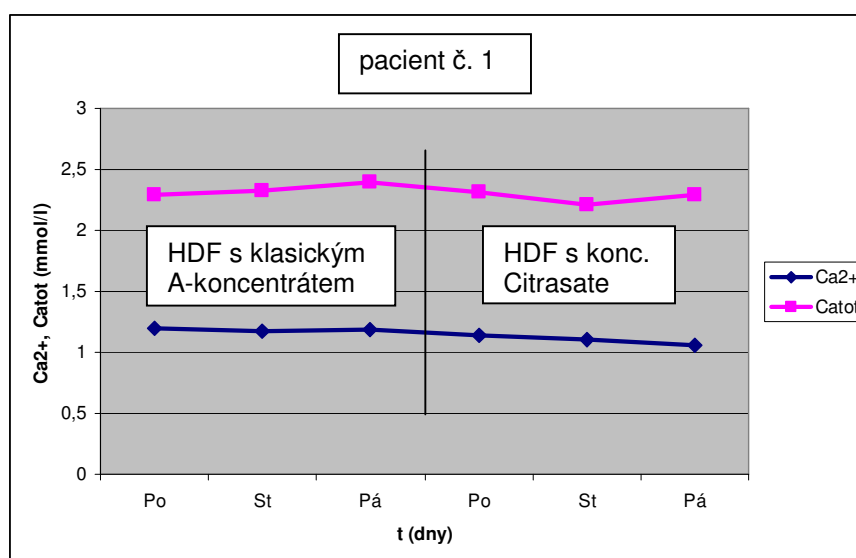
3.4 Výsledky:

Změny v průměrné hodnotě $spKt/V$ za tři HDF v týdnu s klasickým A-koncentrátem (AA) a v týdnu s koncentrátem Citrasate® (CA) ukazuje Obr. 3-1. Prakticky shodná je hodnota u pacienta č. 2, nárůst na úrovni jednotek procent byl zjištěn u pacientů č. 1 a 3.



Obr. 3-1 Srovnání průměrných hodnot $spKt/V$ ze tří HDF s klasickým A-konzentrátem (AA) a koncentrátem Citrasate® (CA)

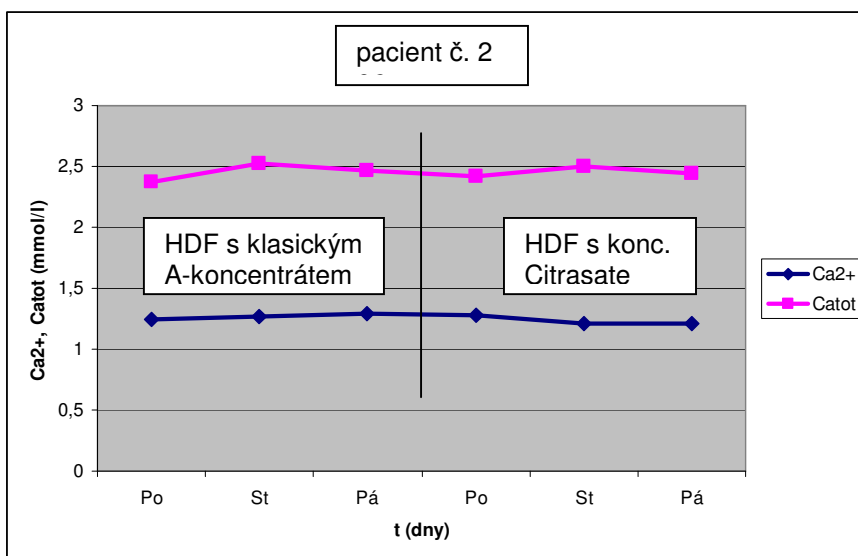
Chování predialyzační plasmatické koncentrace celkového a ionizovaného vápníku za celé sledované období dvou týdnů ukazují obr. 3-2a (pacient 1) 3-2b (pacient 2) a 3-2c (pacient 3). Mírný pokles hodnot celkového i plasmatického vápníku je patrný pouze u pacienta č. 1, u obou dalších pacientů přechod na koncentrát Citrasate® hladiny vápníku neovlivnil. Je třeba



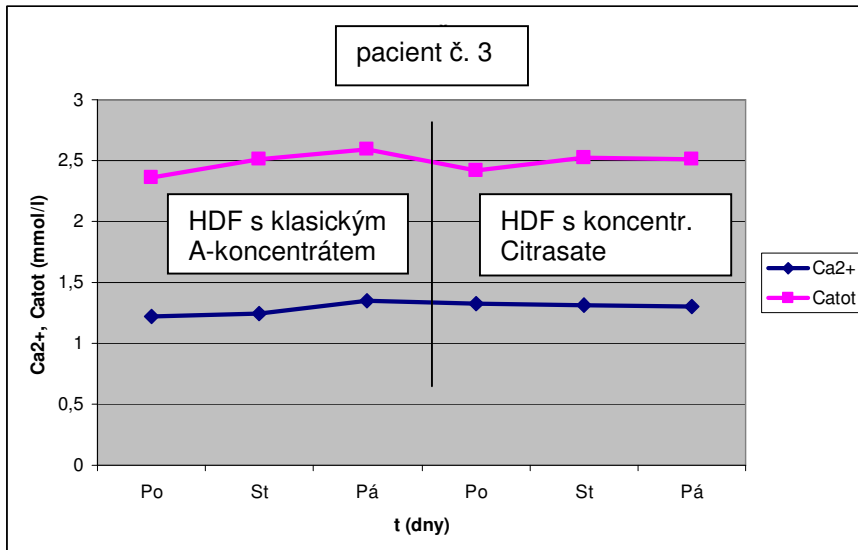
Obr. 3-2a Plasmatická koncentrace Ca^{tot} a Ca^{2+} před HDF během dvou týdnů sledování (1. týden HDF s klasickým A-konzentrátem, 2. týden HDF s A-konzentrátem Citrasate®) u pacienta č. 1

poznamenat, že u pacienta č. 1 byl použit A-konzentrát, který dával koncentraci vápníku ve výsledném dialyzačním roztoku 1,25 mmol/l (teoretická hodnota za předpokladu úplné disociace). Skutečná hodnota ionizovaného kalcia byla u tohoto pacienta vždy nižší než

plasmatická hodnota na počátku každé HDF. U ostatních dvou pacientů byla použita koncentrace vápníku v dialyzačním roztoku 1,5 mmol/l a ta byla vždy vyšší než plasmatická hodnota ionizovaného vápníku před každou HDF.



Obr. 3-2b Plasmatická koncentrace Ca^{tot} a Ca^{2+} před HDF během dvou týdnů sledování (1. týden HDF s klasickým A-konzentrátem, 2. týden HDF s A-konzentrátem Citrasate®) u pacienta č. 2



Obr. 3-2c Plasmatická koncentrace Ca^{tot} a Ca^{2+} před HDF během dvou týdnů sledování (1. týden HDF s klasickým A-konzentrátem, 2. týden HDF s A-konzentrátem Citrasate®) u pacienta č. 3

Změnám v predialyzační plasmatické hladině vápníku odpovídaly i celkové bilance - viz Tab. 3-2 (počítáno pomocí rovnice [3-1]). U všech pacientů byly zjištěné bilance při každé z provedených HDF mírně záporné a s přechodem na koncentrát Citrasate® se odstraněné množství vápníku zvýšilo. Nejvyšší ztrátu již při HDF s klasickým A-konzentrátem a také

nejvyšší nárůst této ztráty vykázal právě pacient č. 1. Přechod na koncentrát Citrasate® lze z hlediska bilance vápníku proto považovat i při on-line HDF za bezpečný. Pouze u pacientů dialyzovaných, resp hemodiafiltrovaných s roztokem o obsahu vápníku 1,25 mmol/l může být potřebné zvýšení obsahu Ca v roztoku s přechodem na koncentrát Citrasate® na 1,5 mmol/l.

	bilance Ca (mmol) za 1 HDF*		
	pacient 1	pacient 2	pacient 3
A-konzentrát s KO	-10,05	-0,82	-6,89
A-konzentrát Citrasate®	-19,57	-10,27	-11,25

(* každá hodnota v tabulce je průměrem ze všech 3 HDF v daném týdnu)

Tab. 3-2 Průměrné celotýdenní bilance vápníku

Vzhledem k provázanosti kinetiky vápníku a fosforu byla spočtena rovněž celková odstraněná množství P (počítány opět pomocí rovnice [3-1] s vynecháním prvního členu v rovnici, protože čistý dialyzační roztok žádné fosfáty neobsahuje) – viz Tab. 3-3

	odstraněná množství fosforu (mmol) při jednotlivých HDF a za celý týden							
	HDF s A-konzentrátem s KO				HDF s A-konzentrátem Citrasate®			
	1. HDF	2. HDF	3. HDF	za celý týden	1. HDF	2. HDF	3. HDF	za celý týden
pac. 1	62,9	66,5	76,5	205,9	78,2	77,1	71,7	227,0
pac. 2	42,1	41,9	40,3	127,5	42,1	44,8	45,1	132,0
pac. 3	54,4	53,9	44,7	153,0	56,0	52,5	52,5	161,0

Tab. 3-3 Odstraněná množství fosforu při jednotlivých HDF a za celý týden

Celotýdenní odstraněné množství fosforu bylo u všech tří pacientů při použití koncentráту Citrasate® mírně vyšší (u 1. pacienta o 10%, u 2. pacienta o 6% a u 3. pacienta o 5%).

V plasmatických hodnotách sodíku, bikarbonátu a fosforu nebyly s přechodem na koncentrát Citrasate® zjištěny žádné systematické změny – viz Tab. 3-4. Nárůst plasmatické

	HDF	plasmatické koncentrace Na, HCO ₃ a P před HDF (mol)					
		s A-konzentrátem s KO			s A-konzentrátem Citrasate®		
		Na	HCO ₃	P	Na	HCO ₃	P
pacient 1	1	141,1	20	3,25	137,2	20	4,08
	2	139,2	21	3,87	140,2	24	3,74
	3	140,2	21	3,78	138,9	24	3,62
pacient 2	1	137,8	19	1,44	136,5	17	1,73
	2	138,1	20	1,68	139,9	21	1,97
	3	137,5	21	1,42	136,4	21	1,71
pacient 3	1	135,7	21	1,92	135,5	23	1,80
	2	134,1	23	1,80	134,4	22	1,89
	3	136,9	23	1,81	134,0	24	1,97

Tab. 3-4 Plasmatické koncentrace Na, HCO₃ a P před HDF

koncentrace bikarbonátu během HDF byl sice u jednotlivých pacientů při použití koncentráту Citrasate® o 0,5 až 1 mmol/l vyšší než při použití A-koncentrátu s kyselinou octovou. Tato změna však byla zřejmě příliš malá na to, aby se projevila na nárůstu koncentrace před následující HDF. U pacienta č. 1 je zřejmá přetrvávající hyperfosfatémie. Za pozornost stojí interindividuálně rozdílná ale u jedince v čase stálá koncentrace sodíku, ukazující na existenci individuálního sodíkového „set-pointu“, využitelného k individualizaci koncentrace sodíku v dialyzačním roztoku u pacientů s vysokým mezidialyzačním příjmem vody (byť toto zjištění nijak nesouvisí s předmětem studie).

Náběry krve pro stanovení hodnoty aktivovaného srážecího času (ACT) vykazovaly relativně velkou chybovost, takže časovou konstantu K_e exponenciálního poklesu ACT nebylo možné při všech monitorovaných HDF stanovit. V Tab. 3-5 se zjištěnými hodnotami K_e jsou příslušná políčka proškrtuta. Srovnání bylo možné provést pouze u pacientů 1 a 3.

	Časová konstanta K_e exponenciálního poklesu ACT (hod ⁻¹)							
	HDF s A-koncentrátem s KO				HDF s A-koncentrátem Citrasate®			
	1. HDF	2. HDF	3. HDF	průměr	1. HDF	2. HDF	3. HDF	průměr
pac. 1	--	0,547	0,580	0,563	0,400	0,357	--	0,377
pac. 2	--	0,931	1,200	1,065	--	--	--	--
pac. 3	0,814	1,313	1,238	1,121	0,825	--	0,604	0,715

Tab. 3-5 Časová konstanta K_e exponenciálního poklesu aktivovaného srážecího času

U obou došlo k výraznému zkrácení časové konstanty, to znamená, že pokles srážecího času byl při použití koncentráту Citrasate® oproti HDF s klasickým A-koncentrátem výrazně pomalejší. Toto zjištění naznačuje, podobně jako tomu bylo u předchozí studie HD, možnost snížení dávek heparinu. To ale v rámci této krátké studie nebylo prakticky odzkoušeno.

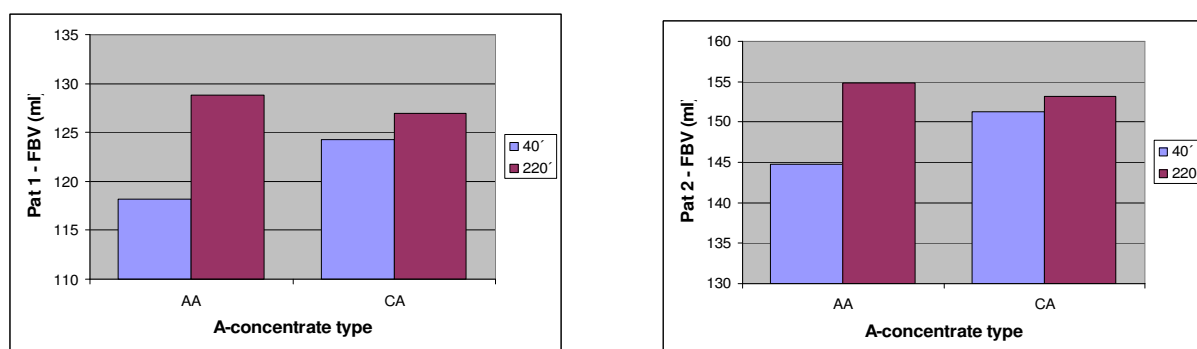
Kvůli zdržení ve zprovoznění speciálního komerčně nedostupného softwaru pro stanovení objemu krevní cesty (FBV) byla měření provedena jen u dvou pacientů. Z časových důvodů (náběry krve na začátku HDF) bylo první měření prováděno vždy až po 40 minutách HDF a druhé 20 minut před jejím koncem. Průměrné hodnoty vždy ze všech tří HDF s daným typem koncentrátu ukazují Tab. 3-6.

	pacient 1		pacient 2	
	HDF s A-konc. s kys. octovou	HDF s A-konc. Citrasate®	HDF s A-konc. s kys. octovou	HDF s A-konc. Citrasate®
FBV po 40' (ml)	118,2	124,3	148,3	151,3
FBV po 280' (ml)	128,8	127,0	165,0	153,2
Δ FBV (ml)	10,6	2,7	15,7	1,9

Tab. 3-6 Průměrné hodnoty FBV vždy ze 3 měřených HDF s jedním typem A-koncentrátu

Výsledky měření jsou poněkud překvapivé. Nebylo zjištěno očekávané snížení FBV ke konci HDF s klasickým A-koncentrátem oproti použití koncentrátu Citrasate®. Místo toho byly zjištěny snížené hodnoty FBV u HDF s klasickým A-koncentrátem po 40 minutách HDF. Ke konci HDF byly hodnoty FBV při použití obou typů A-koncentrátu prakticky stejné. Jediným vysvětlením tohoto nálezu je vyšší zanesení membrány na začátku HDF s klasickým A-koncentrátem, ke kterému při použití koncentrátu Citrasate® vůbec nedojde. Toto zanesení, které se v dalším průběhu HDF vyplaví, zřejmě vede ke snížení účinnosti HDF s klasickým

A-koncentrátem jen v její první části, které je však natolik významné, že se projeví posléze i na celkové hodnotě $spKt/V$ za celou HDF – viz Obr. 3-1.



Obr. 3-1 Objem krevní cesty dialyzátoru (FBV) měřený u pacienta 1 (levý obrázek) a pacienta 2 (pravý obrázek) ve 40. minutě HDF a ke konci HDF s klasickým (AA) koncentrátem a s koncentrátem Citrasate® (CA)

Posledním hodnoceným parametrem byla akumulace citrátu v plasmě během HDF, posuzovaná podle hodnot vápníkové mezery (Ca-gap), počítaných z rovnice [3-2]. Hodnoty Ca-gap při jednotlivých HDF s klasickým A- koncentrátem a s koncentrátem Citrasate® jsou uvedeny v Tab. 3-7. Rozdíly v hodnotě dosahované u každého z koncentrátů jsou velmi malé,

	Ca-gap							
	klasický A-koncentrát				koncentrát Citrasate®			
	HDF 1	HDF 2	HDF 3	průměr	HDF 1	HDF 2	HDF 3	průměr
Pacient 1	0,16	0,13	0,09	0,13	0,09	0,23	0,02	0,11
Pacient 2	0,30	0,17	0,13	0,20	0,36	0,09	0,23	0,23
Pacient 3	-0,04	-0,06	-0,18	-0,09	0,20	0,02	-0,01	0,07

Tab. 3-7 Hodnoty Ca-gap (u jednotlivých HDF a týdenní průměry) u jednotlivých pacientů při použití klasického A-koncentrátu a koncentrátu Citrasate®

a jednotlivé hodnoty vesměs nepřesáhly 0,2 mmol/l, kterou Gabutti (2009) zvolil za rozlišovací hranici pro rychlou a pomalou metabolizaci citrátu. Lze tedy uzavřít, že u žádného z pacientů k výrazné kumulaci citrátu v plasmě během HDF nedocházelo, veškerý z dialyzačního roztoku do plasmy nadifundovaný citrát stačil organismus pacientů průběžně metabolizovat.

3.5 Závěry:

- Použití koncentrátu Citrasate® při on-line HDF vede, stejně jako u HD, ke zvýšení hodnoty Kt/V v řádu jednotek procent (při nezměněných parametrech procedury).
- Výsledky měření objemu krevní cesty dialyzátoru v první hodině a ke konci HDF ukazují na to, že nárůst účinnosti při použití koncentrátu Citrasate® je způsoben tím, že během první hodiny procedury nedochází k přechodnému zanesení krevní cesty a s ní spojenému poklesu účinnosti.

- Stejně jako u HD, byl i u on-line HDF při použití koncentrátu Citrasate® zjištěn pomalejší pokles aktivovaného srážecího času, indikující možnost snížení dávek heparinu.
- Změna v odstraňovaném množství vápníku při přechodu na koncentrát Citrasate® je natolik malá, že se prakticky neprojeví na predialyzačních hodnotách celkového ani ionizovaného vápníku u hladin v dialyzátu 1,5 mmol/l, případně vyšších.
- Při použití hladiny vápníku v dialyzačním roztoku 1,25 mmol/l může být s přechodem na koncentrát Citrasate® vhodné tuto hladinu zvýšit na 1,5 mmol/l.
- Celotýdenní množství odstraněného fosforu bylo s koncentrátem Citrasate® u všech tří pacientů mírně vyšší než s klasickým A-koncentrátem, navýšení činilo v průměru 7,5%.
- Kumulace citrátu v plasmě během HDF s koncentrátem Citrasate®, která by ukazovala na nepoměr mezi přestupem citrátu z dialyzačního roztoku do krve a rychlostí jeho následné metabolizace, nebyla u žádného ze sledovaných pacientů zjištěna (všichni sledovaní pacienti měli normální jaterní funkce).

3.6 Addendum

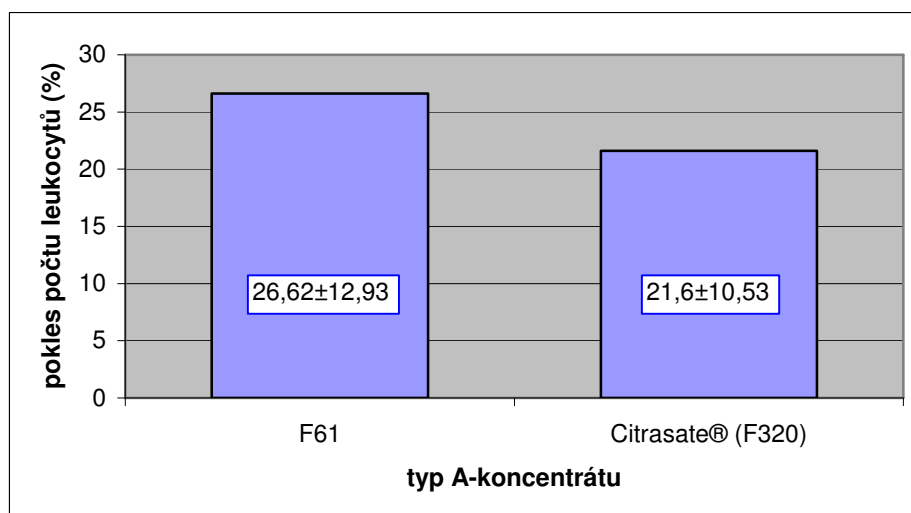
Nečekaný výsledek měření FBV při HDF naznačil, že při použití dialyzačního roztoku s obsahem kyseliny citrónové místo obvyklé kyseliny octové může modifikovat i reakce akutní fáze zodpovědné za adhezi některých buněčných složek a plasmatických proteinů na membráně. Při následném prověřování dostupné literatury byla skutečně nalezena starší práce, která dokladovala dopad infúze citrátu při regionální citrátové antikoagulaci na interakci mezi krví a dialyzační membránou (Böhler, 1996). Proto bylo přistoupeno k jednoduchému testu, jehož cílem bylo ověřit, zda k těmto jevům dochází i při použití dialyzačního roztoku s citrátem (a klasické antikoagulaci heparinem).

Materiál a metoda:

I když časové provedení testů spadá do studie použití koncentráту Citrasate® při on-line HDF, byl test pro dosažení větších počtů proveden u 12 pacientů na bikarbonátové hemodialýze, kteří dlouhodobě používají A-koncentrát typu Citrasate® (viz dále kap. 4). U těchto pacientů byl proveden test přechodného poklesu počtu leukocytů ve 20. minutě dialýzy oproti hodnotě před dialýzou. O tomto poklesu je známo, že je zprostředkovan aktivací komplementu, vyvolané bezprostředně po zahájení dialýzy stykem krve s membránou dialyzátoru. Měření bylo u všech pacientů provedeno při dvou dialýzách jako párové, při první dialýze byl použit A-koncentrát typu Citrasate®, při druhé klasický A-koncentrát (F-61) s kyselinou octovou. Všechny ostatní dialyzační parametry (typ dialyzátoru, průtok krve, režim a dávky heparinu) zůstaly při obou měřených dialýzách u daného pacienta vždy stejné.

Výsledky:

Vzhledem k tomu, že se ve všech případech jednalo o dialyzátor s umělohmotnou membránou, byly průměrné hodnoty přechodného poklesu počtu leukocytů relativně malé, ale mezi oběma typy A-koncentrátu statisticky významně odlišné – $26,6 \pm 12,9\%$ při použití klasického A-koncentrátu oproti $21,6 \pm 10,5\%$ při použití koncentrátu Citrasate® - viz Obr. 3-4. Ještě výraznější byly rozdíly, pokud se uvažoval medián ($29,1\%$ vůči $20,6\%$). Interindividuální rozdílnost, jak ukazují relativně vysoké hodnoty směrodatných odchylek, ale byla značná.



Obr. 3-4 Přechodný pokles počtu leukocytů ve 20. minutě HD (vyjádřen jako procento počtu na začátku HD), zobrazeny střední hodnoty z celé vyšetřované skupiny pacientů

I přesto je statistická významnost v průměrné hodnotě rozdílu vysoká – $p=0,02$. Použití koncentrátu Citrasate® tedy prokazatelně zlepšuje biokompatibilitu dialyzační procedury.

Diskuse:

Relativně velký rozptyl přechodného poklesu počtu leukocytů může být kromě interindividuálních rozdílů v míře aktivace komplementu dán také nejednotností v typu použitého dialyzátoru (odlišný materiál membrány) u jednotlivých pacientů. Sama odlišnost v míře poklesu počtu leukocytů je patrně důsledkem lokálního snížení hladiny ionizovaného vápníku v krevní cestě dialyzátoru v důsledku jeho přestupu do dialyzátu (snížená koncentrace ionizovaného vápníku v dialyzačním roztoku s kyselinou citrónovou – viz kap. 1 této zprávy), resp. vyvázání části ionizovaného vápníku v plasmě citrátovými ionty, difundujícími z dialyzátu do krve, které modifikuje průběh reakcí akutní fáze. Míru zastoupení obou jevů bude v budoucnu vhodné ověřit měřením koncentrace celkové a ionizovaného vápníku současně na vstupu i výstupu krevní i dialyzátové cesty dialyzátoru.

Závěry:

- Přechodný pokles počtu leukocytů v úvodní části dialýzy, který je hrubým ukazatelem míry aktivace komplementu, je při použití koncentrátu Citrasate® statisticky významně nižší než při použití klasického A-koncentrátu s kyselinou octovou.
- Toto zjištění je v souladu s předchozím nálezem menšímu poklesu objemu krevní cesty dialyzátoru během první hodiny HDF při použití koncentrátu Citrasate® a ukazuje na to, že vyšší účinnost HD / HDF při použití koncentrátu Citrasate® není pouze důsledkem menší tendence ke srážení krve v dialyzátoru, prokázané delšími časy ACT.

4. Dlouhodobé výsledky hemodialýzy s koncentrátem Citrasate®

4.1 Úvod

Po úspěšném ukončení krátkodobé úvodní studie s koncentrátem Citrasate® při klasické bikarbonátové hemodialýze a hemodiafiltraci bylo na koncentrát Citrasate® trvale převedeno 10 pacientů. Cílem této části studie bylo prodloužit dobu sledování a podívat se také na parametry, jejichž změny lze očekávat až v dlouhodobé perspektivě.

4.2 Pacienti a vyhodnocované parametry

Tab. 4-1 uvádí obecné charakteristiky a preskripční data BHD u pacientů dlouhodobě převedených na koncentrát Citrasate®. Hladina vápníku (navážka v koncentrátu) byla v původním klasickém koncentrátu, ze kterého byli pacienti převáděni, i v koncentrátu Citrasate®, na který byli převedeni, stejná. S výjimkou pacienta č. 2 byli všichni pacienti léčeni hemodialýzou, pacient č. 2 byl léčen postdiluční on-line hemodiafiltrací. Všechny použité typy hemodialyzátorů (low-flux i high-flux typy) měly umělohmotnou membránu.

pac.	pohlaví (M/F)	věk (roky)	doba RRT (měsíce)	čas HD (hod)	typ dialyzátoru	typ konc. s kys.oct.	typ konc. s kys.citr.
1	M	79	18	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
2	F	83	12	4	high-flux	BIK F-61	BIC 320
3	F	73	18	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
4	F	82	37	4	high-flux	BIK F-61	BIC 320
5	F	70	10	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
6	F	61	10	4	high-flux	BIK F-61	BIC 320
7	F	3	3	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
8	M	76	21	4	high-flux	BIK F-61	BIC 320
9	M	88	52	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
10	F	73	10	4	low-flux	BIK F-61	BIC 320
průměr		74,8	19,1	4			

Tab. 4-1 Charakteristika pacientů a dialyzační předpis

Během roku byly u sledovaných pacientů měřeny v dvouměsíčních odstupech standardní biochemické a hematologické parametry – predialyzační sérové hodnoty urey, kreatininu, celkového vápníku, fosfátů, alkalické fosfatázy, albuminu a celkové bílkoviny, CRP a hemoglobinu a sledováno dávkování heparinu a erytropoetinu. Z pre- a postdialyzační koncentrace urey byla vyhodnocována hodnota spKt/V (Daugirdasova rovnice II. generace). Sledované parametry byly za 4 poslední měření před přechodem na koncentrát Citrasate® zprůměrovány a tyto průměry následně porovnány proti průměrům za celoroční měření při používání koncentrátu Citrasate® - viz odst. 4.3 Výsledky.

U všech pacientů byla po 3 měsících paušálně snížena celková dávka heparinu o 10%, u části pacientů bylo po dalších 2 měsících provedeno další snížení dávky o 5-10%. Přijatelnost redukováné dávky byla kontrolována standardním hodnocením vzhledu dialyzátoru po ukončení každé dialýzy (hodnoceno třístupňovou stupnicí – „čistý“, „melírovaný“, „červený/sražený“).

4.3 Výsledky

Výsledky úspěšné redukce dávek heparinu potvrdily závěry z měření aktivovaného srážecího času v krátkodobé studii bikarbonátové hemodialýzy a následně i hemodiafiltrace o tom, že prodloužení srážecího času, resp. jeho pomalejší pokles během dialýzy by mělo redukcí dávky bez negativních dopadů umožnit.

V Tab. 4-2 jsou průměrné hodnoty vybraných biochemických a hematologických parametrů, zprůměrované za období před přehazením na koncentrát Citrasate® (horní část tabulky) a po přehazení (dolní část tabulky). Poslední řádek tabulky uvádí statistickou významnost rozdílu parametru v daném sloupci v obou obdobích.

období s klasickým A-koncentrátem (s kyselinou octovou)										
pacient	S-Alb g/l	S-Prt. g/l	S-Ca mmol/l	S-P mmol/l	S-Alp μkat/l	PTH pmol/ml	spKt/V	S-Hb g/l	preHD TV(kg)	EPO U/týd
1	39,6	70,2	2,26	1,86	3,448	12	1,55	124,2	72,0	3600
2	37,2	65,6	2,33	1,94	1,592	14,8	1,52	122,2	77,8	
3	41,2	66,6	2,36	1,85	1,168	19,6	1,56	117,4	73,3	3600
4	34,4	65,6	2,36	1,85	1,412	31,6	1,54	119,0	70,4	
5	36,6	69,6	2,40	2,25	0,774	4,6	1,37	113,6	85,2	8000
6	32,4	57,4	2,28	2,38	1,344	3,6	1,74	109,4	53,2	7200
7	34,3	65,3	2,16	2,12	1,175	12,8	1,24	104,3	100,2	4000
8	32,4	56,0	2,13	1,42	1,71	20,4	1,66	103,0	59,4	
9	37,2	62,2	2,00	1,90	1,47	40,2	1,39	108,0	84,3	
10	36,8	74,2	2,17	2,30	1,012	8,6	1,25	108,2	84,7	10800
průměr	36,21	65,27	2,24	1,99	1,51	16,82	1,48	112,9	76,0	5314
SD	2,887	5,598	0,126	0,284	0,735	11,64	0,167	7,48	13,60	3576
období s A-koncentrátem Citrasate®										
1	38,4	67,7	2,17	1,89	2,78	19,3	1,58	115,2	73,3	2167
2	33,5	59,5	2,23	1,93	1,70	30,3	1,66	99,2	79,7	
3	37,7	61,3	2,29	1,73	1,47	23,8	1,70	111,3	72,7	4333
4	33,2	61,3	2,45	2,43	1,43	32,2	1,62	106,3	72,0	
5	37,3	66,8	2,33	1,91	1,04	9,0	1,43	111,3	86,9	6667
6	36,2	61,5	2,27	2,34	1,31	8,8	1,77	107,7	54,3	9000
7	36,0	66,2	2,19	2,15	1,55	22,5	1,33	117,3	105,3	4000
8	32,7	55,5	2,03	1,88	1,87	28,0	1,61	106,8	57,7	
9	38,0	63,3	2,03	1,95	1,73	46,3	1,41	117,0	86,7	
10	37,0	70,3	2,12	1,85	0,85	16,3	1,24	119,8	85,1	9000
průměr	36,0	63,4	2,21	2,00	1,57	23,7	1,53	111,2	77,4	5024
SD	2,13	4,42	0,13	0,23	0,53	11,34	0,173	6,34	14,9	3397
stat. význ.	ns	0,05	0,01	ns	ns	0,001	0,01	ns	ns	ns

Tab. 4-2 Průměrné hodnoty vybraných biochemických a hematologických parametrů za období používání klasického A-koncentrátu (horní část tabulky) a koncentrátu Citrasate®

Přes redukcí dávek heparinu nedošlo k poklesu hodnoty spKt/V. Ta se naopak, v souladu s výsledky předchozích krátkodobých studií, mírně zvýšila (z 1,48 na 1,53).

Mírně, ale statisticky významně klesla hodnota celkového kalcia (v průměru celé skupiny z 2,24 na 2,21 mmol/l) a v možné souvislosti s tím vzrostla hladina PTH (ze 16,2; rozsah 12,0-40,2 na 23,7; rozsah 19,3-46,3 pmol/ml). Tento nárůst ale nepřekročil cílové rozmezí hodnot uváděných pro PTH v posledních mezinárodních doporučeních a přes statistickou významnost není klinicky významný.

Hladiny statistické významnosti dosáhl sice pokles celkové bílkoviny. U části pacientů ale došlo k jejímu nárůstu a rovněž průměrná pre- i postdialyzační hmotnost v celé skupině mírně vzrostla. Také hladina sérového albuminu neklesla.

Průměrná hladina hemoglobinu ani dávky erythropoetinu se s výměnou koncentráту nezměnily (mírný pokles nedosáhl hladiny statistické významnosti), ale ne všichni nemocní vyžadovali léčbu erythropoetinem a tak je sledování vlivu na tento parametr zatíženo malou velikostí souboru.

V době psaní této zprávy pokračují všichni pacienti v dialyzační léčbě i nadále s koncentrátem Citrasate®.

4.4 Závěry:

- Dlouhodobé sledování potvrdilo již dříve zjištěný mírný nárůst ve velikosti dialyzační dávky spKt/V po převedení pacientů na koncentráту Citrasate® .
- U všech sledovaných pacientů bylo možné snížit dávku heparinu o 10%, u menšího počtu o 20% bez negativního dopadu na vzhledové hodnocení dialyzátoru po dialýze.
- Hodnocení nutričních parametrů (sérový albumin, celková bílkovina, tělesná hmotnost) neukázalo používání koncentráту Citrasate® žádný jednoznačný vliv.
- Dlouhodobé použití koncentráту Citrasate® při zachování stejné navážky chloridu vápenatého vedlo pouze ke klinicky nevýznamnému snížení predialyzační koncentrace celkového kalcia (průměrovány hodnoty v celé sledované skupině)
- Na rozdíl od změn v koncentraci plasmatických bílkovin, které byly u části pacientů kladné a u části záporné, vykazala hladina PTH po přechodu na koncentrát Citrasate® mírný nárůst u všech pacientů.

5. Shrnutí a závěry

Tato kapitola je pouze sumarizací závěrů, uvedených již dříve v závěrečných odstavcích kapitol o dílčích studiích s koncentrátem Citrasate®, tj. ověření jeho použitelnosti na současných dialyzačních přístrojích nastavených pro použití klasického A-koncentrátu s kyselinou octovou (kap. 1), *in vivo* měřeních při bikarbonátové hemodialýze (kap. 2), *in vivo* měřeních při on-line hemodiafiltraci (kap. 3) a studii zaměřené na dopad dlouhodobého použití koncentrátu Citrasate® při hemodialýze (kap. 4), jmenovitě na ověření možnosti redukce dávek heparinu, na hladiny hemoglobinu, spotřebu preparátů stimulujících erytropoezu a parametrů krátkodobě vyhodnocovaných v předchozích dvou studiích.

- A-koncentrát okyselený kyselinou citrónovou místo dosud výhradně používané kyseliny octové lze použít na všech v ČR používaných typech hemodialyzačních přístrojů beze změny v jejich nastavení. Regulace koncentrace sodíku i bikarbonátu zůstává v plné míře zachována.
- Vytváření komplexů vápníkových a citrátových iontů v dialyzačním roztoku při použití koncentrátu Citrasate® snižuje hladinu ionizovaného vápníku o 0,4 až 0,5 mmol/l oproti použití klasického A-koncentrátu s kyselinou octovou. Současně se v důsledku nepřítomnosti reakce s hydrouhličitanem sodným při nezměněném nastavení přístroje mírně zvyšuje (o 1 – 1,5 mmol/l) koncentrace bikarbonátového iontu ve výsledném dialyzačním roztoku.
- Krátkodobé i dlouhodobé sledování pacientů používajících koncentrát Citrasate® shodně ukázalo navýšení dialyzační dávky Kt/V při hemodialýze i on-line hemodiafiltraci (při jinak shodných parametrech preskripce).
- Použití koncentrátu Citrasate® snižuje tendenci ke srážení v mimotělním obvodu, což bylo kvantitativně prokázáno vyhodnocením časové konstanty změn aktivovaného srážecího času.
- V souladu s tímto nálezem byla v dlouhodobém sledování prokázána možnost redukce dávek heparinu bez negativního dopadu na srážlivost krve v mimotělním obvodu.
- Přes tuto skutečnost ukazují testy chování objemu krevní cesty dialyzátoru (byť se jedná svým rozsahem o malý počet testů), že důvodem vyšší účinnosti dialýzy při použití koncentrátu Citrasate® není (nebo není pouze) nižší srážlivost, ale že dochází i pozitivním změnám v reakcích vyvolaných stykem krve s membránou dialyzátoru během první hodiny dialýzy.
- Dopad vytváření vápníko-citrátových komplexů s rezultujícím snížením koncentrace ionizovaného vápníku v dialyzačním roztoku na celkovou kalciovou bilanci dialýzy je při navázkách chloridu vápenatého odpovídajícím hladině vápníku v dialyzačním roztoku 1,5 a 1,75 mmol/l malý. Pouze při navázkách odpovídajících hladině 1,25 mmol/l může dojít k mírnému poklesu predialyzační plasmatické koncentrace kalcia. Mírné zvýšení hladiny PTH, zjištěné při dlouhodobém sledování pacientů používajících koncentrát Citrasate®, může mít svůj původ právě zde.
- Vzhledem k výsledkům měření objemu krevní cesty dialyzátoru (kap. 3) a přechodné leukocytopenie (Addenum kap. 3) bude žádoucí podrobněji prozkoumat dopad použití koncentrátu Citrasate® na obecné ukazatele biokompatibility.

6. Literatura

1. Ahmad S. et al: *Dialysate made from dry chemicals using citric acid increases dialysis dose*, *Am. J. Kidney Dis.*, 35, 2000, 493-499
2. Tu A et al: *Heparin-free hemodialysis with citrate-containing dialysate in intensive care patients*, *Dial Transpl*, 29, 2000, No 10, 620-623
3. Ahmad S et al: *Increased dialyzer reuse with citrate dialysate*, *Hemodial Int*, 9, 2005, 264-267
4. Ahmad S et al: *Heparin reduction with citrate dialysate*, *Nephrol Dial Transpl*, 21, 2006, Suppl 4 (abstract)
5. Lopot F: *Heparin kinetics and heparinisation modes in haemodialysis*, *Čas lék čes*, 19, 1980, č.3, 139-144 (in Czech, only abstract in English)
6. Lopot F, Kraatz G: *Automated whole blood clotting time in haemodialysis*, *Čas lék čes*, 122, 1983, č.34, 1034-1039 (in Czech, only abstract in English)
7. Krivitski NM, Kisluhkhin VV, Snyder JW et al: *In vivo measurement of hemodialyzer fiber bundle volume: Theory and validation*, *Kidney International*, 54, 1998, 1751-1758
8. Slavíčková E: *Measurement of the dialyzer blood path volume and its changes during haemodialysis*, BSc. Thesis, study programme „Health Care Technology“, 1st Medical Faculty, Charles University, Prague, 2005 (in Czech, only abstract in English)
9. Bauer E, Derfler K, Joukhadar C, Druml W: *Citrate Kinetics in Patients Receiving Long-Term Hemodialysis Therapy*, *Am J Kidney Diseases*, 46, 2005, No5, 903-907
10. Böhler J, Schollmeyer P, Dressel B, Dobos G, Hörl WH: *Reduction of Granulocyte Activation during Hemodialysis with Regional Citrate Anticoagulation: Dissociation of Complement Activation and Neutropenia from Neutrophil Degranulation*, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 7, 1996, 234-241
11. Gabutti L et al: *Citrate- versus acetate-based dialysate in bicarbonate haemodialysis: consequences on haemodynamics, coagulation, acid-base status, and electrolytes*, *BMC Nephrology: Open Access*, <http://www.biomedcentral.com/1471-2369/10/7>, 2009

7. Seznam prezentací a publikací pracoviště, zaměřených na použití koncentráту Citrasate®

Prezentace:

Lopot F, Švára F, Polakovič V: Citrátový dialyzační roztok – technické aspekty, 32. kongres České nefrologické společnosti, Olomouc, 19.-21. 6. 2008, poster

Lopot F, Švára F, Polakovič V: Bicarbonate haemodialysis using A-concentrate with citric acid, 19th Danube symposium on Nephrology, Krems, srpen 2008, přednáška

Lopot F: Use of citric acid containing A-concentrate in conventional haemodialysis machines, 37th EDTNA/ERCA Conference, Praha, září 2008, vyžádaná přednáška

Bieliková L, Krejčová M, Veverková J: Citrátový dialyzační roztok CITRASATE, Brodův nefrologický den, Poděbrady, červen 2009, přednáška

Lopot F, Polakovič V: Bicarbonate haemodialysis and haemodiafiltration using citric acid-containing A-concentrate, 9th International Nephrological Symposium: Metabolic changes in chronic renal failure, Tatranská Lomnica, 21. 10. 2009, vyžádaná přednáška

Publikovaná abstrakta a články

Lopot F: Use of citric acid containing A-concentrate in conventional haemodialysis machines, 37th EDTNA/ERCA Conference, Prague, September 2008, Abstract Book, p. 18 (abstract)

Lopot F, Švára F, Polakovič V: Bikarbonátová hemodialýza s A-koncentrátem s kyselinou citrónovou (Citrasate), Aktuality v nefrologii, 15, 2009, č. 2, 105-110

Polakovič V, Lopot F: Bicarbonate haemodialysis and haemodiafiltration using citric acid-containing A-concentrate, 9th International Nephrological Symposium: Metabolic changes in chronic renal failure, in Aktuality v nefrologii, 16, 2010, 13 (abstrakt)

Švára F, Polakovič V, Lopot F: Dlouhodobé použití A-koncentrátu Citrasate® při bikarbonátové hemodialýze a hemodiafiltraci, Český nefrologický kongres, Praha, červen 2010

Závěrečné bakalářské/diplomové práce

Jumr J: Bilanční studie celkového vápníku, ionizovaného vápníku a citrátu při on-line hemodiafiltraci s A-koncentrátem s kyselinou citronovou, závěrečná práce bakalářského studia oboru Zdravotnická technika, 1. LF UK, Praha, září 2009

8. Přílohy

prezentace a publikace z dialyzačního střediska VFN Praha – Strahov, uvedené v seznamu prezentací a publikací (kap. 7 této zprávy)