

ZÁPADOČESKÁ UNIVERZITA V PLZNI
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Taťána Bryndaková

FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví B5345

Tat'ána Bryndaková

Studijní obor: Zdravotní laborant 5345R020

Bakalářská práce

**POROVNÁNÍ CLEARANCE KREATININU U
6HODINOVÉHO A 24HODINOVÉHO SBĚRU MOČI**

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

PLZEŇ 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval/a samostatně a všechny použité prameny jsem uvedl/a v seznamu použitých zdrojů.

V Plzni dne 31. 3. 2022

.....

vlastnoruční podpis

Abstrakt

Příjmení a jméno: Bryndaková Taťána

Katedra: Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví

Název práce: Porovnání clearance kreatininu u 6hodinového a 24hodinového sběru moči

Vedoucí práce: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

Počet stran – číslované: 47

Počet stran – nečíslované: 23

Počet příloh: 2

Počet titulů použité literatury: 30

Klíčová slova: clearance kreatininu, glomerulární filtrace, sběr moči

Souhrn:

Cílem práce bylo porovnat clearance kreatininu u 6hodinového a 24hodinového sběru moči vybrané skupiny pacientů a zjistit, zda zkrácená doba sběru má vliv na výslednou hodnotu clearance kreatininu. Pro naši studii jsme zvolili 12 pacientů s onemocněním diabetes mellitus 1. typu. Od každého pacienta byl poskytnut jednorázový vzorek moči, moč sbíraná za období 6 hodin a 24 hodin a vzorek nesrážlivé krve. Z naměřených koncentrací S_{KREA} , $U_{\text{KREA}/6\text{ h}}$ a $U_{\text{KREA}/24\text{ h}}$ byly vypočteny hodnoty clearance kreatininu a eGFR dle $\text{CKD-EPI}_{\text{KREA}}$. Porovnáním výsledných hodnot $\text{Cl}_{6\text{ h}}$, $\text{Cl}_{24\text{ h}}$ a hodnot eGFR u jednotlivých pacientů jsme zjistili, že u 4 z 12 pacientů se hodnoty $\text{Cl}_{6\text{ h}}$ a $\text{Cl}_{24\text{ h}}$ mezi sebou výrazně lišily. Hodnoty $\text{Cl}_{6\text{ h}}$ a $\text{Cl}_{24\text{ h}}$ u ostatních pacientů nebyli nijak výrazně rozdílné.

Abstract

Surname and name: Bryndaková Tat'ána

Department: Department of rescue, diagnostic fields and public health

Title of thesis: Comparison of creatinine clearance in 6hour and 24hour urine collection

Consultant: MUDr. Pavel Brož, Ph.D.

Number of pages – numbered: 47

Number of pages – unnumbered: 23

Number of appendices: 2

Number of literature items used: 30

Keywords: creatinine clearance, glomerular filtration, urine collection

Summary:

The aim of the study was to compare creatinine clearance in 6hour and 24hour urine collection of a selected group of patients and to determine whether the shortened urine collection time affects the final value of creatinine clearance. For our study we selected a group of twelve patients with type 1 diabetes mellitus. A single urine sample, 6hour and 24hour urine, and a non-coagulating blood sample were provided from each patient. Creatinine clearance and eGFR according to CKD-EPI_{KREA} were calculated from the measured concentrations of S_{KREA}, U_{KREA/6 h} and U_{KREA/24 h}. By comparing the resulting values of Cl_{6 h}, Cl_{24 h} and eGFR values in individual patients, we found that in 4 out 12 patients the values of Cl_{6 h} and Cl_{24 h} differed significantly. The resulting values in the rest of patients were not significantly different.

Předmluva

Toto téma jsem si vybrala, protože mě obor klinické biochemie zajímá a baví. Chtěla jsem se dozvědět více o ledvinách a jejich funkcích, o možnostech funkčního vyšetření ledvin a v neposlední řadě mě zaujala problematika sběru moči.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat MUDr. Pavlovi Brožovi, Ph.D. za odborné vedení práce, poskytování užitečných a cenných rad, poskytnutí materiálních podkladů a za čas věnovaný této práci. Také bych chtěla panu doktoru Brožovi poděkovat za sjednání spolupráce s pacienty, kteří se účastnili rekondičního pobytu.

OBSAH

SEZNAM GRAFŮ	11
SEZNAM OBRÁZKŮ	12
SEZNAM TABULEK	13
SEZNAM ZKRATEK	14
ÚVOD.....	17
TEORETICKÁ ČÁST	18
1 LEDVINY.....	18
1.1 Anatomie	18
1.1.1 Nefron.....	18
1.1.2 Cévní zásobení ledvin.....	19
1.1.3 Juxtaglomerulární aparát	20
2 ZÁKLADNÍ FYZIOLOGICKÉ DĚJE V NEFRONU	21
2.1 Glomerulární filtrace	21
2.1.1 Lokální řízení glomerulární filtrace.....	21
2.1.2 Centrální regulační mechanismy	21
2.2 Tubulární procesy	22
2.2.1 Procesy v proximálním tubulu.....	22
2.2.2 Procesy v Henleově kličce.....	23
2.2.3 Procesy v distálním tubulu a sběracím kanálku.....	24
2.3 Lokální regulační mechanismy tubulárních procesů	24
2.4 Centrální regulační mechanismy tubulárních procesů.....	24
3 FUNKCE LEDVIN	26
3.1 Vylučovací funkce	26
3.2 Endokrinní funkce	26
3.2.1 Renin-angiotensin II-aldosteronový systém	26
3.2.2 Erytropoetin	28
3.2.3 Vitamin D	28
3.3 Úloha ledvin v regulaci krevního tlaku	29
3.4 Metabolické funkce	29
3.4.1 Metabolismus živin.....	29
3.5 Renální regulace acidobazické rovnováhy	30
3.5.1 Regulace vylučování bikarbonátu	30
3.5.2 Úloha ledvin ve vylučování H ⁺	30
4 VYŠETŘENÍ FUNKCE LEDVIN	32
4.1 Vyšetření glomerulární filtrace.....	32

4.2	Metody vyšetření glomerulární filtrace se sběrem moči	33
4.2.1	Renální clearance endogenního kreatininu	33
4.2.2	Clearance inulinu	34
4.2.3	Izotopové metody vyšetření glomerulární filtrace.....	34
4.3	Metody měření glomerulární filtrace bez sběru moči	34
4.3.1	Vyšetření koncentrace kreatininu v séru	34
4.3.2	Výpočtové metody pro odhad glomerulární filtrace.....	35
4.3.3	Výpočtové metody odhadu GF s využitím sérové koncentrace kreatininu	36
4.3.4	Výpočtové metody odhadu GF s využitím sérové koncentrace cystatinu C ...	37
4.4	Význam vyšetření glomerulární filtrace	38
4.5	Vyšetření tubulárních funkcí	39
4.5.1	Vyšetření koncentrační schopnosti ledvin	39
4.5.2	Vyšetření acidifikační činnosti ledvin	40
5	DIABETES MELLITUS A LEDVINY	41
5.1	Úvod	41
5.2	Diabetes mellitus 1. typu	41
5.3	Diabetes mellitus 2. typu	42
5.4	Latentní autoimunitní diabetes dospělých	42
5.5	Gestační diabetes mellitus	43
5.6	Změny ledvin při DM	43
	PRAKTICKÁ ČÁST	45
6	CÍL A ÚKOLY PRÁCE	45
6.1	Hlavní cíl	45
7	VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY	46
8	CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU	47
9	METODIKA PRÁCE	49
9.1	Sběr moči za období 6 hodin a 24 hodin	49
9.2	Odběr biologického materiálu	50
9.3	Princip stanovení kreatininu	51
9.3.1	Referenční meze	52
10	ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ	53
10.1	Popisná statistika základního souboru	53
10.2	Výpočet clearance kreatininu	54
10.3	Vypočítané hodnoty	55
10.4	Statistické zhodnocení výsledků.....	59
	DISKUZE	62
	ZÁVĚR.....	65

SEZNAM LITERATURY	66
SEZNAM PŘÍLOH	69
PŘÍLOHY	70
Příloha A – Sběr moči pro clearance kreatinu	70
Příloha B – Povolení sběru dat ve FN	71

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 Relativní zastoupení mužů a žen ve vybrané skupině pacientů	48
Graf 2 Rozložení vypočítaných hodnot clearance kreatininu a eGFR jednotlivých pacientů	58
Graf 3 Porovnání vypočítaných hodnot $Cl_{6\text{ h}}$ a $Cl_{24\text{ h}}$ pacientů s hodnotami referenčních mezí s ohledem na věk a pohlaví pacientů	58
Graf 4 Porovnání vypočtených hodnot eGFR dle CKD-EPI _{KREA} s referenčními hodnotami	59
Graf 5 Boxplot odvozený z Wilcoxonova testu pro párové vzorky	60

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Schéma nefronu.....	19
Obrázek 2 Schéma renin-angiotensi-aldosteronového systému	26
Obrázek 3 Odběrová zkumavka Vacuette pro získání krevního séra	50
Obrázek 4 Močová zkumavka Vacuette s kulatým dnem	50
Obrázek 5 Sběrná nádoba na moč o objemu 3L	51

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Rovnice CKD-EPI z roku 2009 (S_{kr}).....	37
Tabulka 2 Rovnice CKD-EPI (S_{cyst}) pro odhad glomerulární filtrace.....	38
Tabulka 3 Kombinovaná rovnice CKD-EPI pro kreatinin a cystatin C z roku 2012	38
Tabulka 4 Kategorie CKD podle hodnot GF u dospělé populace	39
Tabulka 5 Kategorie CKD podle albuminurie a porovnání s proteinurií	39
Tabulka 6 Referenční hodnoty osmolality moči při DDAVP testu.....	40
Tabulka 7 Základní údaje pacientů – pohlaví, věk, hmotnost a výška.....	47
Tabulka 8 Základní charakteristika sledovaného souboru – medián, průměr, minimum a maximum věku, výšky a hmotnosti pacientů	48
Tabulka 9 Referenční meze koncentrace kreatininu v séru, v jednorázovém vzorku moči a v moči sbírané za 24 hodin	52
Tabulka 10 Objemy sbírané moči za období 6 hodin a 24 hodin jednotlivých pacientů, naměřené hodnoty kreatininu v séru a v moči.....	53
Tabulka 11 Medián, minimum, maximum, dolní kvartil, horní kvartil a interkvartilové rozpětí stanovovaných analytů u 12 pacientů.....	54
Tabulka 12 Vzorec pro výpočet clearance kreatininu, skutečného povrchu těla pacienta a korigované hodnoty GF.....	54
Tabulka 13 Rovnice CKD-EPI pro výpočet GF jednorázového vzorku	55
Tabulka 14 Referenční meze pro clearance kreatininu	56
Tabulka 15 Referenční hodnoty pro eGFR dle CKD-EPI _{KREA}	56
Tabulka 16 Vypočítané hodnoty clearance kreatininu ze 6hodinového a 24hodinového sběru moči a odhad GF dle rovnice CKD-EPI _{KREA} pro jednorázový vzorek moči.....	57
Tabulka 17 Wilcoxonův test pro párové vzorky	60

SEZNAM ZKRATEK

ACE	Angiotensin Konvertující Enzym
ADH.....	Antidiuretický Hormon
AGE.....	Produkty Neenzymatické Glykace
AMK.....	Aminokyselina
ANG I	Angiotenzin I
ANG II.....	Angiotenzin II
ANG I	Angiotenzin I
AT ₁ R.....	Angiotenzin I Receptor
AT ₂ R.....	Angiotenzin II Receptor
CKD.....	Chronic Kidney Disease
Cl _{6h}	Clearance Kreatininu za 6hodin
Cl _{24h}	Clearance Kreatininu za 24hodin
DM.....	Diabetes Mellitus
DM1.....	Diabetes Mellitus 1.typu
DM2.....	Diabetes Mellitus 2.typu
ECT.....	Extracelulární Tekutina
eGFR.....	Estimated Glomerular Filtration Rate
EPO.....	Erythropoetin
FN	Fakultní Nemocnice
GADA.....	Protilátky Proti Kyselině Glutamové
GDM.....	Gestační Diabetes Mellitus
GF	Glomerulární Filtrace

IQR	Interkvartilové Rozmezí
KD	Kostní Dřeň
LADA	Latentní Autoimunitní Diabetes Dospělých
MK.....	Mastné Kyseliny
oGTT	Orální Glukózový Toleranční Test
PGE ₂	Prostaglandín E ₂
PGI ₂	Prostaglandín I ₂
RAAS.....	Systém Renin-Angiotenzin-Aldosteron
S _{cyst}	Koncentrace Cystatinu C V Séru
S _{kr}	Koncentrace Kreatininu V Séru
S _{urea}	Koncentrace Močoviny V Séru
TK.....	Krevní Tlak
U _{kr}	Koncentrace Kreatininu V Moči
ÚKBH.....	Ústav Klinické Biochemie A Hematologie
V _{moči}	Objem Moči

ÚVOD

Tato bakalářská práce je zaměřena na porovnání výsledných hodnot renální clearance endogenního kreatininu 6hodinového a 24hodinového sběru moči u vybrané skupiny pacientů. Pro tuto bakalářskou práci byla vybraná skupina pacientů s onemocněním Diabetes mellitus.

Renální clearance určité látky je definována jako objem plazmy, který za časovou jednotku ledvinami zcela očištěn od této látky. Clearance dané látky odpovídá glomerulární filtraci jen v případě kdy: daná látka není metabolizována, je volně filtrována v glomerulech, je vylučována z organismu pouze glomerulární filtrací a nepodléhá zpětné resorpci v renálních tubulech. V klinické praxi k odhadu glomerulární filtrace se nejčastěji používá měření renální clearance endogenního kreatininu. Kreatinin je látka, která vzniká ve svalech při metabolismu kreatinu. Pro odhad glomerulární filtrace se používá clearance endogenního kreatininu proto, že kreatinin je volně filtrován v glomerulech a do moči je vylučován z větší části glomerulární filtrací. Je však známo, že kreatinin se v malé míře do moči vylučuje i prostřednictvím mechanismu tubulární sekrece. Z uvedeného vyplývá skutečnost, že clearance kreatininu systematicky nadhodnocuje skutečnou hodnotu glomerulární filtrace.

Tato bakalářská práce je rozdělena na dvě části, a to teoretickou část a praktickou část. Teoretická část práce se zabývá všeobecným popisem a charakteristikou ledvin. První kapitola se věnuje anatomii ledvin a popisu glomerulární a tubulární části ledvin. Následující kapitola se věnuje popisu základních glomerulárních a tubulárních procesů. V další kapitole jsou popsány důležité funkce, které ledviny zastávají v lidském organismu. Další úsek teoretické části se zabývá možnostmi funkčního vyšetření glomerulárních i tubulárních funkcí. Poslední kapitola se věnuje vztahu ledvin a Diabetu mellitu. Praktická část popisuje metody stanovení sérového kreatininu a kreatininu v moči a obsahuje výpočty clearance kreatininu z naměřených jednot u jednotlivých pacientů. Výsledné hodnoty jsou zpracovány ve výsledkových tabulkách a grafech.

TEORETICKÁ ČÁST

1 LEDVINY

1.1 Anatomie

Ledviny jsou párový orgán vylučovací soustavy a jsou umístěny v horní části dutiny břišní po stranách bederní páteře v tzv. retroperitoneálním prostoru. Mají charakteristický fazolovitý tvar. Ledvina dospělého člověka je průměrně 6–7 cm široká, 9–12 cm dlouhá a 3 cm hluboká a váží kolem 150 g. Vnitřní okraj ledviny tvoří zářez (*hilus*), ve kterém do ledviny vstupují krevní cévy, nervy a vystupují močové cesty a mízní cévy. (Haluzíková a Břegová 2019)

Jedná se o tubulózní exkretční žlázu, která je zaobalená tenkým vazivovým pouzdrém. Na řezu ledvinou lze rozpoznat funkční tkáň, která je tvořena řídkým vazivem (*intersticiem*) prostoupeným cévami a nefrony. Parenchym ledviny se dělí na zevní a vnitřní část. Zevní část, tj. kůra (*kortex*) je světlejší a jemně granulární. Vnitřní část, tj. dřev (*medulla*) je rozdělena do 6–15 jehlancových útvarů – tzv. *pyramid*, jejichž báze jsou převráceny ke kůře, a zaoblené vrcholy (*papily*) směřují k hilu ledviny. Na vrcholcích papil ústí drobnými otvůrkami sběrací kanálky. Vrcholy pyramid obemykají kalichy ledvin (*calices renales*). Dřevové pyramidy s přilehlými pásky kůry tvoří ledvinové laloky. Vlastní filtrační aparát ledvin je uložen v kůře ledvin. (Dylevský 2009)

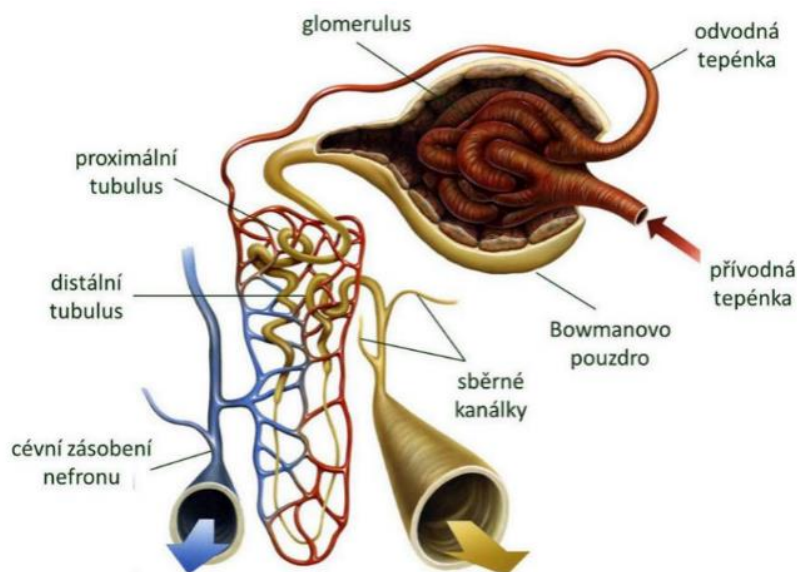
1.1.1 Nefron

Nefron je základní funkční jednotkou ledvinové tkáně. Skládá se z glomerulu a tubulárního systému. Každá lidská ledvina se skládá z 800 000–1 200 000 nefronů. Glomerulus (*Malpighiho* tělísko) se skládá z klubička kapilár, které vzniká větvením přírodní tepénky a dvojitého Bowmanova pouzdra. Z Bowmanova pouzdra pak dále pokračuje proximální tubulus (stočený kanálek I. řádu). Pokračováním proximálního tubulu je Henleova klička se sestupným a vzestupným raménkem. Henleova klička pak přechází v distální tubulus (stočený kanálek II. řádu) a ten následně přechází do sběrného kanálku. (Haluzíková a Břegová 2019)

Rozlišujeme dva druhy nefronů, a to korové a juxtamedulární. Korové nefrony představují převážnou většinu celkového počtu nefronů. Glomeruly korových nefronů jsou uloženy v kůře ledviny a jejich Henleovy kličky jsou krátké a dosahují pouze do zevní

zóny dřeně. Juxtamedulární nefrony jsou oproti korovým nefronům zastoupeny minimálně. Jejich glomeruly se nachází na rozhraní kůry a dřeně ledvin. Henleovy kličky juxtamedulárních nefronů zasahují hluboko do dřeně. (Tesař a Viklický 2015)

Obrázek 1 Schéma nefronu



Zdroj: <https://www.vovcr.cz/odz/zdrav/189/page52.html>

1.1.2 Cévní zásobení ledvin

Každá ledvina je zásoběná renální tepnou (*a. renalis*), která se postupně dělí na menší větve, až vznikají aferentní arterioly. Z každé aferentní arterioly odstupují uvnitř Bowmanova pouzdra kapilární kličky, které tvoří glomerulus. Z kapilárních kliček se pak tvoří eferentní arterioly. Eferentní arterioly vystupují z glomerulů a následně se rozpadají na peritubulární kapiláry, které obklopují renální tubuly. Uspořádání peritubulárních kapilár se liší podle toho, jaké nefrony obklopují:

1. Peritubulární kapiláry obklopující korové nefrony tvoří krátkou ale bohatou síť. Charakteristickým rysem těchto kapilár je to, že obklopují jiné nefrony, než ze kterých vznikly. Korovými kapilárami protéká zhruba 90 % krve odcházející z glomerulu.
2. Eferentní arterioly juxtamedulárních nefronů tvoří *vasa recta* obklopující dlouhé Henleovy kličky těchto nefronů ve dření ledviny. Těmito kapilárami protéká pouze 5–10 % které odcházející z glomerulu. (Tesař a Viklický 2015)

1.1.3 Juxtaglomerulární aparát

Juxtaglomerulární aparát nefronu je zvláštní strukturou, která se nachází v místě kontaktu aferentní arterioly a počátku distálního tubulu téhož nefronu. Zajišťuje tubuloglomerulární zpětnou vazbu a je zodpovědný za funkci systému renin-angiotensin. Tato struktura se skládá ze tří typů buněk:

1. *granulárních buněk*, jedná se o diferencované buňky hladkých svalů aferentních arterioli;
2. *extraglomerulárních mezangiálních buněk*;
3. *buněk macula densa*, jedná se o buňky tlusté části sestupného raménka Henleovy kličky a počátečního segmentu distálního tubulu. (Tesař a Viklický 2015)

2 ZÁKLADNÍ FYZIOLOGICKÉ DĚJE V NEFRONU

2.1 Glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace je nejdůležitějším ukazatelem globální funkce ledvin. Jedná se o množství plazmy, které se profiltruje glomeruly za jednotku času a nejčastěji se udává v mililitrech za sekundu [ml/s]. Za fyziologických podmínek je glomerulární filtrace obou ledvin 180 litrů/den. Velikost GF je především závislá na ultrafiltračním koeficientu (K_f) a ten je závislý na hydraulické permeabilitě, celkové filtrační ploše kapilár glomerulu a na čistém filtračním tlaku. (Kittnar 2020)

Glomerulární filtrace je poháněná hydrostatickým tlakem v kapilárách glomerulu (P_{GC}), proti němuž působí hydrostatický tlak v Bowmanově pouzdře (P_{BS}) a onkotický tlak v glomerulárních kapilárách (π_{GC}). Za fyziologických podmínek je filtrace proteinů skrze stěnu glomerulárních kapilár fakticky nulová. Z toho vyplývá, že i onkotický tlak v Bowmanově pouzdře je rovněž roven nule, a tudíž nemá významnou roli v regulaci GF. Výši GF můžeme vyjádřit rovnicí: $GF = K_f \times (P_{GC} - P_{BS} - \pi_{GC})$ (Tesař a Viklický 2015)

2.1.1 Lokální řízení glomerulární filtrace

Myogenní autoregulace – udržuje stálý průtok krve ledvinami. Při zvýšeném tlaku dochází ke kontrakci cévy a tím ke zvýšení napětí na stěně kapilár. V důsledku stimulace baroreceptorů dochází k vazokonstrikci *vas afferens*. Průtok krve cévou se tak normalizuje. Při opačné situaci snížení krevního tlaku způsobí vazodilataci cévy s následným zvýšením jejího průtoku. (Tesař a Viklický 2015)

Tubuloglomerulární zpětná vazba – při poklesu GF zachytí macula densa, která je součástí juxtaglomerulárního aparátu, snížený průtok tubulární tekutiny a snížené množství Na^+ a vyše parakrinně chemický signál (oxid dusnatý). Tento signál vyvolá vazodilataci *vas afferens*, což vede ke zvýšení hydrostatického tlaku a k obnově fyziologické úrovně GF. (Langmeier 2009)

2.1.2 Centrální regulační mechanismy

Neuromediátor sympatiku noradrenalin vyvolává především ve *vas afferens* vazokonstrikci a tím sníží průtok krve ledvinou, a tedy i GF. Působení noradrenalinu se uplatňuje zejména při stresových situacích, včetně bolesti a krvácení. Mechanismus působení noradrenalinu je podobný mechanismu působení hormonu dřeně nadledvin adrenalinu. (Langmeier 2009)

Angiotensin II, který je účinnou složkou renin-angiotensinového systému způsobuje silnou vasokonstrikci jak ve *vas afferens*, tak i ve *vas efferens*, a to přes angiotensinové receptory AT₁. (Vítovec et al. 2017)

Prostaglandiny (zejména PGE₂ a PGI₂) jsou sloučeniny odvozené od kyseliny arachidonové (eikosanoidy). Jedná se o tkáňové hormony produkované v ledvinách, které působí na *vas afferens* i *efferens* a zároveň tlumí účinky sympatiku a angiotensinu II. (Teplan 2006)

2.2 Tubulární procesy

Do tubulárního systému je denně odfiltrováno okolo 180 litru ultrafiltrátu krevní plazmy. Z těla se však vyloučí močí za 24 hodin asi jen 1,5 litru definitivní moči. Důvodem je reabsorpce více než 99 % ultrafiltrátu v tubulárním systému. Procesy v tubulárním systému mají klíčovou úlohu v regulaci objemu, osmolarity, složení a pH tělesných tekutin. (Kittnar 2020)

2.2.1 Procesy v proximálním tubulu

Hlavním úkolem proximálního tubulu je zajistit tzv. obligátní (povinnou) resorpci. Proximální tubuly normálně reabsorbují asi 67 % glomerulárního filtrátu a toto procento je udržováno bez ohledu na hydrataci organismu. Resorpce vody a solutů v proximálním tubulu je umožněna díky mechanismům, které jsou založeny na funkci Na⁺-K⁺-ATPázové pumpy. V první polovině proximálního tubulu dochází k reabsorpci Na⁺ iontů, ty jsou pak transportovány spolu s HCO₃⁻ a s řadou organických látek. Podstatou tohoto transportu je symport Na⁺ iontů s organickými látkami a antiport Na⁺ iontu s vodíkovými ionty. Vodíkové ionty, které se vymění na apikální straně membrány za Na⁺ ionty, následně reagují s ionty HCO₃⁻ obsaženými v tubulární tekutině za vzniku kyseliny uhličitě. Kyselinu uhličitou pak štěpí enzym karboanhydráza na produkty CO₂ a H₂O. Voda spolu s oxidem uhličitým volně difundují přes apikální membránu do epitelových buněk tubulu, kde jsou pomocí karboanhydrázy přeměněny zpět na H⁺ ionty a ionty HCO₃⁻. Vodíkové ionty se vrací přes antiport zpět do tubulární tekutiny, kdežto bikarbonátové ionty přecházejí do intersticia. Organické látky jako např. AMK a glukóza se kompletně vstřebají v této části tubulárního systému a v ostatních úsecích nefronu se již v tubulární tekutině nevyskytují. Jestliže však dojde k překročení jejich transportní kapacity v první polovině proximálního tubulu v důsledku jejich vysoké koncentrace v krevní plazmě,

nedochází k jejich absorpci a objevují se pak v definitivní moči. Takové látky se pak označují jako prahové. (Kittnar 2020)

„V druhé polovině proximálního tubulu jsou Na^+ ionty transportovány spolu s ionty Cl^- , které prostupují do intersticia díky své vysoké koncentraci snadno jak paracelulárně, tak transcelulárně. Při transcelulární cestě pak Cl^- ionty opouštějí buňku na bazolaterální straně KCl symportem.“ (Kittnar 2020 str. 405)

V proximálním tubulu mimo jiné dochází i k resorpci bílkovin. Díky svému negativnímu náboji bílkoviny procházejí filtrační bariérou jen velmi obtížně, avšak při obrovském objemu glomerulárního filtrátu je množství filtrovaných bílkovin za den přeci jen významné. Jedná se především o peptidové hormony, malé proteiny, a dokonce i malé množství albuminu. K reabsorpci proteinů dochází částečně prostřednictvím endocytózy. Některé proteiny jsou však štěpeny proteolytickými enzymy a resorbovány jako AMK. Díky těmto funkcím proximálního tubulu se v definitivní moči fyziologicky nevyskytují žádné bílkoviny. (Kittnar 2020)

2.2.2 Procesy v Henleově kličce

V tomto úseku tubulárního systému ledvin dochází k reabsorpci asi 25 % filtrovaných solutů (Na^+ , Cl^- , K^+ a také Ca^{2+} , Mg^{2+} a HCO_3^-). K reabsorpci solutů dochází v tlustém segmentu vzestupného raménka Henleovy kličky. Na druhou stranu v Henleově kličce dochází ke vstřebání asi jen 15 % filtrované vody, a to konkrétně jen v sestupném raménku. Schopnost ledvin zahušťovat nebo naopak zředovat moč je založená právě na oddělení vstřebávání solutů od vstřebávání vody. Mechanismy vstřebávání solutů a vody jsou založeny na funkci Na^+ - K^+ -ATPázové pumpy na bazolaterální membráně. (Kittnar 2020)

Transport resorbovaných sodíkových iontů je založen na symportu iontů Na^+ s K^+ a Cl^- a na antiportu Na^+ iontu s vodíkovými ionty. Symportní mechanismus, díky kterému se přes apikální membránu dostane vždy jeden iont Na^+ s iontem K^+ a dvěma ionty Cl^- , využívá energii uvolněnou při přestupu iontů Na^+ a Cl^- ve směru jejich koncentračního spádu k transportu K^+ iontů proti jejich koncentračnímu spádu do buňky. Část K^+ iontů opouští buňku symportem s Cl^- , druhá část se však vrací zpět do tubulární tekutiny pomocí únikových kanálů. Tím vzniká elektrická nerovnováha mezi intersticiem a tubulární tekutinou, protože v tubulární tekutině zůstává nadbytek kladně nabitých iontů (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} a Mg^{2+}). (Kittnar 2020)

2.2.3 Procesy v distálním tubulu a sběracím kanálku

V těchto dvou úsecích tubulárního systému ledviny probíhá vstřebání asi 7 % solutů, jedná se zejména o NaCl. Dochází zde také k resorpci proměnného množství vody (přibližně 17 % filtrované vody), které je určováno plazmatickou koncentrací antidiuretického hormonu. Distální tubulus a sběrací kanálek představují místo konečné úpravy moči a dále jsou významné pro udržení stálého pH, stálé osmolarity ECT a stálého iontového složení ECT. (Kittnar 2020)

Ve stočené části distálního tubulu (první část distálního tubulu) dochází ke vstřebávání Na^+ iontů spolu s Cl^- ionty, která je založená na funkci $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPázové}$ pumpy, v důsledku čehož dochází k dalšímu poklesu osmolarity tubulární tekutiny. Tato skutečnost je dána tím, že stejně jako tlustý segment vzestupného raménka Henleovy kličky, je i stočená část distálního tubulu nepropustná pro vodu. (Kittnar 2020)

2.3 Lokální regulační mechanismy tubulárních procesů

Tyto regulační mechanismy se uplatňují v proximálním tubulu a jejich hlavní úlohou je uzpůsobit množství vstřebaného objemu úrovni GF tak, aby se zachovalo přibližně 67 % resorbovaného objemu v této části tubulárního systému ledvin. K tomu využívají ledviny mechanismů Starlingových sil a glomerulotubulární rovnováhy. (Kittnar 2020)

Starlingovy síly mají velký vliv na výměnu látek mezi peritubulárním intersticiem a peritubulárními kapilárami. Uplatňují se při změnách onkotického tlaku plazmatických bílkovin v závislosti na úrovni GF. Mechanismus působení Starlingových sil je podporován glomerulotubulární rovnováhou, která je založena na principu úpravy vstřebávání v proximálních tubulech ledvin úměrně glomerulární filtraci. (Kittnar 2020)

2.4 Centrální regulační mechanismy tubulárních procesů

Tubulární procesy jsou také ovlivněny působením sympatiku a některých hormonů. Klíčový je vliv antidiuretického hormonu, aldosteronu. Dále se pak v menší míře uplatňují angiotenzin II, atriální natriuretický peptid, adrenalinu, dopamin a parathormon. (Kittnar 2020)

ADH je nejvýznamnější hormon regulující vodní bilanci v organismu působící zejména na distální tubulus a sběrací kanálek. ADH pomocí navázání na specifický tubulární receptor, který se nachází na bazolaterální membráně distálního tubulu a

sběracího kanálku, zvyšuje počet otevřených akvaporinů v apikální membráně. Pokud není AHD přítomen, jsou akvaporiny uzavřené a apikální membrána buněk distálního tubulu a sběracího kanálku je pro vodu nepropustná. (Kittnar 2020)

Aldosteron působí zejména na distální tubuly ledvin a to tak, že podporuje reabsorpci Na^+ iontů a zároveň i zvýšené vylučování K^+ , H^+ a NH_4^+ iontů. Aldosteron se v hlavních buňkách spojovacího segmentu distálního tubulu a sběracího kanálku váže na cytosolový receptor a tím aktivuje současně otevření sodných i draselných kanálů v apikální membráně. Zároveň tato vazba způsobuje stimulaci syntézy Na^+ - K^+ -ATPázy a tím i čerpací kapacitu Na^+ - K^+ -ATPázových pump. (Langmeier 2009)

3 FUNKCE LEDVIN

3.1 Vylučovací funkce

Tato funkce ledvin spočívá ve vylučování látek, kterých je v organismu nadbytek do moči. Mezi tyto látky patří konečné produkty metabolismu, jako je kyselina močová, močovina a kreatinin. Močí se také vylučuje urobilinogen, což je degradační produkt bilirubinu. Ledvinami se také vylučují látky cizorodé, které se do organismu dostaly například jako léky. (Rokyta 2015)

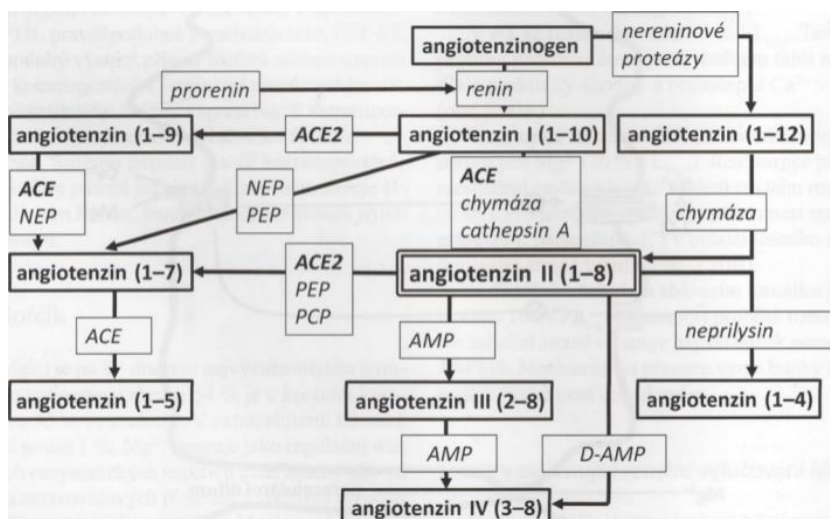
3.2 Endokrinní funkce

Ledviny mají schopnost produkovat biologicky aktivní látky, jako jsou hormony renin a erythropoetin. Zároveň v ledvinách probíhá závěrečná přeměna vitamínu D na jeho účinnou formu kalcitriol, jehož funkcí je podpora vstřebávání vápníku a fosforu ve střevě a řízení metabolismu vápníku v kostech. (Rokyta 2015)

3.2.1 Renin-angiotensin II-aldosteronový systém

Jedná se o jeden z nejúčinnějších regulátorů TK ve střednědobém až dlouhodobém horizontu (desítky minut až dny). O rychlosti a množství vzniklých produktů této kaskády rozhodují renin a angiotensin konvertující enzym (ACE). (Tesař a Viklický 2015)

Obrázek 2 Schéma renin-angiotensin-aldosteronového systému



Zdroj: (Tesař a Viklický 2015)

Renin

Jedná se o kyselou proteázu, která vzniká v granulárních buňkách juxtaglomerulárního aparátu ledvin ze svého prekursoru proreninu. Vzniká jako odpověď na snížený příjem NaCl, snížený TK a také snížený objem extracelulární tekutiny. Mezi přímé podněty k tvorbě reninu patří signály z macula densa, aktivace intrarenálního baroreceptorového mechanismu a signály ze sympatického nervového systému. Hlavní úlohou reninu v RAAS je štěpení angiotensinogenu na angiotensin I, ze kterého pak vzniká hlavní účinná molekula celé kaskády, angiotensin II. (Tesař a Viklický 2015)

Angiotensin konvertující enzym (ACE)

Jedná se o nescifickou dipeptidylkarboxypeptidázu, jejíž úloha spočívá ve štěpení řady peptidů včetně ANG I. ACE se vyskytuje v mozku, ledvinách, játrech, v endoteliálních buňkách plicních cév, slezině atd. Z toho vyplývá, že ANG II se může tvořit lokálně v různých orgánech zcela nezávisle na systémové tvorbě ANG II. V současné době jsou známy i alternativní cesty vzniku ANG II, a to pomocí chymázy a chymostatin senzitivní ANG II-generujícího enzymu (CAGE). (Tesař a Viklický 2015)

Angiotensin I a II

Prekurzorem angiotensinu I je angiotensinogen, jehož syntéza probíhá převážně v játrech. Přeměnu angiotensinogenu na málo účinný dekaeptid angiotensin I katalyzuje renin. Angiotensin I je následně působením ACE štěpen na angiotensin II. Účinky ANG II jsou v organismu zprostředkovávány pomocí dvou typů receptorů AT₁R a AT₂R. V ledvinách působí ANG II na:

1. **tubulární transport** – ANG II stimuluje Na⁺-H⁺ výměník a navázáním na AT₁R v bazolaterální membráně stimuluje Na⁺-HCO₃⁻ kotransport.
2. **tubuloglomerulární zpětnou vazbu (TGF)** – při zvýšené aktivitě RAAS se výrazně zvyšuje citlivost TGF.
3. **renální hemodynamiku** – ANG II způsobuje vazokonstrikci aferentní arterioly, což vede k poklesu hydrostatického tlaku a k následnému poklesu GF. Zvýšená produkce ANG II může zároveň výrazně snížit vylučování sodíku a vody do moče. (Tesař a Viklický 2015)

Aldosteron

Jedná se o hormon steroidní povahy, který se tvoří v kůře nadledvin. Stimulátorem produkce aldosteronu je angiotensin II. Hlavní funkcí tohoto mineralokortikoidu je stimulace zpětné resorpce Na^+ a exkrece K^+ v distálním tubulu. (Mourek 2012)

3.2.2 Erytropoetin

Jedná se o glykoproteinový hormon, který se u dospělých osob syntetizuje z 90 % v intersticiálních buňkách ledvin. Jeho hlavní funkcí je regulace erythropoézy. EPO působí prostřednictvím selektivních cytokinových receptorů, které jsou umístěny na progenitorových buňkách v kostní dřeni. Jeho zvýšená sekrece a následné spuštění erythropoézy v KD je odpovědí na tkáňovou hypoxii, která může vznikat například v důsledku anémie. (Martínková 2018)

EPO zvyšuje erythropoézu třemi hlavními mechanismy:

1. omezuje apoptózu a tím zvyšuje přežití erytrocytových prekurzorů
2. aktivně navozuje mitózu v prekurzorových buňkách
3. zahajuje syntézu hemoglobinu, transferinového receptoru a erytrocytárních membránových proteinů. (Tesař a Viklický 2015)

3.2.3 Vitamin D

U člověka má vitamin D dva zdroje. Do organismu je přiváděn potravou jak živočišného, tak i rostlinného původu. Potrava živočišného původu je zdrojem vitamínu D_3 (cholecalciferol), zatímco potrava rostlinného původu je zdrojem vitamínu D_2 (ergocalciferol). Druhým a daleko významnějším zdrojem je endogenní tvorba vitamínu D_3 , který vzniká z cholesterolu v kůži působením UV paprsků. Exogenní a endogenní vitamin D se v organismu přeměňuje na svoji aktivní formu prostřednictvím mechanismu dvojí hydroxylace. Hydroxylací v poloze 25 dochází k přeměně cholecalciferolu na 25-hydroxycholecalciferol neboli kalcidiol. Hydroxylace v poloze 25 probíhá v játrech. Vzniklý 25-hydroxycholecalciferol je pak v ledvinách hydroxylován v poloze 1 za vzniku 1,25-dihydroxycholecalciferolu (kalcitriolu). Jedná se o aktivní a účinnou formu vitamínu D. (Navrátil 2017)

Ze všech metabolitů vitamínu D má největší biologickou aktivitu právě kalcitriol. Metabolismus vitamínu D je regulován parathormonem, samotným kalciferolem a sérovou koncentrací vápníku a fosforu. Mezi další látky, které regulují metabolismus vitamínu D patří růstový hormon, prolaktin a fibroblastový růstový faktor 23. Účinky kalcitriolu spočívají ve stimulaci střevní absorpce vápníku a fosforu z potravy. Zároveň kalcitriol aktivně ovlivňuje aktivitu buněk kostní tkáně v rámci kostní remodelace. (Horak 2019)

3.3 Úloha ledvin v regulaci krevního tlaku

Další funkcí ledvin je regulace tlaku krve. Střednědobá regulace TK probíhá především díky produkci reninu a dlouhodobá díky regulaci řízení sodíkové rovnováhy a OECT. Pro vyjádření výše krevního tlaku lze použít rovnici:

$$TK = \text{srdeční výdej (SV)} \times \text{periferní cévní rezistence (PCR)}$$

Pro dlouhodobou regulaci TK je klíčové udržet stabilní objem extracelulární tekutiny. Pro regulaci objemu extracelulární tekutiny je rozhodující rovnováha Na⁺. Sodíková rovnováha vyjadřuje rozdíl mezi příjmem a výdejem Na⁺, přijaté množství Na⁺ se odvíjí od diety jedince a vylučování je limitováno ledvinami. Vzhledem k nadbytečnému množství soli v potravě je možnost ovlivnit čistou sodíkovou rovnováhu velmi limitována. Čistá sodíková rovnováha je tedy regulována zejména renálním vylučováním Na⁺, z toho vyplývá, že ledviny mají klíčové postavení v dlouhodobé regulaci TK. (Teplan 2006)

3.4 Metabolické funkce

Ledviny se intenzivně zapojují do metabolických pochodů v organismu, na což poukazuje vysoká spotřeba kyslíku. Díky vysoké spotřebě kyslíku je zajištěna řada metabolických i regulačních funkcí ledvin.

3.4.1 Metabolismus živin

1. **Bílkoviny:** Ledviny hrají důležitou roli při eliminaci bílkovin a peptidů z primární moči pomocí zpětné resorpce v proximálním tubulu. V ledvinách také dochází jak k syntéze AMK – histidin a tyrozin, tak i k metabolismu AMK – serin, glutamin a další. Dále se ledviny podílí na utilizaci glutaminu, což je netoxická transportní forma amoniaku, která vzniká syntézou kyseliny glutamové a amoniaku za katalýzy glutaminsyntetázy. (Holeček 2006)

2. **Sacharidy:** Za bazálních podmínek dochází v ledvinách ke glukoneogenezi, tedy k syntéze glukózy a děje se tak v proximálním tubulu. Výchozími látkami pro syntézu glukózy jsou především glukogenní AMK (alanin, glutamin, glutamát, aspartát a další). Dalším zdrojem glukózy může být i laktát. Dále se ledviny účastní procesu glykolýzy, kdy k utilizaci glukózy dochází ve všech částech nefronu s výjimkou proximálního tubulu. (Teplan 2006)
3. **Lipidy:** Ledviny regulují koncentraci volných a esterifikovaných MK tím, že v závislosti na jejich koncentracích v krvi je vychytávají. Dále ledviny zajišťují nízkou koncentraci ketolátky krvi procesem vychytávání acetoacetátu (produkt oxidace β -hydroxybutyrátu). (Teplan 2006)

3.5 Renální regulace acidobazické rovnováhy

Renální regulace acidobazické rovnováhy spočívá v regulaci tubulární reabsorpce bikarbonátu a v retenci nebo zvýšené sekreci H^+ . (Navrátil 2008)

3.5.1 Regulace vylučování bikarbonátu

Nárazníkové systémy (pufry) mají za úkol tlumit výkyvy koncentrací volných vodíkových iontů při jejich přidávání (nebo odebrání) do systému. Pufry jsou většinou chemické směsi slabé kyseliny a její konjugované báze. Nejvýznamnějším nárazníkovým systémem je v ECT je bikarbonát. Bikarbonátový pufr má schopnost při zadržování H^+ většinu jich navázat na HCO_3^- . Vodíkový iont, který je aktivně sekretován do tubulárního lumen, reaguje za katalýzy enzymem karboanhydráza s bikarbonátem za vzniku kyseliny uhličitě. H_2CO_3 ihned disociuje na H_2O a CO_2 , který volně difunduje do buňky, kde za pomoci karboanhydrázy vzniká kyselina uhličitá. Kyselina uhličitá ihned disociuje na H^+ a HCO_3^- . Bikarbonát následně opouští buňku a difunduje po koncentračním spádu do peritubulárních kapilár a touto cestou se vrací zpět do organismu. (Vokurka 2012)

3.5.2 Úloha ledvin ve vylučování H^+

Ledviny mají za úkol denně odstranit minimálně 40 až 80 mmol H^+ , který vzniká při metabolismu a nejde ho odstranit plícemi. K sekreci H^+ mají ledviny k dispozici dva mechanismy: mechanismus fosfátových pufrů a mechanismus metabolismu glutaminu a vylučování amoniaku. (Teplan 2006)

Mechanismus fosfátových pufrů – vodíkový kationt, který vylučován do tubulárního lumen se váže na volně filtrované fosfáty, a to zejména na HPO_4^{2-} za vzniku $H_2PO_4^{2-}$ a v této formě je vylučován do moči. (Tesař a Viklický 2015)

Mechanismus metabolismu glutaminu a vylučování amoniaku – k vyloučení dalšího množství H^+ se využívá glutamin. Důvodem je limitované množství fosfátů v tubulární tekutině. Glutamin je vychytávám tubulárními buňkami jak z tubulární tekutiny, tak peritubulárních kapilár. V tubulárních buňkách (zejména buňky proximálního tubulu) dochází k metabolismu glutaminu za vzniku dvou molekul HCO_3^- a dvou molekul NH_4^+ . NH_4^+ je následně vylučován do tubulárního lumen a následně do moči. (Tesař a Viklický 2015)

4 VYŠETŘENÍ FUNKCE LEDVIN

Funkční vyšetření ledvin umožňuje určit, zda je jejich funkce fyziologická či naopak snižovaná, a zároveň umožňuje určení stupně tohoto snížení. Funkce ledvin můžeme rozdělit na glomerulární a tubulární. Porucha glomerulárních funkcí může být způsobena poklesem glomerulární filtrace, která se projevuje neschopností efektivně filtrovat vodu a malé molekuly. Další příčinou může být zvýšená propustnost pro makromolekuly, nebo se může jednat o poruchy kontinuity kapilární stěny glomerulu. Tubulární poruchy se mohou projevit poruchou koncentrační schopností ledvin, dále pak poruchou acidifikační schopností ledvin. Poruchy funkce tubulu se mohou projevit i změnami ve složení moči, které můžou být způsobeny neschopností reabsorbovat některé složky glomerulárního filtrátu. (Tesař a Viklický 2015)

4.1 Vyšetření glomerulární filtrace

Mezi základní nejjednodušší vyšetření funkce ledvin patří vyšetření sérové koncentrace kreatininu (S_{kr}), jehož referenční hodnoty se pohybují v rozmezí 50–100 $\mu\text{mol/L}$. Po rozsáhlém poškození ledvin stoupá sérová koncentrace kreatininu a čím větší je rozsah funkčního poškození, tím menší je vylučování kreatininu do moči a tím více stoupá jeho hladina v séru. Z toho vyplývá, že sérová koncentrace kreatininu je přímo úměrná funkci glomerulů. Hodnota S_{kr} je však pouze hrubou mírou funkce ledvin. Kreatinin vzniká jako buněčný produkt svalového metabolismu, tudíž hodnota S_{kr} je velmi závislá na míře produkce kreatininu ve svalech. Jestliže je svalová produkce kreatininu snížena (u starších nebo astenických pacientů), nemusí dojít ke zvýšení hladiny S_{kr} , přestože je funkce ledvin snížena. Méně přesným ukazatelem poškození ledvin je sérová koncentrace močoviny (S_{urea}) a to z toho důvodu, že kromě funkce ledvin též závisí i na intenzitě metabolismu proteinů. Při normálním příjmu bílkovin se hladina močoviny v séru zvyšuje nad horní referenční mez při poklesu renální funkce k poloviční hodnotě. U jedinců s nízkým příjmem bílkovin stoupá S_{urea} až při větším poklesu renální funkce. (Teplan 2013)

V současnosti se glomerulární filtrace měří pomocí clearance endogenního nebo exogenního markeru filtrace. Clearance lze definovat jako objem plazmy, který se za časovou jednotku zcela očistí od dané látky. Clearance dané látky odpovídá GF jen tehdy když: tato látka není metabolizována, je volně filtrována v glomerulech, je vylučována z organismu pouze glomerulární filtrací a v tubulech se zpětně nevstřebává (ani není secernována).

Z důvodů obtížnosti metod pro clearance je v klinické praxi glomerulární filtrace odhadována ze S_{kr} , případně ze sérové koncentrace cystatinu C. (Tesař a Viklický 2015)

4.2 Metody vyšetření glomerulární filtrace se sběrem moči

4.2.1 Renální clearance endogenního kreatininu

V klinické praxi se k odhadu GF nejčastěji používá měření clearance endogenního kreatininu, který je výsledkem metabolizace kreatinu ve svalu. Kreatinin je volně filtrován v glomerulech a je vylučován do moči převážně glomerulární filtrací, ale částečně i tubulární sekrecí. U zdravého dospělého jedince clearance kreatininu (C_{kr}) lehce přesahuje GF právě v důsledku nevelké tubulární sekrece kreatininu v proximálním tubulu. (Zima et al. 2021)

Renální clearance kreatininu lze určit na podkladě měření vylučování kreatininu do moče ve sledovaném období a koncentrace kreatininu v séru. Výsledné hodnoty C_{kr} se následně přepočítávají na ideální tělesný povrch ($1,73 \text{ m}^2$). Clearance kreatininu lze vypočítat z následujícího vzorce: (Zima et al. 2021)

$$C_{kr} = \frac{U_{kr} \cdot V}{S_{kr}}$$

Kde je: U_{kr} ... koncentrace kreatininu v moči [$\mu\text{mol/l}$]

V ... objem sbírané moči za sledovanou časovou jednotku [ml/s]

S_{kr} ... sérová koncentrace kreatininu [$\mu\text{mol/l}$]

Výsledná hodnota clearance kreatininu v praxi poskytuje podstatně lepší představu o glomerulární filtraci, než je tomu tak u odhadu GF na základě sérové koncentrace kreatininu. Důvodem je, že C_{kr} není ovlivněna extrarenálními faktory, které působí na hodnotu S_{kr} . Jedná se především o rozdíly v objemu svalové hmoty. Mezi další faktory patří extrarenální vylučování kreatininu střevem v pokročilém stádiu CKD, změny distribučního prostoru kreatininu u jedinců s velkými otoky. Produkce kreatininu také závisí na funkci jater. V játrech se tvoří kreatin, který se uvolňuje do cirkulace a je vychytáván ve svalech, kde je neenzymaticky přeměněn na kreatinin. (Zima et al. 2021)

Pro stanovení clearance různých látek je za potřebí sběr moči v určitém časovém intervalu. Pro vyšetření renální clearance kreatininu se moč sbírá po dobu 24 hodin. Před zahájením sběru by pacient měl být poučen o správném postupu sběru. Dva dny před zahájením sběru moči by se pacient měl vyvarovat větší fyzické zátěži. V den sběru by

pacient měl dodržovat pravidelný pitný režim a omezit příjem silného čaje a kávy. Moč by se měla sbírat do čistých nádob s možným přídavkem konzervačního činidla. Nádoby by měly být uloženy na chladném a temném místě. Sběr moči je vhodné zahájit ráno mezi 6. a 7. hodinou. Na začátku sběru se pacient musí vymočit mimo sběrnou nádobu, pak se již sbírá veškerá moč. Sběr moči se ukončuje přesně za 24 hodin zachycením veškerého obsahu močového měchýře do sběrné nádoby. Po ukončení sběru se změří objem moči s přesností na 10 ml. Veškerá moč se důkladně promíchá a odebere se vzorek moče cca 10–15 ml, který se dopraví do laboratoře. (Špinar a Ludka 2013)

K získání správné hodnoty C_{kr} je nutný přesný sběr moči, který je v běžné denní praxi často problémový a chyby v neúplném sběru moči znemožňují posoudit správně renální clearance kreatininu. Nepřesný sběr moči je proto jedním z hlavních důvodů, proč řada kliniků volí odhad glomerulární filtrace na základě hodnocení sérové koncentrace kreatininu nebo užije výpočtové metody. (Zima et al. 2021)

4.2.2 Clearance inulinu

Inulin je polymer fruktózy o molekulové hmotnosti asi 5200 Da a jeho důležitou vlastností je, že v ledvinách volně prochází glomerulárním filtrem a při průchodu tubuly se jeho množství nemění. Clearance inulinu se proto často pokládá z hlediska přesného měření GF za „zlatý standard“, protože při správném provedení poskytuje nejpravdivější hodnotu glomerulární filtrace. Měření renální clearance inulinu je však poměrně náročné a je nutný přesný sběr moči. (Zima et al, 2021)

4.2.3 Izotopové metody vyšetření glomerulární filtrace

Glomerulární filtraci lze měřit také pomocí nízkomolekulárních izotopových markerů jako je např. ^{125}I -iothalamát, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA nebo ^{51}Cr -EDTA po jejich jednorázovém podání. Rychlost poklesu jejich aktivity v plazmě je dána velikostí GF. Výhodou izotopových markerů je možnost posoudit funkci levé i pravé ledviny separovaně při využití dynamické scintigrafie. V praxi se radionuklidové metody s využitím izotopem značených látek využívají k přesnému měření glomerulární filtrace a posouzení stavu ledvin u dárců. (Zima et al., 2021)

4.3 Metody měření glomerulární filtrace bez sběru moči

4.3.1 Vyšetření koncentrace kreatininu v séru

Ke stanovení sérové koncentrace kreatininu se nejčastěji používají dvě následující metody:

1. Stanovení kreatininu Jaffého reakcí, kdy kreatinin reaguje v alkalickém prostředí s kyselinou pikrovou za vzniku oranžově zbarveného komplexu, který se měří fotometricky. Jaffého reakce je však pro stanovení kreatininu nespecifická, a to z toho důvodu, že kromě kreatininu reaguje s alkalickým pikrátem za vzniku podobného zbarvení řada dalších látek, které způsobují falešně pozitivní výsledky. Jde o tzv. Jaffé-pozitivní chromogeny, mezi které patří například glukóza, askorbát, acetoacetát, kyselina močová, pyruvát, dále pak i některé léky. (Drechslerová 2005)
2. Stanovení kreatininu enzymaticky, které je specifitější, avšak nákladnější
3. Další metodou pro stanovení S_{kr} je plynová chromatografie s izotopovou dilucí a hmotnostní spektrometrií. Jedná se o referenční metodu, která je náročnější na provedení, avšak specifitější. Pro praxi v rutinní laboratoři je tato možnost stanovení kreatininu neproveditelná zejména z důvodu finanční náročnosti. (Teplan 2015)

Hodnocení glomerulární filtrace na podkladě hodnot koncentrace kreatininu v séru vyplývá ze zjištění, že vztah mezi GF a S_{kr} je hyperbolický, tzn. že při poklesu GF až cca o 50 % stoupá S_{kr} jen minimálně, a proto i významný pokles GF může uniknout rozpoznání. Tato skutečnost je zvláště důležitá u pacientů se svalovou atrofií, u pacientů s podvýživou nebo výraznějším jaterním postižením. Z výše uvedeného vyplývá, že hodnota S_{kr} není zcela dostačující pro přesné určení GF, ale i přesto slouží k základnímu vyšetření. Pro přesnější odhad glomerulární filtrace je doporučeno použití výpočtových metod. (Teplan, 2015)

4.3.2 Výpočtové metody pro odhad glomerulární filtrace

Praktičtější způsobem, jak se co nejvíce přiblížit reálné hodnotě GF v klinické praxi, je použití výpočtových vzorců. Musíme ale brát v potaz fakt, že tyto vzorce lze dobře uplatnit pouze na tzv. průměrného pacienta a vyhodnocení odhadu se musí posuzovat v kontextu všech případných limitů u daného pacienta. Účelem všech výpočtových metod je poskytnutí odhadu glomerulární filtrace bez potřeby sběru moči, který představuje největší zdroj chyb při nesprávném provedení. Důležité je dbát na správnost stanovení sérové koncentrace kreatininu, protože i malá chyba ve stanovení se projeví velkou chybou odhadu GF. (Zima et al., 2021)

4.3.3 Výpočtové metody odhadu GF s využitím sérové koncentrace kreatininu

Stejně jako stanovení sérové koncentrace kreatininu i hodnota odhadované glomerulární filtrace počítaná pomocí S_{Kr} podléhá jak analytickým, tak i biologickým limitům. Dříve nepoužívanější rovnicí pro odhad glomerulární filtrace byla rovnice podle Cockcrofta a Gaulta, která má následující tvar:

$$GF \text{ (Cockcroft – Gault)} = F \times (140 - \text{věk}) \times \text{hmotnost} / (48,8 \times S_{Kr})$$

kde věk se udával v rocích, S_{Kr} se udával v $\mu\text{mol/L}$, hmotnost v kg, faktor F byl pro muže 1,00, pro ženy 0,85 a výsledná hodnota se udávala v ml/s. Hlavním nedostatkem a důvodem, proč se od rovnice podle Cockcrofta a Gaulta v průběhu let odstoupilo, je nadhodnocení filtrace u obézních osob nebo pacientů s retencí tekutin. (Teplan 2015)

Dalším způsobem odhadu GF, který se dnes již v běžné praxi nedoporučuje používat, je odhad podle rovnice MDRD. Tato rovnice byla určena zejména pro výpočet odhadnuté renální funkce u pacientů s chronickým onemocněním ledvin. Rovnice byla převzata ze studie, která se zabývala vlivem nízkoproteinové diety na rychlost progresu CKD (Modification of Diet in Renal Disease). Původní rovnice, která počítala se sedmi proměnnými byla ve snaze zjednodušit vyšetření postupně upravována. Ve všech níže uvedených MDRD rovnicích je sérová koncentrace kreatininu uvedena v $\mu\text{mol/L}$, věk v rocích, hodnota sérové koncentrace močoviny v mmol/L a sérová koncentrace albuminu v g/L . (Teplan 2015)

V případě použití sérové koncentrace kreatininu, močoviny a albuminu se jednalo o tzv. tříparametrovou rovnici MDRD, jež má následující tvar:

$$GF \text{ (MDRD}_1\text{)} = 2,83 \cdot (S_{kr} \cdot 0,0113)^{-0,999} \cdot \text{věk}^{-0,176} \cdot (S_{urea} \cdot 2,8)^{-0,17} \cdot (S_{alb}/10)^{0,318} \cdot F$$

Faktor F pro muže je 1,0 a pro ženy 0,762.

Dvouparametrová rovnice, která počítá se sérovou koncentrací kreatininu a močoviny, má následující tvar:

$$GF \text{ (MDRD}_2\text{)} = 4,5 \cdot (S_{kr} \cdot 0,0113)^{-1,007} \cdot \text{věk}^{-0,180} \cdot (S_{urea} \cdot 2,8)^{-0,169} \cdot F$$

Faktor F je pro muže 1,0 a pro ženy 0,762

Jednparametrová rovnice, u které se dosazuje pouze sérová koncentrace kreatininu, vypadá následovně:

$$GF (MDRD_3) = 3,1 \cdot (S_{kr} \cdot 0,0113)^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot F$$

Faktor F je pro muže 1,0 a pro ženy 0,742. (Teplan 2015)

Jak již bylo výše uvedeno, rovnice MDRD lze použít pro odhad GF pouze u pacientů s CKD. Z tohoto důvodu byla v roce 2009 vytvořena nová CKD-EPI rovnice, která umožňuje odhad glomerulární filtrace i u zdravé populace, včetně potenciálních dárců orgánů. (Šálek, 2016)

Tabulka 1 Rovnice CKD-EPI z roku 2009 (S_{kr})

	S_{kr} [$\mu\text{mol/L}$]	Vzorec pro výpočet eGFR [$\text{mL} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$]
Ženy	<62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,329} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
	> 62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
Muži	<80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,411} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
	> 80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)

Zdroj: (Tesař a Viklický 2015)

4.3.4 Výpočtové metody odhadu GF s využitím sérové koncentrace cystatinu C

Cystatin C je nízkomolekulární protein, který patří do rodiny inhibitorů proteáz. Tento biomarker se tvoří ve všech jaderných buňkách. Molekuly cystatinu C volně prochází glomerulárním filtrem a jsou zachycovány tubulárními buňkami. V nitru tubulárních buněk jsou molekuly cystatinu C metabolizovány, tudíž do peritubulární tekutiny žádné molekuly cystatinu C nepřečezají. Z této skutečnosti vyplývá, že očišťování extracelulární tekutiny od cystatinu C je přímo úměrné GF. V porovnání se S_{kr} se S_{cyst} jeví méně ovlivněn věkem, rasou a pohlavím. Další výhodou cystatinu C je, že jeho sérová hladina se zvyšuje i při malém poklesu GF dříve než sérová hladina kreatininu, díky tomuto faktu je cystatin C považován za citlivější indikátor mírného poškození glomerulární filtrace. Musíme ale brát v potaz i to, že S_{cyst} nelze využít u všech pacientů. Zejména se jedná o pacienty s nádory, dále pak o pacienty s dekompenzovanou hypertyreózou či hypothyreózou a o pacienty užívající glukokortikoidy. (Zima et al., 2021)

V roce 2012 byly vyvinuté rovnice CKD-EPI s použitím samotného biomarkeru cystatinu C a zároveň i v kombinaci se sérovou koncentrací kreatininu. Rovnice CKD-EPI využívající oba biomarkery se jeví jako lepší varianta pro odhad GF než rovnice využívající tyto biomarkery zvlášť. (Teaford et al. 2020)

Tabulka 2 Rovnice CKD-EPI (S_{cyst}) pro odhad glomerulární filtrace

S_{cyst} [$\mu\text{mol/L}$]	Vzorec výpočtu eGFR dle CKD-EPI (S_{cyst}) [$\text{mL} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$]
$\leq 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,499} \cdot 0,996^{\text{věk}} \cdot 0,932$ (pro ženy)
$> 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-1,328} \cdot 0,996^{\text{věk}} \cdot 0,932$ (pro ženy)

Zdroj: (Zima et al. 2021)

Tabulka 3 Kombinovaná rovnice CKD-EPI pro kreatinin a cystatin C z roku 2012

	S_{kr} [$\mu\text{mol/L}$]	S_{cyst} [mg/L]	Vzorec výpočtu eGFR dle CKD-EPI ($S_{kr} + cyst$) [$\text{mL} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^{-2}$]
Ženy	≤ 62	$\leq 0,8$	$2,17 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,248} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,375} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	≤ 62	$> 0,8$	$2,17 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,248} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,711} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	> 62	$\leq 0,8$	$2,17 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,601} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,375} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	> 62	$> 0,8$	$2,17 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,601} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,711} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
Muži	≤ 80	$\leq 0,8$	$2,25 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,207} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,375} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	≤ 80	$> 0,8$	$2,25 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,207} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,711} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	> 80	$\leq 0,8$	$2,25 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,601} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,375} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)
	> 80	$> 0,8$	$2,25 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,601} \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,711} \cdot 0,995^{\text{věk}} \cdot 1,08$ (černá populace)

Zdroj: (Šálek 2016)

4.4 Význam vyšetření glomerulární filtrace

Glomerulární filtrace je nejdůležitějším ukazatelem globální funkce ledvin. Tato veličina představuje množství plazmy, které se profiltruje glomeruly za časovou jednotku. Fyziologické rozmezí glomerulární filtrace, které je standardizované na ideální tělesný povrch je $\geq 1,0 \text{ mL/s/1,73m}^2$. Vyšetření GF je důležité především pro diagnostiku a tzv. staging CKD, diagnostiku akutního poškození ledvin, odhad progresu onemocnění a prognózy pacienta a terapeutické sledování hladin léčiv, které se ledvinami vylučují. CKD

se dále posuzuje na základě albuminurie a příčiny chronického poškození ledvin, mezi které patří například diabetické CKD nebo CKD způsobené amyloidózou. (Šálek, 2016)

Tabulka 4 Kategorie CKD podle hodnot GF u dospělé populace

Chronické onemocnění ledvin (CKD)	
Kategorie	GF [mL · s⁻¹ · 1,73 m⁻²]
G1	≥1,50
G2	1,0 až 1,49
G3a	0,75 až 0,99
G3b	0,5 až 0,74
G4	0,25 až 0,49
G5	<0,25 = renální selhání

Zdroj: (Zima et al. 2021)

Tabulka 5 Kategorie CKD podle albuminurie a porovnání s proteinurií

Kategorie	Albuminurie [mg/24 h]	ACR [g/mol kreatininu]	Proteinurie [mg/24 h]	PCR [g/mol kreatininu]
A1	<30	<3	<150	<15
A2	30 až 300	3 až 30	150 až 500	15 až 50
A3	> 300	> 30	> 500	> 50

Zdroj: (Zima et al. 2021)

4.5 Vyšetření tubulárních funkcí

4.5.1 Vyšetření koncentrační schopnosti ledvin

Jedná se o relativně jednoduchý způsob, jak citlivě posoudit tubulointersticiální poškození. Dříve se koncentrační schopnost ledvin vyšetřovala jako maximální koncentrační schopnost ledvin po déletrvajícím žíznění (24–36 hodin). Koncentrační schopnost pak byla posuzována na podkladě specifické hmotnosti moči, která se měřila urometrem. Tato metoda se v současnosti již nepoužívá, a to zejména proto, že dlouhodobé odnětí tekutin je velkou zátěží pro organismus. K přesnějšímu vyšetření koncentrační schopnosti ledvin slouží tzv. adiuřetivový test. Jedná se o analog vasopresinu (1-deamino-8-D arginin vasopresin), který

působí na distální tubulus a sběrací kanálek jako ADH. Tento test se provádí tak, že po nočním odnětí tekutin se pacientovi podá intranazálně do každého nosního průduchu po dvou kapkách adiuretin. Dále se provede sběr moči ve čtyřech hodinových intervalech a následně se změří osmolalita ve vzorcích moči. Test ukazuje schopnost distálního tubulu a sběracího kanálku reagovat na antidiuretický hormon tvorbou koncentrované moči. Přesáhne-li výsledná osmolalita v kterémkoliv ze čtyř vzorků hodnotu uvedenou níže v tab. 6, tehdy můžeme hovořit o dobré koncentrační schopnosti ledvin. (Racek 2006)

Tabulka 6 Referenční hodnoty osmolality moči při DDAVP testu

Věk (roky)	U_{OSM} [mmol/kg H ₂ O]
15–20	1037 ± 63
21–30	1029 ± 120
31–40	1026 ± 103
41–50	1020 ± 87
51–60	971 ± 140
61–70	857 ± 72
71–80	758 ± 79

Zdroj: (Teplan 2015)

4.5.2 Vyšetření acidifikační činnosti ledvin

U zdravého jedince je za normálních okolností pH primární moči (glomerulární filtrát) stejné jako pH plazmy. Acidifikační proces nastává teprve v tubulárním systému ledvin, kdy v proximálním tubulu dochází ke vstřebávání hydrogenuhličitanů a buňky distálního tubulu zajišťují vylučování H⁺ záměnou na Na⁺. Podrobné vyšetření acidifikační schopnosti ledvin umožňuje tzv. acidifikační test. Test se provádí tak, že pacientovi se perorálně podá chlorid amonný (dávka 2mmol/kg), následně se provádí sběr moči v jednodinových intervalech. V jednotlivých vzorcích se změří pH pomocí indikátorových papírků, nebo pro přesnější výsledky se pH změří pomocí pH-metru. Klesne-li pH moči ve vyšetřovaných vzorcích pod 5,5, znamená to neporušenou acidifikační schopnost ledvin. Porušenou acidifikační schopnost můžeme nalézt u pacientů s renální tubulární acidózou I. typu. Tento test se nesmí provádět u pacientů s větším poklesem GF a zánětem močových cest. (Racek, 2006)

5 DIABETES MELLITUS A LEDVINY

5.1 Úvod

Diabetes mellitus je chronické heterogenní onemocnění provázené hyperglykemií v důsledku absolutního nebo relativního nedostatku inzulínu. Chronická hyperglykémie je asociována s dlouhodobým poškozením, dysfunkcí a selháním různých orgánů, zejména očí, ledvin, nervů, srdce a cév. Za rozvojem diabetu stojí několik patologických procesů. Jedná se o autoimunitní destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu, v důsledku čehož vzniká deficit inzulínu nebo abnormality způsobující inzulínovou rezistenci. Základem abnormalit v metabolismu sacharidů, lipidů a proteinů u diabetu je nedostatečné působení inzulínu na cílové tkáně. Nedostatečný účinek inzulínu je důsledkem nedostatečné sekrece tohoto hormonu a/nebo snížené tkáňové odezvy na inzulín v jednom nebo více bodech komplexních drah hormonálního působení. Porucha sekrece inzulínu a defekty v jeho účinku často koexistují u stejného pacienta a není jasné, která abnormalita je primární příčinou hyperglykémie. (American Diabetes Association 2013)

Mezi příznaky výrazné hyperglykémie patří polyurie, polydipsie, úbytek na váze, únavnost, poruchy zraku a náchylnost k infekcím. Akutní, život ohrožujícími následky dekompenzovaného diabetu jsou hyperglykémie s ketoacidózou nebo hyperglykemický hyperosmolární stav. Dlouhodobé komplikace diabetu zahrnují retinopatii s potenciální ztrátou zraku, nefropatii vedoucí k renálnímu selhání, periferní neuropatie, autonomní neuropatii způsobující např. gastrointestinální a kardiovaskulární symptomy. Diabetici mají zvýšenou incidenci aterosklerózy, kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních onemocnění. U pacientů s diabetes mellitus jsou často pozorovány poruchy metabolismu lipoproteinů a hypertenze. (American Diabetes Association 2013)

5.2 Diabetes mellitus 1. typu

Tento typ diabetu je definován jako inzulinodeficitní typ, u kterého v důsledku autoimunitních procesů, během kterých dochází k destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu vzniká deficit inzulínu. Za tímto procesem stojí genetické predisponující faktory, které jsou následovány iniciačními nebo spouštěcími faktory. DM1 se u dětí a adolescentních osob většinou manifestuje rychle a často bývá doprovázen hubnutím, žízní a neprospíváním. U dospělých osob je manifestace diabetu méně nápadná, což ovlivňuje rychlost stanovení diagnózy a včasnou léčbu. Diabetes mellitus se diagnostikuje na základě

hyperglykémie a glykosurie. Diagnostika DM1 se však opírá o stanovení specifických protilátek a průkaz snížené hladiny C-peptidu. (American Diabetes Association 2013)

Léčba pacientů s DM1 se zaměřuje na suplementaci nedostačujícího množství inzulínu pomocí kontinuální subkutánní terapie inzulínovou pumpou. Tento způsob terapie výrazně zlepšuje kvalitu života pacientů s DM1. Jedinou, zatím známou metodou cílené léčby DM1 je transplantace pankreatu, která se považuje za „zlatý standard“ pro léčbu pacientů s DM1 a renálním selháním. (Perušičová, 2017)

5.3 Diabetes mellitus 2. typu

Tato forma diabetu dříve označovaná jako non-inzulín-dependentní diabetes, nebo diabetes začínající v dospělosti, zahrnuje jedince, kteří mají inzulínovou rezistenci. Nedostatek inzulínu u tohoto typu je spíše relativní než absolutní, a to z toho důvodu, že na rozdíl od DM1 u této formy diabetu nedochází k destrukci β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. K inzulínové rezistenci dochází nejčastěji v souvislosti s obezitou, proto prevence a léčba obezity je metodou, jak oddálit manifestaci diabetu a zlepšit účinnost a trvání antidiabetik. (American Diabetes Association 2013)

DM2 se projevuje únavou, menší tělesnou a eventuálně i duševní výkonností, někdy polyurií a polydipsií. DM2 se diagnostikuje na základě opakované, náhodně naměřené glykémie nad 11,10 mmol/L, nebo opakovaně naměřené glykémie nad 7,00 mmol/L na lačno. Jestliže hodnoty naměřené glykémie v obou případech jsou hraniční je nutno provést orální glukózový toleranční test. Při naměřené hodnotě glykémie nad 11,10 mmol/L je diagnóza diabetu nepochybná, jsou-li naměřené hodnoty v rozmezí 7,80–11,10 mmol/L jedná se o porušenou glukózovou toleranci. Při naměření hodnoty pod 7,80 mmol/L po 120 minutách od provedení oGTT můžeme diagnózu diabetu zcela vyloučit. (Anděl et al. 2007)

Modifikace životního stylu a užívání antidiabetik může pacientům s DM2 zajistit téměř normální hladiny glukózové koncentrace. Terapie pacientů s DM2 musí být většinou strategicky zaměřená i na další aspekty, mezi něž patří především hypertenze, hyperlipidemie a hmotnost. (Perušičová, 2017)

5.4 Latentní autoimunitní diabetes dospělých

Jedná se o pomalu vyvíjející se formu diabetu, který se v počátku jeví jako DM2, ale zároveň jsou u pacientů s LADA detekovatelné protilátky proti β -buňkám Langerhansových ostrůvků stejně jako tomu bývá v případě DM1. Zároveň pacienti s LADA mají prokazatelné

zvýšené hladiny orgánově specifických i nespecifických protilátek, zejména se jedná o pozitivní protilátky GADA (protilátky proti kyselině glutamové). U pacientů s LADA je patrná zvýšená prevalence autoimunitní choroby štítné žlázy i celiakie. (Perušičová 2017)

5.5 Gestační diabetes mellitus

Gestační diabetes mellitus je definován jako porucha metabolismu glukózy různého stupně, která je poprvé odhalena v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí. Dekompenzovaný GDM přináší řádu komplikací, a to jak pro matku, tak i pro dítě. Mezi perinatální komplikace patří diabetická fetopatie s makrosomií plodu a funkční nezralost orgánů (hyperbilirubinémie novorozence, syndrom dechové tísně, hypoglykémie). Gestační diabetes mellitus zároveň zvyšuje riziko rozvoje DM2 v pozdějším období života matky i dítěte. (Goldmannová et al. 2019)

5.6 Změny ledvin při DM

Morfologické změny ledvin při diabetu mellitu jsou shodné jak u DM 1, tak i u DM2. Zejména se jedná o změny v souvislosti s glomerulární hyperfiltrací a ukládáním produktů neenzymatické glykace (AGE) do bazálních membrán tubulů a glomerulu a do mesangiálních prostorů. Ukládání těchto produktů poškozuje glomeruly a tubuly strukturálně i funkčně. V důsledku ukládání produktů neenzymatické glykace dochází k akumulaci mesangiální matrix, což vede k rozvoji difúzní a nodulární DM glomerulosklerózy. Mesangiální změny vedou ložiskové mezagiolyze a následnému zhroucení glomerulární kostry, což je podkladem pro tvorbu kapilárních mikroaneurysmat. Zároveň AGE, které se ukládají do glomerulární membrány způsobují remodelaci struktury glomerulu a tím ovlivňují funkci filtrační bariéry včetně jejího náboje. Tento stav se laboratorně projeví albuminurií a následně i rozvojem těžších forem proteinurie. Dále morfologické změny glomerulů doprovází cévní změny, a to zejména změny v arteriolách, pro něž jsou typické insudáty plazmatických proteinů v endotelu cév. (Teplan, 2015)

PRAKTICKÁ ČÁST

6 CÍL A ÚKOLY PRÁCE

6.1 Hlavní cíl

Cílem práce je porovnat clearance kreatininu z jednorázového vzorku moči a z moči sbírané za období 6 hodin a 24 u vybrané skupiny pacientů a zjistit, zda zkrácená doba sběru moči má vliv na výslednou hodnotu clearance kreatininu.

7 VÝZKUMNÉ PROBLÉMY/OTÁZKY

Jsou statisticky, případně klinicky významné rozdíly při hodnocení glomerulárních funkcí z jednorázového vzorku moče v porovnání s 24hodinovým sběrem a 6hodinovým sběrem moče?

8 CHARAKTERISTIKA SLEDOVANÉHO SOUBORU

Do studie jsme zařadili vzorky vybrané skupiny dvanácti pacientů s DM 1. typu, které jsme získali v rámci rekondičního pobytu pro diabetiky, jenž připravil Svaz diabetiků v Plzni ve spolupráci s Diabetologickým centrem FN Plzeň Lochotín. Základní informace o pacientech potřebné pro tuto práci shrnuje Tabulka 7. Základní charakteristiky souboru pacientů shrnuje Tabulka 8. Relativní zastoupení mužů a žen ve vybrané skupině pacientů je zobrazeno v Grafu 1.

Tabulka 7 Základní údaje pacientů – pohlaví, věk, hmotnost a výška

Pacient	Pohlaví	Věk	Hmotnost [kg]	Výška [cm]
1	M	22	82,70	182,50
2	Ž	50	77,00	172,00
3	Ž	30	86,00	172,00
4	M	32	95,00	183,00
5	Ž	57	65,50	164,00
6	Ž	23	71,60	170,00
7	M	24	70,80	169,90
8	M	23	75,50	186,50
9	Ž	25	84,00	186,00
10	M	35	70,00	178,00
11	M	30	79,00	169,00
12	Ž	17	64,10	167,00

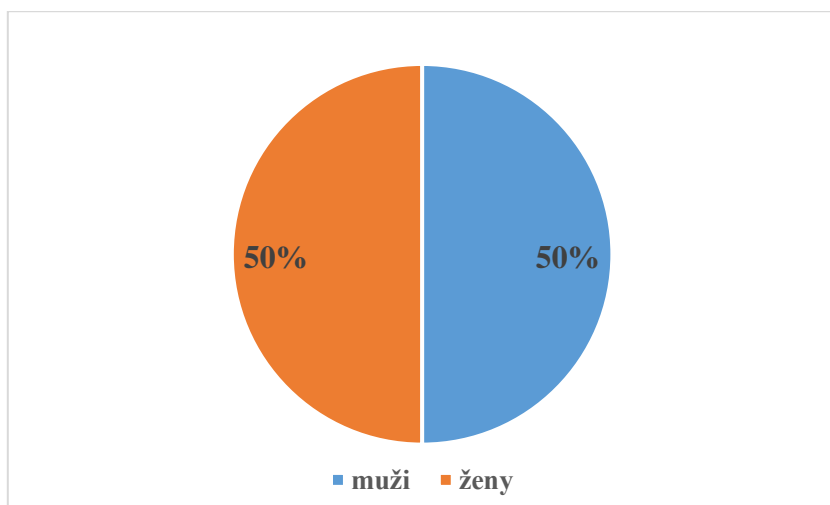
Zdroj: Vlastní

Tabulka 8 Základní charakteristika sledovaného souboru – medián, průměr, minimum a maximum věku, výšky a hmotnosti pacientů

Pacienti 12 (100 %)					
Věk [roky]		Výška [cm]		Hmotnost [kg]	
Medián	27	Medián	172,00	Medián	76,25
Průměr	30	Průměr	174,99	Průměr	76,77
Min – Max	17–57	Min – Max	164,00–186,50	Min – Max	64,10–95,00

Zdroj: Vlastní

Graf 1 Relativní zastoupení mužů a žen ve vybrané skupině pacientů



Zdroj: vlastní

9 METODIKA PRÁCE

Pro uskutečnění hlavního cíle práce byla zvolena skupina 12 pacientů s onemocněním DM 1. typu. Pacienti byli v rámci rekondičního pobytu, který se uskutečnil v termínech 21.–24. října a 4.–7. listopadu 2021 proškolení, jak správně postupovat při 6hodinovém a 24hodinovém sběru moči dle návodu (viz Příloha A). Od každého pacienta byl dále poskytnut jednorázový vzorek ranní moči a každý pacient podstoupil odběr žilní krve nalačno.

Údaje a data pacientů potřebná pro účely této práce byly vypsány z klinického informačního systému Medicalc. Laboratorní parametry potřebné pro výpočet a odhad glomerulární filtrace byly stanoveny na automatickém analyzátoru Cobas 8000 od společnosti Roche.

9.1 Sběr moči za období 6 hodin a 24 hodin

Vybraná skupina pacientů byla edukována o správném a přesném sběru moči za uvedená časová období. Sběr moči byl zahájen v 6 hodin, kdy před začátkem sběru se každý pacient musel vymočit mimo sběrnou nádobu, tato moč nebyla součástí sběru. Od této doby pacienti sbírali veškerou moč do sběrné nádoby. Moč se uchovávala v chladném místě (chladnička, teplota 2–8 °C). Pro získání vzorku sbírané moči za období 6 hodin byl sběr přerušen ve 12 hodin (tj. po 6 hodinách sběru), byl změřen a zaznamenán celkový objem moči s přesností na 10 ml a odlit vzorek 10–15 ml do zkumavky. Od tohoto okamžiku pokračoval sběr moči do stejné sběrné nádoby do příštího dne do 6 hodin. Po ukončení sběru byl opět změřen a zaznamenán celkový objem moči s přesností na 10 ml. Po odečtení se moč důkladně promíchala a do zkumavky označené identifikačním štítkem byl odlit vzorek o objemu 10–15 ml. Pro účely vyšetření jednorázové clearance kreatininu byl od každého pacienta poskytnut jednorázový vzorek moči. Pro vyšetření kreatininu byl nalačno odebrán vzorek srážlivé venózní krve o objemu 5–7 ml. Po ukončení sběru moči a odebrání jednorázových vzorků byl zajištěn rychlý a šetrný transport veškerého biologického materiálu do ÚKBH ve FN Plzeň tak, aby nedošlo k jeho poškození a znehodnocení. V laboratoři ÚKBH vzorky krve byly zcentrifugovány jako při běžném rutinním vyšetření, plazma byla rozaliquotována a vzorky byly zamraženy při -20 °C do doby před analýzou. Jednorázové vzorky moči a sbíraná moč se v laboratoři ÚKBH uchovávaly při chladničkové teplotě, tedy 2–8 °C do doby uskutečnění analýzy.

9.2 Odběr biologického materiálu

Pro odběr veškerých vzorků pacientů byl použit uzavřený odběrový systém Vacuette Greiner, který zajistil kvalitní a bezpečný odběr biologického materiálu. Pro odběr primárních vzorků krve byly použity odběrové zkumavky Vacuette pro přípravu nesrážlivé krve. Vnitřní stěny těchto zkumavek jsou preparovány heparinátem lithným. Heparin jako antikoagulační činidlo aktivuje antitrombiny, čímž blokuje koagulační kaskádu, takže nevznikne krevní sraženina sérum, ale plná nesrážlivá krev. Zkumavky Vacuette pro přípravu nesrážlivé krve obsahují na dně separační gel, který se při centrifugaci posune do prostoru mezi hladinou krevních buněk a plazmu, kde vytvoří bariéru. Pro sběr moči za období 6 hodin a 24 hodin byly použity sběrné nádoby o objemu 3L s přídavkem 10 ml konzervačního činidla (10 % roztok thymolu v izopropylalkoholu). Pro odběr vzorku moče byly použity močové zkumavky Vacuette s kulatým dnem.

Obrázek 3 Odběrová zkumavka Vacuette pro získání nesrážlivé krve



Zdroj: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/1232>

Obrázek 4 Močová zkumavka Vacuette s kulatým dnem



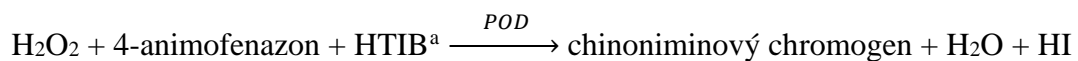
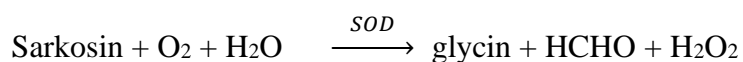
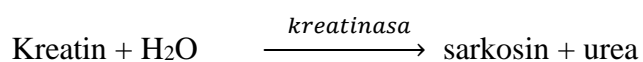
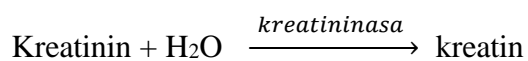
Zdroj: <https://www.dialab.cz/z514-vacuette-10-5-ml-na-moc>

Obrázek 5 Sběrná nádoba na moč o objemu 3L



Zdroj: <https://ukbh.fnplz.en.cz/cs/node/1232>

9.3 Princip stanovení kreatininu



Jedná se o enzymatickou metodu, která je založená na přeměně kreatininu s pomocí enzymu kreatininázy, kreatinázy a sarkosinoxidázy na glycin, formaldehyd a peroxid vodíku. Vzniklý peroxid vodíku katalyzovaný enzymem peroxidázou reaguje s 4-aminofenazonem a HTIB^a za vzniku chinoniminového chromogenu. Intenzita vzniklého zabarvení vytvářeného chinoniminového chromogenu je přímo úměrná koncentraci kreatininu ve vzorku. (Roche 2022)

9.3.1 Referenční meze

Tabulka 9 Referenční meze koncentrace kreatininu v séru, v jednorázovém vzorku moči a v moči sbírané za 24 hodin

Referenční hodnoty v séru [$\mu\text{mol/L}$]			Referenční hodnoty v moči [mmol/L]		
Pohlaví	Věk	Rozmezí	Pohlaví	Rozmezí	Poznámka
	0 až <15 dnů	36–86	muži	3,5–24,6	1. ranní moč
	15 dnů až <2 roky	15–38	ženy	2,6–20,0	1. ranní moč
	2 roky až <5 let	24–43	Referenční hodnoty odpadu kreatininu [mmol/d]		
	5 až <12 let	33–59			
	12 až 15 let	45–77			
muži	> 15 let	60–100	muži	9–19	sběr 24 hodin
ženy	> 15 let	50–90	ženy	6–13	sběr 24 hodin

Zdroj: <https://ukbh.fnplzen.cz>

10 ANALÝZA A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

10.1 Popisná statistika základního souboru

Základní charakteristika souboru naměřených dat je shrnuta v Tabulce 10. V souboru bylo celkem 12 pacientů s DM 1. typu, z toho 6 (50 %) mužů a 6 (50 %) žen. U každého z pacientů byly stanoveny koncentrace sérového kreatininu ze vzorku venózní krve. Dále pak byly stanoveny koncentrace kreatininu v moči z jednorázového vzorku moči, ze vzorků sbírané moči za období 6 hodin a 24 hodin.

Tabulka 10 Objemy sbírané moči za období 6 hodin a 24 hodin jednotlivých pacientů, naměřené hodnoty kreatininu v séru a v moči

Pac.	Pohlaví	V _{moči za 6 h} [ml]	V _{moči za 24 h} [ml]	S _{KREA za 24 h} [μmol/L]	U _{KREA za 6 h} [mmol/L]	U _{KREA za 24 h} [mmol/L]
1	M	400	4300	113,00	29,00	16,32
2	Ž	620	2530	74,00	11,64	6,26
3	Ž	430	2400	62,00	8,31	7,62
4	M	250	1330	105,00	19,06	16,27
5	Ž	330	2220	91,00	8,04	8,26
6	Ž	400	1700	71,00	11,81	8,68
7	M	350	2000	88,00	33,17	14,23
8	M	200	1700	62,00	16,07	19,26
9	Ž	430	2400	68,00	9,63	8,42
10	M	850	3850	102,00	10,40	5,11
11	M	750	5750	103,00	5,41	5,21
12	Ž	350	1400	81,00	21,98	3,10

Zdroj: Vlastní

Tabulka 11 Medián, minimum, maximum, dolní kvartil, horní kvartil a interkvartilové rozpětí stanovených analytů u 12 pacientů

Pacienti 12 (100 %)						
Analyt	Medián	Minimum	Maximum	Dolní kvartil	Horní kvartil	IQR
S_KREA [μmol/L]	84,50	62,00	113,00	70,25	102,25	32,00
U_KREA/6 h [mmol/L]	11,73	5,41	33,17	9,30	19,79	10,49
U_KREA/24 h [mmol/L]	8,34	3,10	19,26	6,00	14,74	8,74

Zdroj: vlastní

10.2 Výpočet clearance kreatininu

Z naměřených hodnot kreatininu v séru a moči byly vypočteny hodnoty clearance kreatininu podle vzorce uvedeného v Tabulce 12. Aby se vyloučil vliv rozdílné výšky a hmotnosti jednotlivých pacientů, byly výsledné hodnoty clearance kreatininu přepočteny na ideální povrch těla, tj. 1,73 m². Pro výpočet ideálního povrchu těla bylo třeba vypočítat skutečný povrch těla S [m²] vycházející z hmotnosti m [kg] a výšky h [cm] jednotlivých pacientů. Vzorce pro výpočet skutečného povrchu těla S a přepočet clearance kreatininu na ideální povrch těla jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12 Vzorec pro výpočet clearance kreatininu, skutečného povrchu těla pacienta a korigované hodnoty GF

Vzorec 1	Clearance kreatininu [ml/s]	$C_{kr} = \frac{U_{kr} \cdot V}{S_{kr}} \approx GF$
Vzorec 2	Skutečný povrch těla [m ²]	$S = 0,007184 \cdot m^{0,425} \cdot h^{0,725}$
Vzorec 3	GF _{cor} [ml/s]	$GF_{cor} = \frac{GF}{S} \cdot 1,73$

Zdroj: (Racek 2006)

Tabulka 13 Rovnice CKD-EPI pro výpočet GF jednorázového vzorku

	S_{Kr} [$\mu\text{mol/L}$]	Vzorec pro výpočet eGFR [$\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot 1,73 \text{ m}^2$]
Ženy	<62	$2,4 \cdot (S_{Kr}/61,9)^{-0,329} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
	>62	$2,4 \cdot (S_{Kr}/61,9)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
Muži	<80	$2,35 \cdot (S_{Kr}/79,6)^{-0,411} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)
	>80	$2,35 \cdot (S_{Kr}/79,6)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$ (černá populace)

Zdroj: (Zima et al. 2021)

10.3 Vypočítané hodnoty

Výsledné vypočítané hodnoty renální clearance endogenního kreatininu a odhad glomerulární filtrace z jednorázového vzorku dle rovnice CKD-EPI shrnuje Tabulka 16. Grafické znázornění rozložení vypočítaných hodnot pro jednotlivé pacienty zobrazuje Graf 2. Grafické porovnání vypočítaných hodnot $C_{kr_6 \text{ h}}$ a $C_{kr_24 \text{ h}}$ pacientů s hodnotami referenční mezí znázorňuje Graf 3. Graf 4 znázorňuje porovnání vypočtených hodnot eGFR dle CKD-EPI_{KREA} s referenčními hodnotami. Referenční meze clearance kreatininu a eGFR dle CKD-EPI_{KREA} shrnují Tabulky 14 a 15.

Tabulka 14 Referenční meze pro clearance kreatininu

Referenční Meze Cl _{24 h}		
Pohlaví	Věk	Rozmezí [ml/s]
	<2 týdny	0,25–0,75
	2 týdny–6 měsíců	0,58–1,43
	6 měsíců–1 rok	1,05–1,52
	1–3 roky	1,23–1,97
	3–13 let	1,57–2,37
Ženy	13–50 let	1,58–2,67
Muži	13–50 let	1,63–2,60
Ženy	50–60 let	1,10–2,10
Muži	50–60 let	1,20–2,40
Ženy	60–70 let	0,90–1,80
Muži	60–70 let	1,05–1,95
Ženy	>70 let	0,80–1,80
Muži	>70 let	0,70–1,80

Zdroj: <https://ukbh.fnplzen.cz/cs/node/988>

Tabulka 15 Referenční hodnoty pro eGFR dle CKD-EPI_{KREA}

Referenční meze eGFR dle CKD-EPI _{KREA}	
Věk	Rozmezí [ml/s/1,73m ²]
od 0D do 99R+	1,00–1,50
Poznámka	Hodnota <1,00 je považována za patologickou. Hodnoty 1,00–1,50 je nutno hodnotit individuálně ve vztahu ke klinickému obrazu. U vypočtených hodnot vyšších než 1,50 ml/s/1,73m ² je doporučeno uvádět hodnotu ≥1,50.

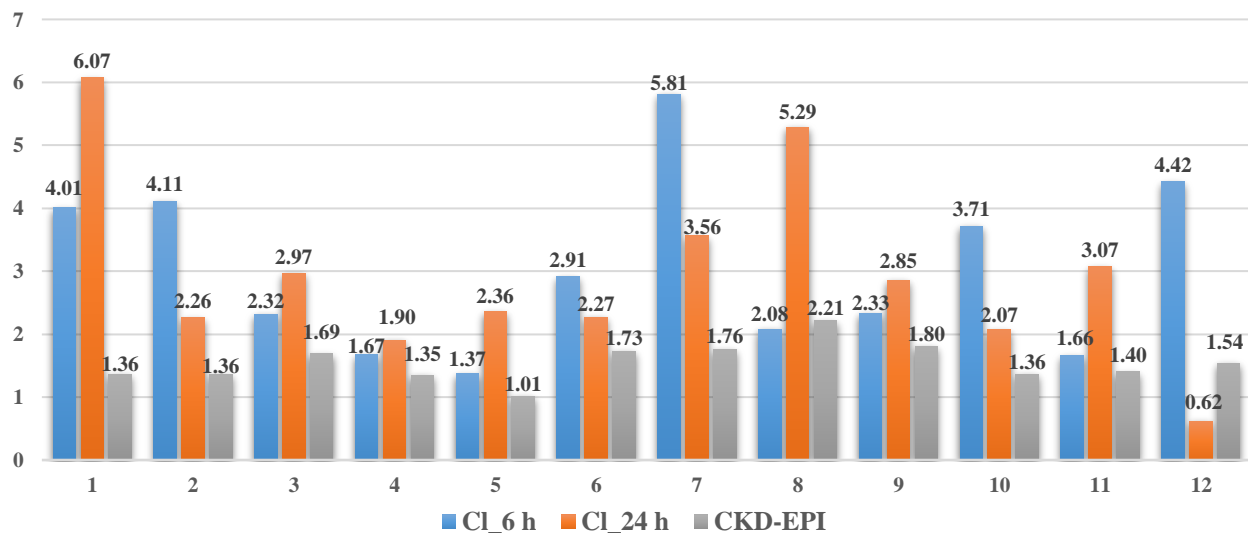
Zdroj: https://www.fnkv.cz/lab/lp_uld/LP_17339-L0000001.htm

Tabulka 16 Vypočítané hodnoty clearance kreatininu ze 6hodinového a 24hodinového sběru moči a odhad GF dle rovnice CKD-EPI_{KREA} pro jednorázový vzorek moči

Pacient	Pohlaví	Věk	RH [ml/s]	Cl _{24 h} [ml/s]	Cl _{6 h} [ml/s]	eGFR dle CKD-EPI _{KREA} [ml/s/1,73m ²]
1	M	18	1,63 – 2,60	6,07	4,01	1,36
2	Ž	50	1,58 – 2,67	2,26	4,11	1,36
3	Ž	29	1,58 – 2,67	2,97	2,32	1,69
4	M	31	1,63 – 2,60	1,90	1,67	1,35
5	Ž	56	1,10 – 2,10	2,36	1,37	1,01
6	Ž	23	1,58 – 2,67	2,27	2,91	1,73
7	M	24	1,63 – 2,60	3,56	5,81	1,76
8	M	23	1,63 – 2,60	5,29	2,08	2,21
9	Ž	25	1,58 – 2,67	2,85	2,33	1,80
10	M	35	1,63 – 2,60	2,07	3,71	1,36
11	M	30	1,63 – 2,60	3,07	1,66	1,40
12	Ž	17	1,58 – 2,67	0,62	4,42	1,54

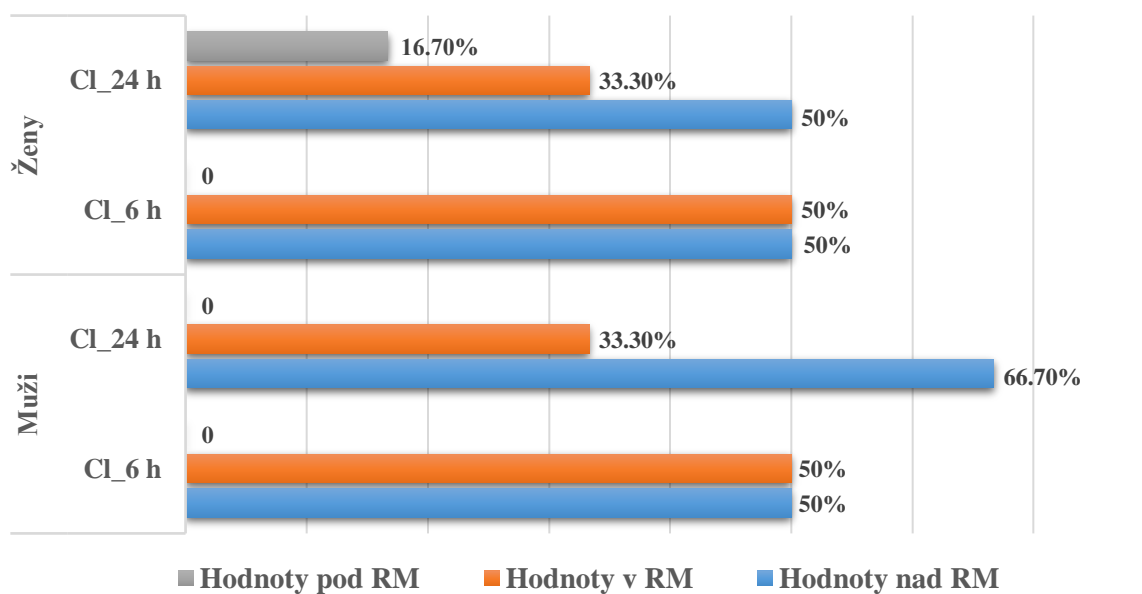
Zdroj: Vlastní

Graf 2 Rozložení vypočítaných hodnot clearance kreatininu a eGFR jednotlivých pacientů



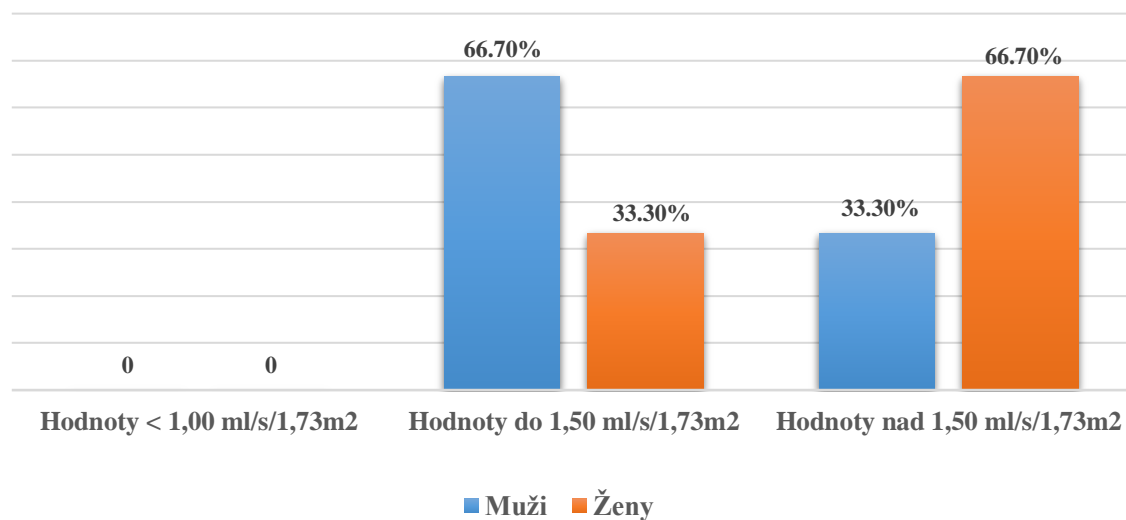
Zdroj: Vlastní

Graf 3 Porovnání vypočítaných hodnot Cl_6 h a Cl_24 h pacientů s hodnotami referenčních mezí s ohledem na věk a pohlaví pacientů



Zdroj: Vlastní

Graf 4 Porovnání vypočtených hodnot eGFR dle CKD-EPI_{KREA} s referenčními hodnotami



Zdroj: Vlastní

10.4 Statistické zhodnocení výsledků

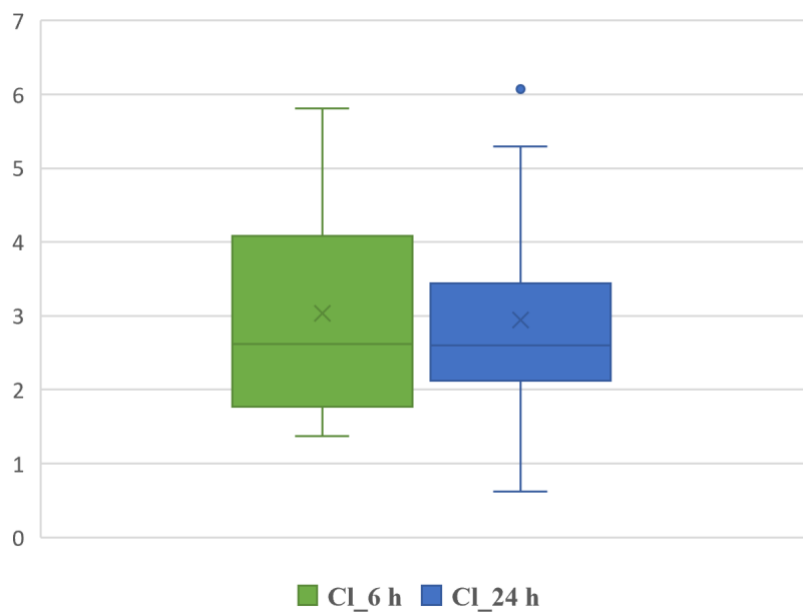
Pro statistické zhodnocení vypočtených hodnot $Cl_{6\text{ h}}$ a $Cl_{24\text{ h}}$ pacientů jsme zvolili Wilcoxonův test pro párové vzorky (viz Tabulka 14). Pozorované rozdíly nedosahovaly statistické významnosti ($p = 0,97$). Grafické znázornění tohoto testu je zobrazeno v Grafu 5.

Tabulka 17 Wilcoxonův test pro párové vzorky

CI_24 h		CI_6 h	
Velikost vzorku	12	Velikost vzorku	12
Minimum	0,62	Minimum	1,36
Maximum	6,08	Maximum	5,81
Medián	2,60	Medián	2,63
95 % IS pro medián	2,10 – 3,48	95 % IS pro medián	1,74 – 4,09
Interkvartilové rozmezí	2,16 – 3,32	Interkvartilové rozmezí	1,87 – 4,07
95 % Interval Spolehlivosti (IS)			-1,29 – 1,57
Počet kladných rozdílů			5
Počet záporných rozdílů			7
			p = 0,97

Zdroj: Vlastní

Graf 5 Boxplot odvozený z Wilcoxonova testu pro párové vzorky



Zdroj: Vlastní

DISKUZE

V bakalářské práci jsme se v teoretické části zabývali tématem ledvin, jejich funkcí v lidském organismu a metodami funkčního vyšetření ledvin. V praktické části jsme se věnovali vyšetření glomerulární filtrace pomocí clearance endogenního kreatininu u vybrané skupiny pacientů.

Cílem práce bylo porovnat clearance endogenního kreatininu z jednorázového vzorku moči a z moči sbírané za období 6 hodin a 24 u vybrané skupiny pacientů a zjistit, zda zkrácená doba sběru moči (6 hodin) má vliv na výslednou hodnotu clearance kreatininu.

Porovnání výsledných hodnot $Cl_{6\text{ h}}$ a $Cl_{24\text{ h}}$ jsme provedli u skupiny pacientů s onemocněním Diabetes mellitus 1. typu. Od každého pacienta jsme získali jednorázový vzorek moči, vzorek srážlivé krve a moč sbíranou za období 6 hodin a 24 hodin. Pro výpočet clearance endogenního kreatininu z naměřených hodnot analytů S_{KREA} , $U_{\text{KREA}/6\text{ h}}$ a $U_{\text{KREA}/24\text{ h}}$ a objemů moči za 6 a 24 hodin byl použit Vzorec 1 uvedený v Tabulce 12. Abychom vyloučili vliv rozdílné velikosti a hmotnosti jednotlivých pacientů byly výsledné hodnoty clearance kreatininu přepočteny na ideální povrch těla, tj. $1,73\text{ m}^2$. Pro výpočet ideálního povrchu těla bylo třeba vypočítat skutečný povrch těla S [m^2] vycházející z hmotnosti m [kg] a výšky h [cm] jednotlivých pacientů. Pro výpočet skutečného povrchu těla jednotlivých pacientů byl použit Vzorec 2, který je uvedený v Tabulce 12. Korigované hodnoty clearance kreatininu byly vypočteny s použitím Vzorce 3, který je uvedený v Tabulce 12. Odhad glomerulární filtrace (eGFR) z jednorázového vzorku každého z pacientů s ohledem na pohlaví byl proveden pomocí rovnice CKD-EPI pro kreatinin. Použité rovnice shrnuje Tabulka 13.

Při porovnání výsledných hodnot $Cl_{6\text{ h}}$ s hodnotami referenčních mezí u podskupiny pacientů, kterou tvořili muži, jsme zjistili, že žádná z hodnot se nepohybovala pod hodnotami dolní referenční meze. Z tohoto zjištění tedy vyplývá, že ani jeden z mužů neměl patologické hodnoty, které by poukazovaly na sníženou glomerulární funkci ledvin. U poloviny pacientů (50 %) této podskupiny jsme zjistili, že jejich hodnoty $Cl_{6\text{ h}}$ se nacházely v referenčním intervalu a byly tedy fyziologické. Hodnoty druhé poloviny pacientů této podskupiny se pohybovaly nad hodnotami horní referenční meze.

Při porovnání výsledných hodnot $Cl_{24\text{ h}}$ této skupiny pacientů s hodnotami referenčních mezí bylo opět zjištěno, že ani jeden z pacientů neměl hodnotu $Cl_{24\text{ h}}$, která

by poukazovala na sníženou glomerulární funkci ledvin. U méně než poloviny mužů (33,70 %) se hodnoty Cl_{24} h pohybovaly v referenčním intervalu a byly tedy fyziologické. U většiny mužů (66,70 %) se hodnoty pohybovaly nad hodnotami horních referenčních mezí.

U podskupiny, kterou tvořily ženy, bylo při porovnání hodnot Cl_{6} h s hodnotami referenčních mezí zjištěno, že ani jedna z hodnot nebyla patologická. U poloviny pacientek této podskupiny (50 %) se hodnoty Cl_{6} h nacházely v referenčním intervalu a u druhé poloviny se hodnoty Cl_{6} h nacházely nad hodnotami horních referenčních mezí. Při porovnání hodnot Cl_{24} h této podskupiny s hodnotami referenčních mezí bylo zjištěno, že u jedné pacientky se hodnota Cl_{24} h pohybovala pod dolní hodnotou referenčního rozmezí, jednalo se tedy o patologickou hodnotu. U dvou ze šesti žen byly hodnoty Cl_{24} h fyziologické a u zbylých tří žen se hodnoty Cl_{24} h pohybovaly nad hodnotami horních referenčních mezí.

Do této studie jsme zahrnuli i hodnoty eGFR dle CKD-EPI_{KREATININ} a při porovnání výsledných hodnot eGFR mužů a žen s referenčním intervalem bylo zjištěno, že ani jeden z pacientů obou podskupin neměl patologickou hodnotu, která by naznačovala sníženou glomerulární funkci ledvin ($<1,00$ ml/s/1,73m²).

Pro statistické porovnání výsledných hodnot Cl_{6} h a Cl_{24} h všech pacientů jsme zvolili Wilcoxonův test pro párové vzorky. Díky tomuto testu jsme přišli k závěru, že rozdíly mezi hodnotami Cl_{6} h a Cl_{24} h nejsou statisticky významné.

Ve studii z roku 2014 bylo ukázáno, že výsledné hodnoty clearance kreatininu byly vyšší než hodnoty eGFR. (Šálek a Palička 2014) V naší studii jsme dospěli ke stejnému závěru při porovnání hodnot Cl_{6} h a Cl_{24} h s hodnotami eGFR dle CKD-EPI_{KREA}.

Při porovnávání hodnot Cl_{6} h a Cl_{24} h a eGFR dle CKD-EPI_{KREA} u jednotlivých pacientů jsme brali v potaz to, že u zdravých jedinců dochází k tubulární sekreci kreatininu a v důsledku toho clearance kreatininu nadhodnocuje skutečnou GF. (Šálek 2016) Tato skutečnost mohla být příčinou vyšších hodnot Cl_{6} h a Cl_{24} h. U pacientů jejichž hodnoty Cl_{6} h a Cl_{24} h se výrazně lišily jsme předpokládali nesprávný postup při sběru moči. Jednalo se především o pacienty 1, 7, 8 a 12 v Grafu 2, kde je graficky znázorněno rozložení Cl_{6} h a Cl_{24} h a hodnot eGFR dle CKD-EPI_{KREA} jednotlivých pacientů.

Hodnoty clearance kreatininu často zatěžuje chyba, která vzniká už při sběru moči za dané časové období. Většinou chyba nastává již na začátku sběru, kdy pacient nevyprázdní

močový měchýř mimo sběrnou nádobu. V průběhu sběrného období by se pacient neměl vystavovat extrémní fyzické zátěži a měl by dodržovat pravidelný pitný režim. Masitá strava, nedodržení pravidelného pitného režimu a nadměrná fyzická zátěž výrazně ovlivňují koncentraci kreatininu v moči a tím pádem i výsledné hodnoty renální clearance endogenního kreatininu. Chyba často nastává i při ukončení sběru moči, kdy pacient nevyprázdní obsah močového měchýře do sběrné nádoby, ale mimo ni.

Naše výsledky se dají srovnat se studií z roku 1998, která pojednávala o možnosti použití 2hodinového, 4hodinového a 8hodinového sběru moči namísto sběru moči za období 24 hodin pro posouzení glomerulárních funkcí ledvin u zdravých jedinců. Závěr této studie nevyklučuje možnosti použití kratšího časového období sběru moči, zejména 8hodinového sběru moči. (Markantonis a Agathokleous-Kioupaki 1998)

ZÁVĚR

Porovnáním výsledných hodnot clearance endogenního kreatininu u vzorku moči vybrané skupiny pacientů, sbírané za období 6 hodin a 24 hodin, jsme zjistili, že rozdíly mezi hodnotami $Cl_{6\text{ h}}$ a $Cl_{24\text{ h}}$ nebyly nijak markantní. Naše studie tedy možnost použití sběru kratšího než 24 hodin nevyklučuje.

SEZNAM LITERATURY

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* [online]. **37**(Supplement_1), S81–S90 [vid. 2022-01-21]. ISSN 0149-5992. Dostupné z: doi:10.2337/dc14-S081

ANDĚL, Michal, Ludmila BRUNEROVÁ, Jan NOVÁK, Marcela HAŠPICOVÁ a Ludmila TREŠLOVÁ, 2007. Diabetes mellitus: současný pohled na patogenezi, klasifikaci a léčbu. *Neurology for practice* [online]. **8**(1), 49–54. ISSN 12131814. Dostupné z: <https://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-200701-0013.php>

DRECHSLEROVÁ, Taťána RNDr., 2005. *Cvičení z klinické biochemie*. Hradec Králové: Střední zdravotnická škola a vyšší zdravotnická škola Hradec Králové. ISBN 80-903414-3-8.

DYLEVSKÝ, Ivan, 2009. *Funkční anatomie*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-3240-4.

GOLDMANNOVÁ, MUDr Dominika, MUDr Ondřej KRYSTYNÍK a MUDr Ľubica CIBIČKOVÁ, 2019. Gestační diabetes mellitus–patofyziologie, možnosti prevence a léčba. *Interní medicína pro praxi*. 276–279.

HALUZÍKOVÁ, Jana a Bohdana BŘEGOVÁ a kol., 2019. *Oštrovatelství v nefrologii*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-5329-4.

HOLEČEK, Milan, 2006. *Regulace metabolismu cukrů, tuků, bílkovin a aminokyselin*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-1562-9.

HORAK, Pavel, 2019. Nedostatek vitamínu D a jeho zdravotní dopady. *Vnitřní lékařství* [online]. **65**(11), 724–727. ISSN 0042773X. Dostupné z: <https://casopisvnitrnilekarstvi.cz/artkey/vnl-201911-0012.php>

KITTNAR, Otomar a kol., 2020. *Lékařská fyziologie*. 2. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-1963-4.

LANGMEIER, Miloš, 2009. *Základy lékařské fyziologie*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-2526-0.

MARKANTONIS, Sophia L. a Eftychia AGATHOKLEOUS-KIOUPAKI, 1998. Can two, four or eight-hour urine collections after voluntary voiding be used instead of twenty -four

hour collections for the estimation of creatinine clearance in healthy subjects. *Pharmacy World and Science* [online]. **20**(6), 258–263. ISSN 1573-739X. Dostupné z: doi:10.1023/A:1008674625308

MARTÍNKOVÁ, Jiřina, a kol., 2018. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-4157-4.

MOUREK, Jindřich, 2012. *Fyziologie, učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 2., doplněné vydání. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-3918-2.

NAVRÁTIL, Leoš, a kol., 2008. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-2319-8.

NAVRÁTIL, Leoš, a kol. a a, 2017. *Vnitřní lékařství pro nelékařské zdravotnické obory: 2., zcela přepracované a doplněné vydání* [online]. B.m.: Grada Publishing a.s. ISBN 978-80-271-9181-9. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=FIhVDwAAQBAJ>

PERUŠIČOVÁ, Jindřiška, 2017. *Diabetes mellitus – onemocnění celého organismu*. Praha 4: Maxdorf s.r.o. ISBN 978-80-7345-512-5.

RACEK, Jaroslav, a kol, 2006. *Klinická biochemie*. 2., přepracované vydání. Praha: Galén. ISBN 80-7262-324-9.

ROCHE, 2022. *CREP2: Kreatinin plus 2. verze* [online]. 2022. Sandhofer Strasse 116: Mannheim. Dostupné z: <https://pim-eservices.roche.com/eLD/api/downloads/8a9adb5a-3d7f-ec11-0d91-005056a772fd?countryIsoCode=cz>

ROKYTA, Richard, a kol., 2015. *Fyziologie a patologická fyziologie pro klinickou praxi*. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-4867-2.

ŠÁLEK, Tomáš, 2016. Odhadovaná glomerulární filtrace dospělých pacientů. *Klinická farmakologie a farmacie*. **29**(4), 153–155. ISSN 1212-7973.

ŠÁLEK, Tomáš a Vladimír PALIČKA, 2014. Comparison of creatinine clearance and estimated glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Klinická biochemie a metabolismus*. **22** (43), 123–126.

ŠPINAR, Jindřich a Ondřej LUDKA a kol., 2013. *Propedeutika a vyšetřovací metody*

vnitřních nemocí - 2., přepracované a doplněné vydání [online]. B.m.: Grada. ISBN 978-80-247-4356-1. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=PonvN4OmYxIC>

TEAFORD, Hilary, Jason BARRETO, Kathryn VOLLMER, Andrew RULE a Erin BARRETO, 2020. Cystatin C: A Primer for Pharmacists. *Pharmacy* [online]. **8**, 35. Dostupné z: doi:10.3390/pharmacy8010035

TEPLAN, Vladimír a kol., 2015. *Nefrologie vyššího věku*. Praha 4: Mladá fronta a.s.

TEPLAN, Vladimír, 2013. *Nefrologické minimum pro klinickou praxi*. Praha 4: Mladá fronta a.s. ISBN 978-80-204-2881-3.

TEPLAN, Vladimír, a kol., 2006. *Praktická nefrologie*. 2., zcela přepracované a doplněné vydání. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 80-247-1122-2.

TESAŘ, Vladimír a Ondřej VIKLICKÝ a kol., 2015. *Klinická nefrologie*. 2. Praha 7: Grada Publishing, a.s.

VÍTOVEC, Jiří, Jindřich ŠPINAR a Lenka ŠPINAROVÁ a kol., 2017. *Farmakoterapie kardiovaskulárních onemocnění*. 3. Praha 7: Grada Publishing, a.s. ISBN 978-80-247-4713-2.

VOKURKA, Martin, a kol., 2012. *Patofyziologie pro nelékařské směry*. Praha: Univerzita Karlova v Praze. ISBN 978-80-246-2023-9.

ZIMA, Tomáš, Jaroslav RACEK, Romana RYŠAVÁ, Věra CHÁBOVÁ, Jakub ZIEG, Vladimír TESAŘ, Ondřej VIKLICKÝ, Bedřich FIEDECKÝ, Zdeněk KUBÍČEK, Josef KRATOCHVÍLA, Daniel RAJDL, Tomáš ŠÁLEK a Marta KALOUSOVÁ, 2021. Česká nefrologická společnost a Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP Doporučení k diagnostice chronického onemocnění ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie). *Klinická Biochemie a Metabolismus*. **29**, 94–103.

SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha A – Sběr moči a clearance kreatininu
- Příloha B – Povolení sběru dat ve FN

PŘÍLOHY

Příloha A – Sběr moči pro clearance kreatinu

 SBĚR MOČI NA CLEARANCE KREATININU	
Informace pro pacienty FN Plzeň	

Vážená paní, vážený pane, ošetřujícím lékařem Vám bylo naordinováno následující vyšetření moči:

clearance kreatininu

Jedná se o sběr moči během 6 hodin a 24 hodin. Vyšetření zjišťuje funkci vašich ledvin. Žádáme Vás o dodržení následujících instrukcí, aby vyšetření bylo hodnotitelné.

- 3 dny před a v den sběru moče na vyšetření omezte konzumaci masa a výrobků z něj; vyhněte se fyzické námaze,
- po dohodě s lékařem vynechte léky, pokud je to možné, především diuretika,
- v den testu pijte 1,5 - 2 l tekutin, omezte pití kávy, čaje a alkoholu,
- ráno (den před kontrolou v naší ambulanci) se vymočte **v 6 hodin** mimo sběrnou nádobu,
- následujících 24 hodin (celý den a celou noc) budete močit do připravené nádoby; doporučujeme čistou a suchou 5 l nádobu (vymýt pouze horkou vodou bez použití saponátů a dezinfekčních prostředků),
- **ve 12 hodin (tj. po 6 hodinách sběru)** změřte celkový objem moči s přesností na 10 ml a zapište si jej, jedná se o důležitý údaj, moč zamíchejte (např. špejlí) a odlijte vzorek moče do zkumavky nebo malé čisté a suché lahvičky s uzávěrem (minimálně 5 ml),
- nezapomeňte se vymočit do sběrné nádoby před každou stolicí,
- dále budete ve sběru pokračovat a naposledy se do sběrné nádoby vymočte **příští den ráno v 6 hodin**,
- opět změřte celkový objem moči s přesností na 10 ml a zapište si jej, moč zamíchejte (např. špejlí) a odlijte vzorek moče do zkumavky nebo malé čisté a suché lahvičky s uzávěrem (minimálně 5 ml),
- vzorky přineste na naši ambulanci, kde Vám ještě bude nalačno odebrána krev (můžete se napít neslazeného čaje nebo vody),
- v případě jakýkoliv nejasností, se obraťte s dotazem na zdravotnický personál naší nemocnice.

Zdroj: FN Plzeň

Příloha B – Povolení sběru dat ve FN



FAKULTNÍ NEMOCNICE PLZEŇ
Útvar náměstka pro ošetrovatelskou péči
Edvarda Beneše 13, 305 99 Plzeň - Bory
alej Svobody 80, 304 60 Plzeň - Lochotín
IČO 00669806 tel.: 377 401 111, 377 103 111

Vážená paní
Taťána Bryndaková
Studentka oboru Zdravotní laborant
Fakulta zdravotnických studií, Katedra záchranářství, diagnostických oborů a veřejného zdravotnictví
Západočeská univerzita v Plzni

Povolení sběru informací ve FN Plzeň

Na základě Vaší žádosti Vám jménem Útvaru náměstkyně pro ošetrovatelskou péči FN Plzeň **uděluji souhlas** se sběrem a zpracováním anonymizovaných dat z výsledků laboratorních metod, používaných v *Ústavu klinické biochemie a hematologie (ÚKBH) FN Plzeň*. Tento souhlas je vydáván, při splnění níže uvedených podmínek, v souvislosti s vypracováním Vaší bakalářské práce s názvem „Porovnání clearance kreatininu u 6hodinového a 24hodinového sběru moči“.

Podmínky, za kterých Vám bude umožněna realizace Vašeho šetření ve FN Plzeň:

- Vrchní zdravotní laborant ÚKBH souhlasí s Vaším postupem.
- Osobně povedete svoje šetření.
- Vaše šetření nenaruší chod pracoviště ve smyslu provozního zajištění dle platných směrnic FN Plzeň, ochrany dat pacientů a dodržování Hygienického plánu FN Plzeň. **Vaše šetření bude provedeno za dodržení všech legislativních norem, zejména s ohledem na platnost zákona č. 372/2011 Sb., o zdravotních službách a podmínkách jejich poskytování, v platném znění.**
- Údaje ze zdravotnické dokumentace pacientů, které budou uvedeny ve Vaší bakalářské práci, musí být anonymizovány.
- Sběr informací budete provádět v době Vaší, školou schválené, odborné praxe a pod přímým vedením oprávněného zdravotnického pracovníka, kterým je **MUDr. Pavel Brož, Ph.D., lékař ÚKBH FN Plzeň**.

Po zpracování Vámi zjištěných údajů poskytnete zdravotnickému oddělení / klinice či organizačnímu celku FN Plzeň závěry Vašeho šetření, pokud o ně projeví oprávněný pracovník ZOK / OC zájem a budete se aktivně podílet na případné prezentaci výsledků Vašeho šetření na vzdělávacích akcích pořádaných FN Plzeň.

Toto povolení nezakládá povinnost zdravotnických pracovníků s Vámi spolupracovat, pokud by spolupráce s Vámi narušovala plnění pracovních povinností zaměstnanců. Spolupráce zaměstnanců FN Plzeň na Vašem šetření je dobrovolná.

Přeji Vám hodně úspěchů při studiu.

Mgr. Bc. Světluše Chabrová
manažerka pro vzdělávání a výuku NELZP
zástupkyně náměstkyně pro oš. péči

Útvar náměstkyně pro oš. péči FN Plzeň
tel. 377 103 204, 377 402 207
e-mail: chabrovass@fnplzen.cz

8. 6. 2020