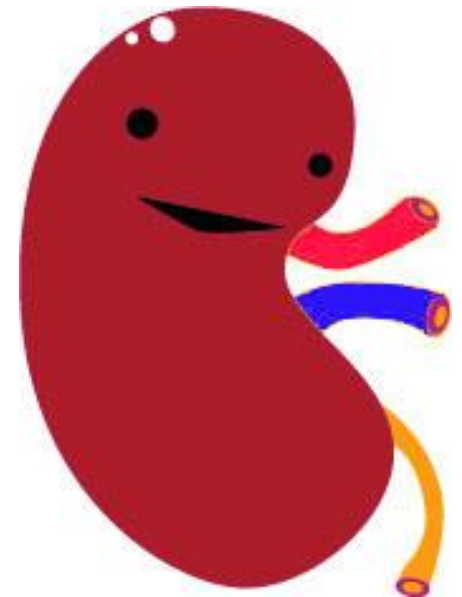
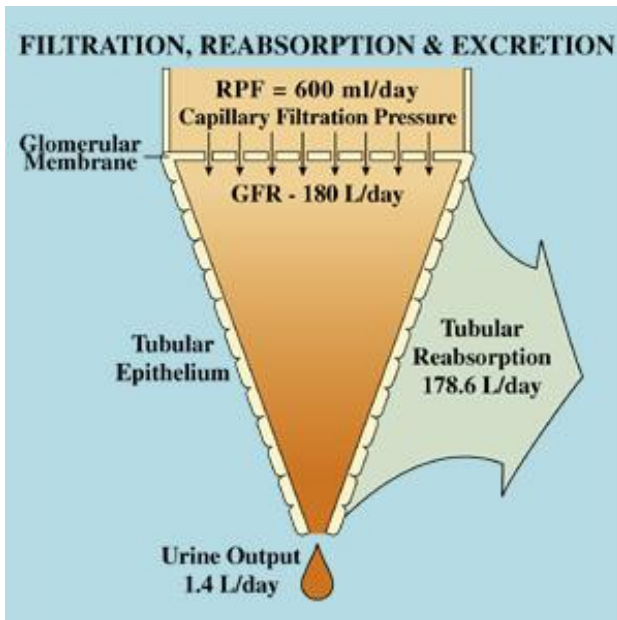
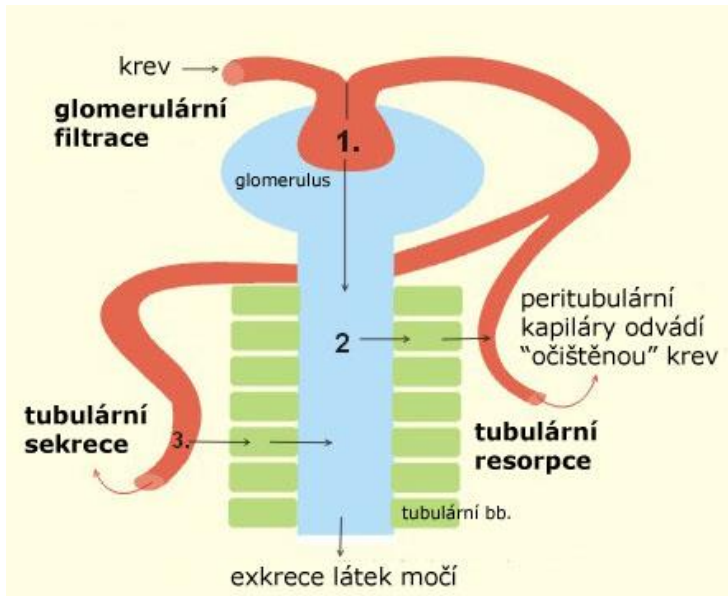


Glomerulární filtrační rychlost (GFR) – metody stanovení

Stanovení kinetiky vylučování inulinu ledvinami na modelu renální insuficience způsobené sníženým počtem funkčních glomerulů (vyřazením jedné ledviny z funkce podvazem renálních cév)

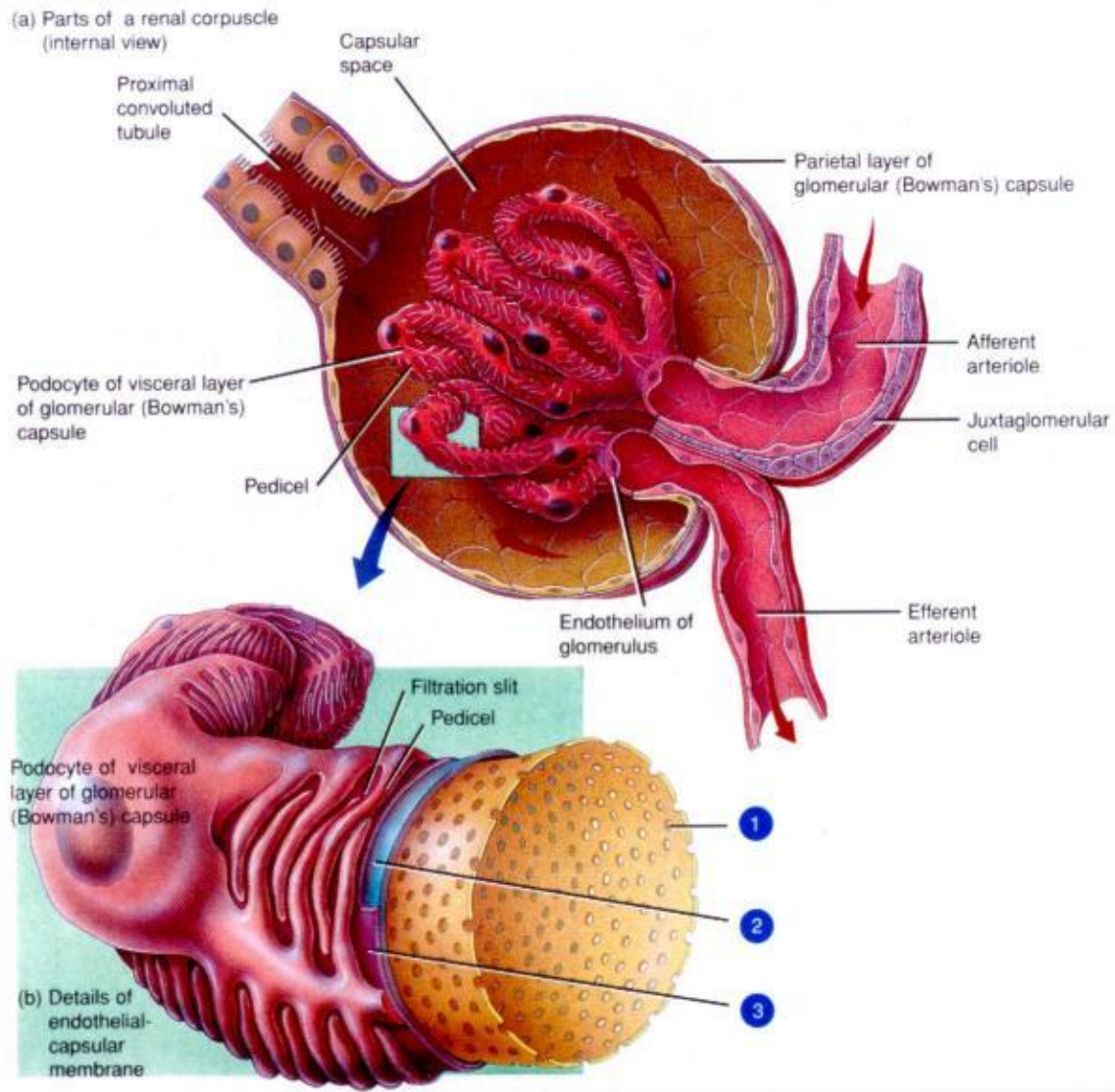


Nefron – základní transportní procesy



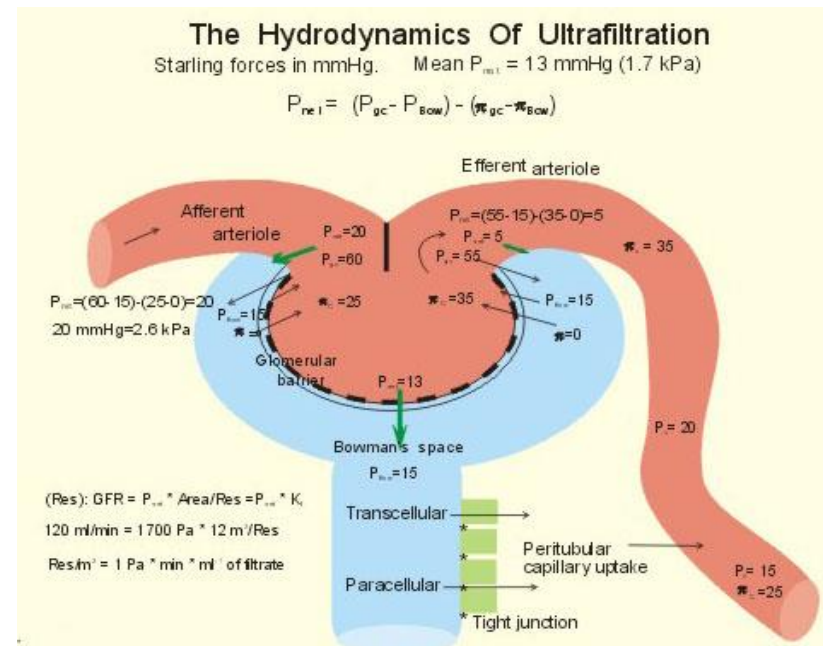
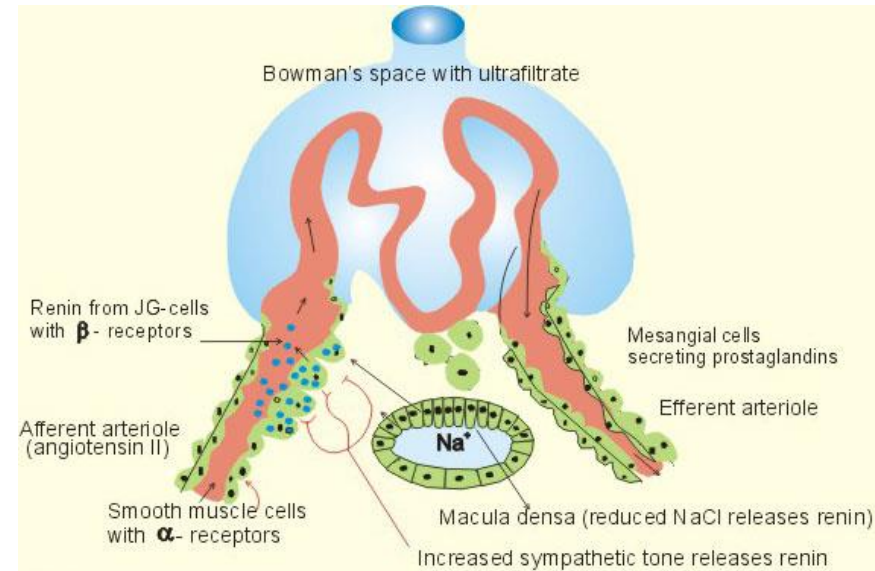
- glomerulární filtrace
 - na základě hydrostatických a osmotických tlakových gradientů (Starlingovy síly)
 - omezení velikostí látky $<65\text{kDa}$ a dalšími kritérii
- tubulární resorpce
 - typicky symporty
 - např. Na/Glc, Na/AK, ...
 - satureovatelná kapacita (transportní maximum, T_m)
 - renální prahy pro látky (např. Glc)
- tubulární sekrece
 - aktivní
 - sekundárně aktivní

Filtrační membrána

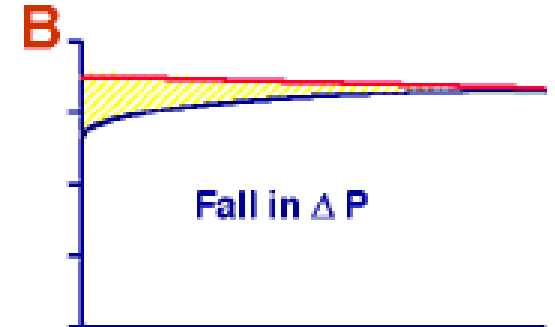
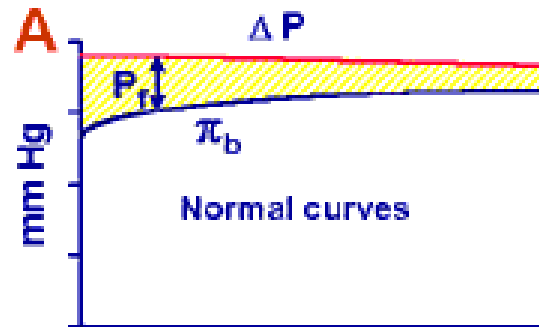
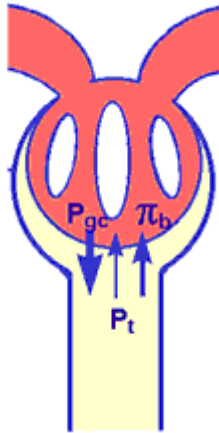


Glomerulární filtrační rychlost (GFR)

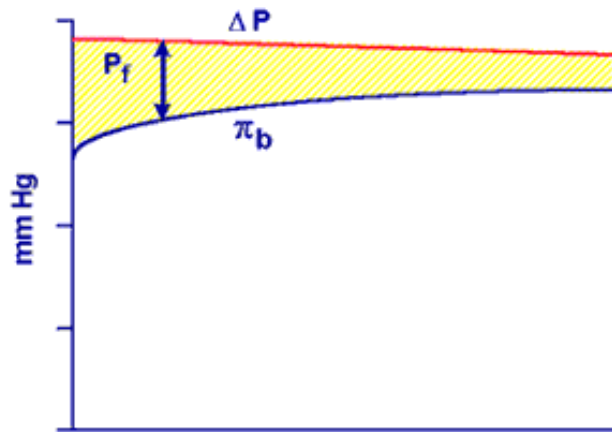
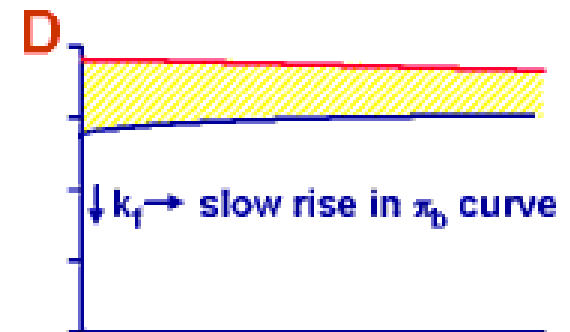
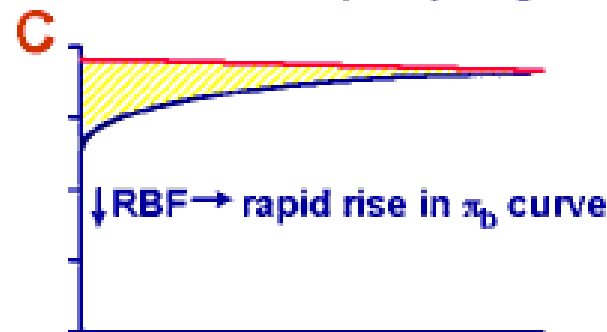
- GFR je základním parametrem funkce ledvin
 - množství glom. filtrátů za min
- rychlost ultrafiltrace plazmy do Bowmanova pouzdra - **GFR = A × K × P_f** - závisí na:
 - **A = velikost celk. filtrační plochy (~100m²)**
 - tedy počet glomerulů, mění se s úbytkem funkčních glomerulů
 - **K = propustnost filtrační membrány**
 - mění se při nemocech ledvin ovlivňujících strukturu glom. filtr. membrány
 - **P_f = efektivní ultrafiltrační tlak**
 - závisí na rozdílu hydrostatických a onkotických tlaků mezi glom. kapilárou a vnitřkem Bowmanova pouzdra
 - ☛ Starlingovy síly: $P_f = P_{gc} - P_t - \pi_b$
 - ☛ na rozdíl od běžných kapilár ovšem hydrost. tlak v celé délce glom. kapiláry poklesá minimálně (v důsledku autoregulace), takže filtrace je cca 100-krát větší



Faktory ovlivňující GFR



Glomerular capillary length



Glomerular capillary length

GFR není v jednotl. nefronech stejná

Cortical And Juxtamedullary Nephrons

A:

Cortical nephron
(low perfusion, low GFR)

Proximal
tubule: 25 m²

Juxtamedullary
nephron (15%;
large perfusion,
large GFR)

Medulla

Inner
zone

Long loop of Henle

B:

Afferent
arteriole

Bowman
capsule

Peritubular
capillaries

Distal
tubule

Vena arcuata

Vasa recta

Loop of Henle

Collecting
duct

Papilla

Perfuze ledvin a GFR

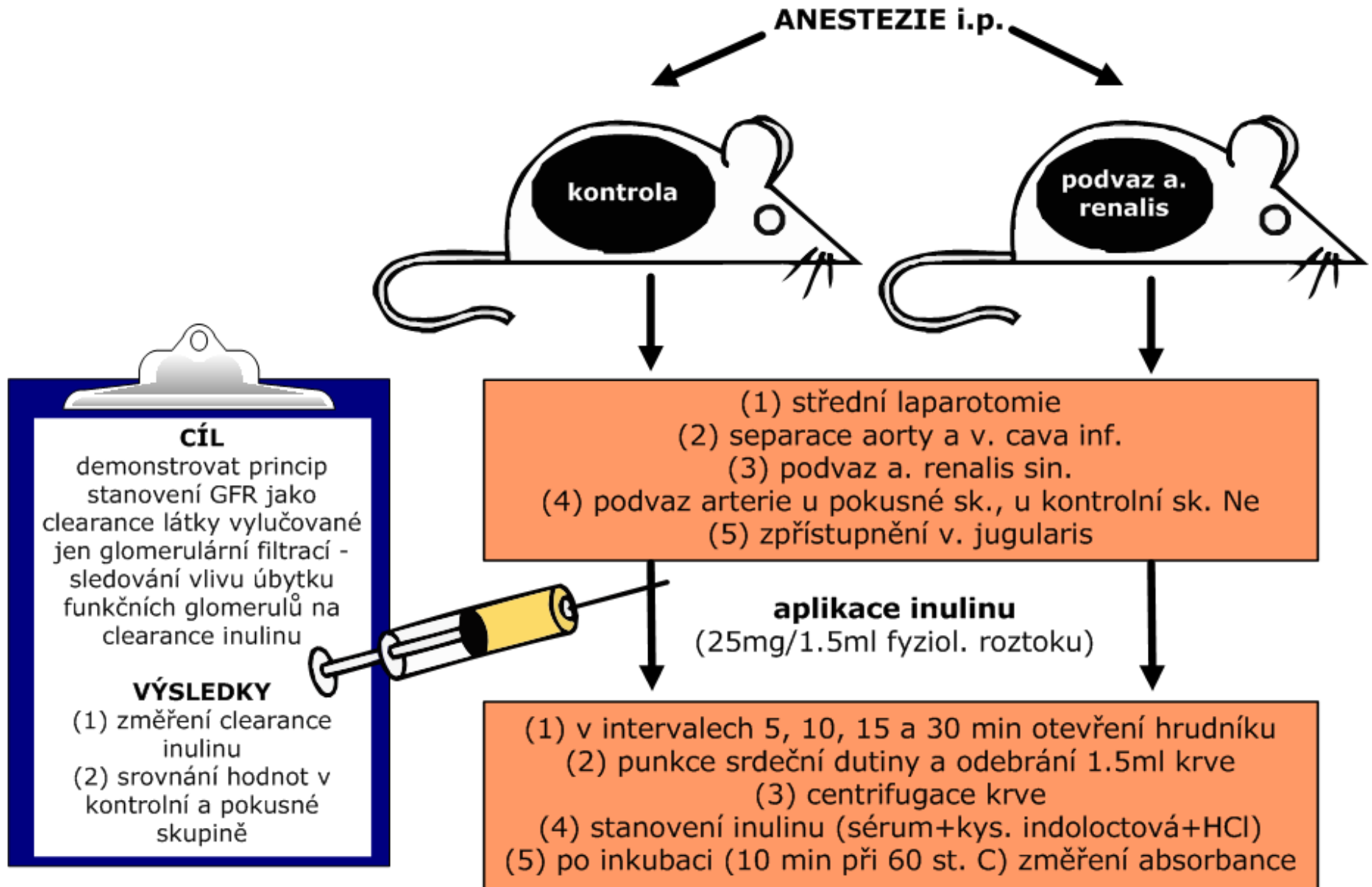
- u zdravého je průtok krve ledvinou a GFR velmi konstantní
 - veškerý objem plazmy proteče normálně ledvinou za cca 20 min
 - renal blood flow (RBF) $\sim 1000 - 1200$ ml/min
 - $\sim 20 - 25\%$ of CO (kortex $\gg \gg$ medula)
 - renal plasma flow (RPF) $\sim 600 - 700$ ml/min (hematokrit 0.45)
- glom. filtrace $\sim 20 - 25\%$ RPF \rightarrow GFR $\sim 120 - 140$ ml/min
 - poměr GFR/RPF = filtrační frakce ($120/600 = 0.2$)
 - denně ~ 180 l, 99% reabsorpce $\rightarrow 1.5-1.8$ l moči/den
- **GFR je základní parametr charakterizující ledvinné funkce**
 - ale objem glomerulárního filtrátu vytvořený za čas. jednotku **není přímo měřitelný**
 - dostatečně přesně ji lze určit stanovením **clearance** některých látek, která splňují určité předpoklady
 - nízkomolekulární, volně filtrované do moče, nevážou se na bílkoviny plazmy
 - nepodléhají další degradaci
 - nepodléhají tub. reabsorpci ani sekreci
 - koncentrace v plazmě a analogickém objemu glom. filtrátu je stabilní
 - koncentrace v definitivní moči se pak změní tolikrát, kolikrát klesl objem oproti glom. filtrátu ($[P] \times GF = V \times [U]$)
 - detekční metoda je jednoduchá, levná a standardizovatelná (mezi pracovišti)
- clearance látky X = objem plazmy úplně očištěný za jednotku času od látky X
 - rozměr: objem/čas
 - vyžaduje sběr moči za čas (ideálně 24 hodin, často méně)



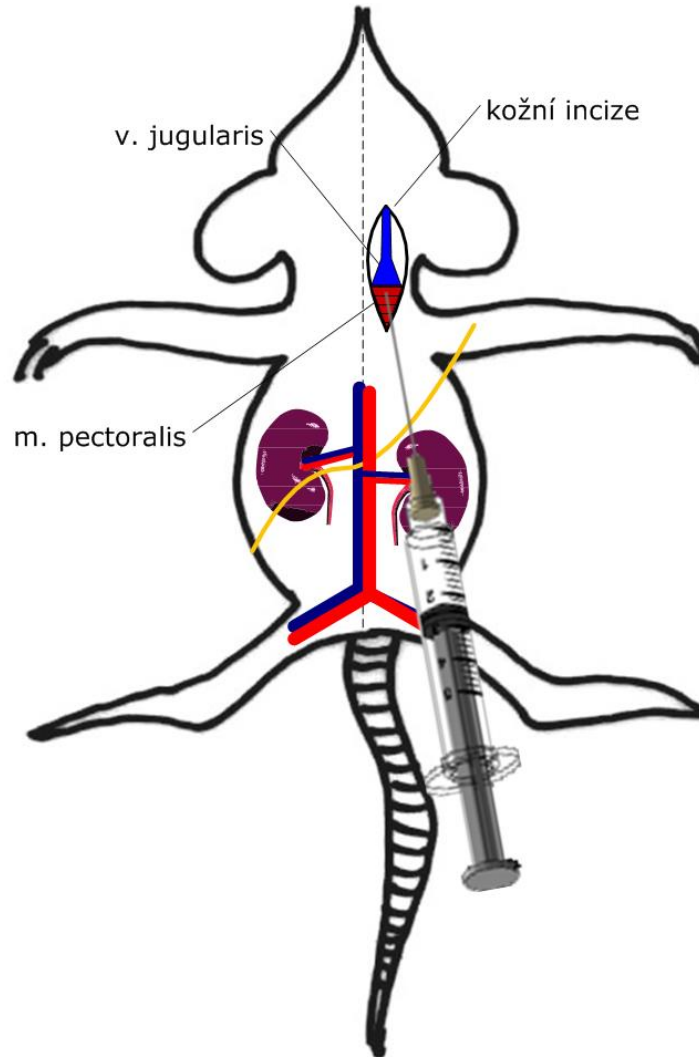
Ch. ledvinná insuficience (CKD)

- = chronic kidney disease (CKD)
- charakterizována progresivním poklesem GFR (typicky měsíce až roky)
- potencionálně důsledek prakticky všech onemocnění ledvin ovlivňujících perfuzi ledvin, filtrační plochu nebo propustnost filtr. membrány
- stadia
 - 1. $\geq 90\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$
 - 2. $60\text{-}89\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$
 - 3. $30\text{-}59\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$
 - 4. $15\text{-}29\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$
 - 5. $<15\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$ = renální selhání

Praktikum



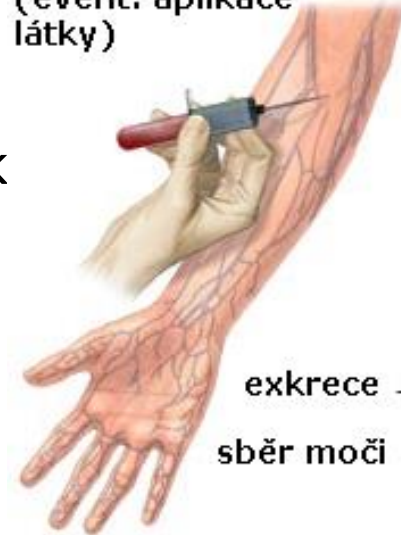
Operační přístup



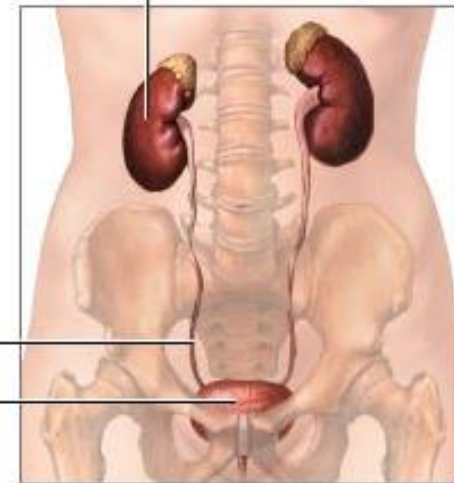
Metody stanovení GFR

- (1) plazmatická koncentrace látek
 - kreatinin (urea, K^+ , ...)
- (2) odhad na základě plazmatické koncentrace látek (eGFR)
 - kreatinin (Cockcroft-Gault rovnice)
- (3) clearance látky
 - exogenní – single-bolus metody
 - inulin
 - radiokontrastní - iohexol
 - radionuklidové - $^{51}\text{Cr-EDTA}$, $^{99\text{m}}\text{Tc-DTPA}$
 - endogenní – stabilní koncentrace látky v plazmě
 - kreatinin
 - cystatin C ($\sim 13\text{kDa}$)
 - ☛ produkován konstantní rychlostí ("housekeeping" funkce), látka ze skupiny inhibitorů cysteinových proteináz
 - ☛ filtrován a reabsorbován v prox. tubulu
 - » ale zde degradován, takže se po filtraci nevrací do cirkulace
 - ☛ citlivější ukazatel poklesu GFR ("creatinine-blind" range)

odběr vzorku krve
(event. aplikace
látky)



glom. filtrace

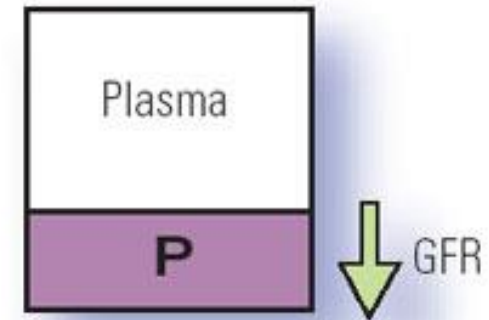


exkrece

sběr moči

Ledvinná clearance látky X

- GFR \approx clearance pouze filtrované látky
- exogenně bolusově podané látky, jejich koncentrace v plazmě postupně během vyšetření klesá
 - inulin (rostlinný polysacharid)
- endogenní látky s konstantní koncentrací v plazmě
 - kreatinin
 - norma: GFR \sim 120ml/min (\sim 2ml/s)
- na základě poklesu GFR u ledvinných chorob je definována funkční jednotka chron. onemocnění ledvin (chronic kidney disease, CKD) = GFR $<$ 90ml/min/1.73m²
 - mírné – GFR 60-90
 - středně závažné – GFR 30 - 59
 - závažné – GFR 15 - 29
 - $<$ 25% GFR = renální insuficience
 - ESRD (end-stage renal disease) – GFR $<$ 15
 - $<$ 10% GFR = renální selhání
 - vyžaduje dialýzu nebo transplantaci



P = Plasma concentration

U, V



U = urine concentration

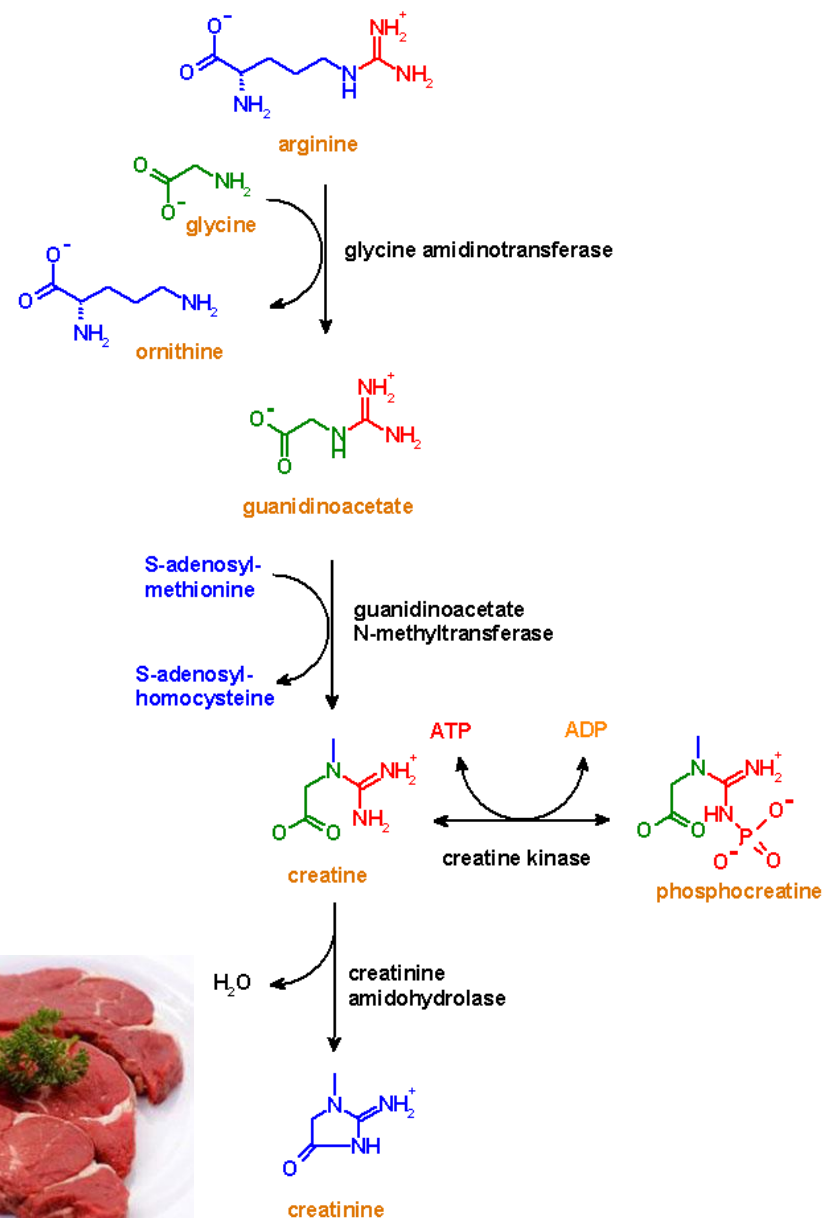
V = urine volume per time unit

$$c_x \cdot P_x = U_x \cdot V$$

$$c_x = \frac{U_x \cdot V}{P_x}$$

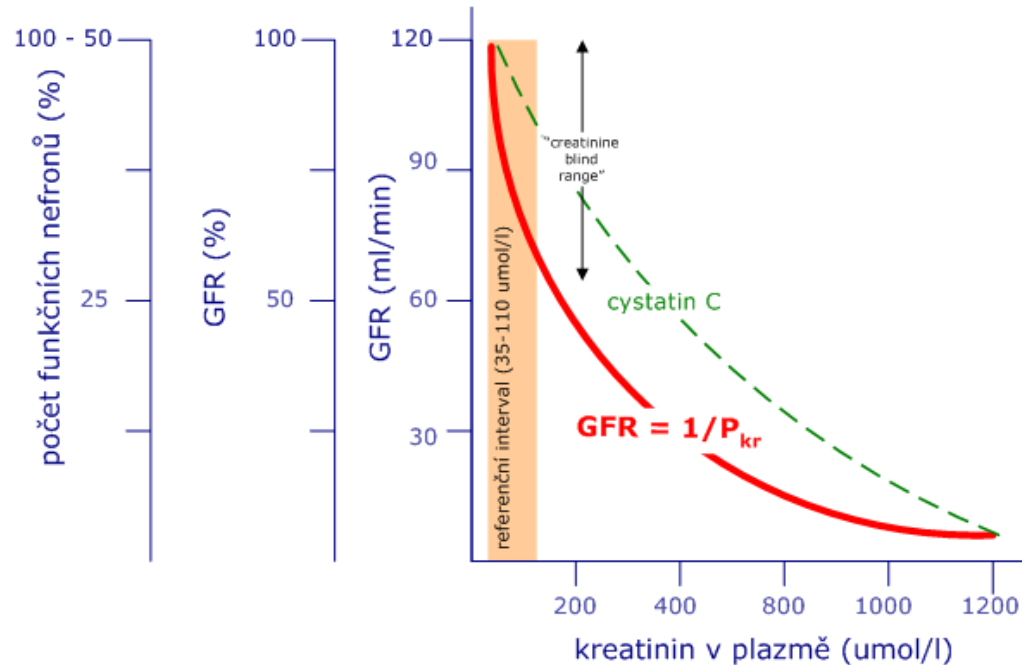
Kreatinin

- vzniká ve svalech z kreatinu
- při průchodu ledvinou je z 90% filtrován, z 10% secernován do moči tubuly
 - podíl tubulární sekrece roste při poklesu filtrace (pokles počtu fungujících nefronů)
 - tzn. čím menší GFR, tím méně přesné stanovení GFR pomocí Ckr, ale i přesto je kreatinin nejlepším endogenním ukazatelem GFR
- možný problém s kvantitativním sběrem moči
 - nedostatečná spolupráce
- koncentrace S-kreatininu je přímo úměrná svalové hmotě organismu (a tedy nepřímo závislá na věku a pohlaví)
 - plazmatický kreatinin = 35 – 100 $\mu\text{mol/l}$, produkce 1.2mg/min
 - proto často korekce na stand. 1.73m²
 - ale ani to nemusí odstranit diskrepanci
 - 25-letý atlet x 60-letý obézní muž = stejná váha a povrch
- intraindividuální kolísání nepřesahuje 10 - 15%
 - hladiny rostou po fyzické námaze
 - při příjmu exogenního kreatininu (maso)
 - zejména smažené



Vztah plazmatické hladiny kreatininu a GFR

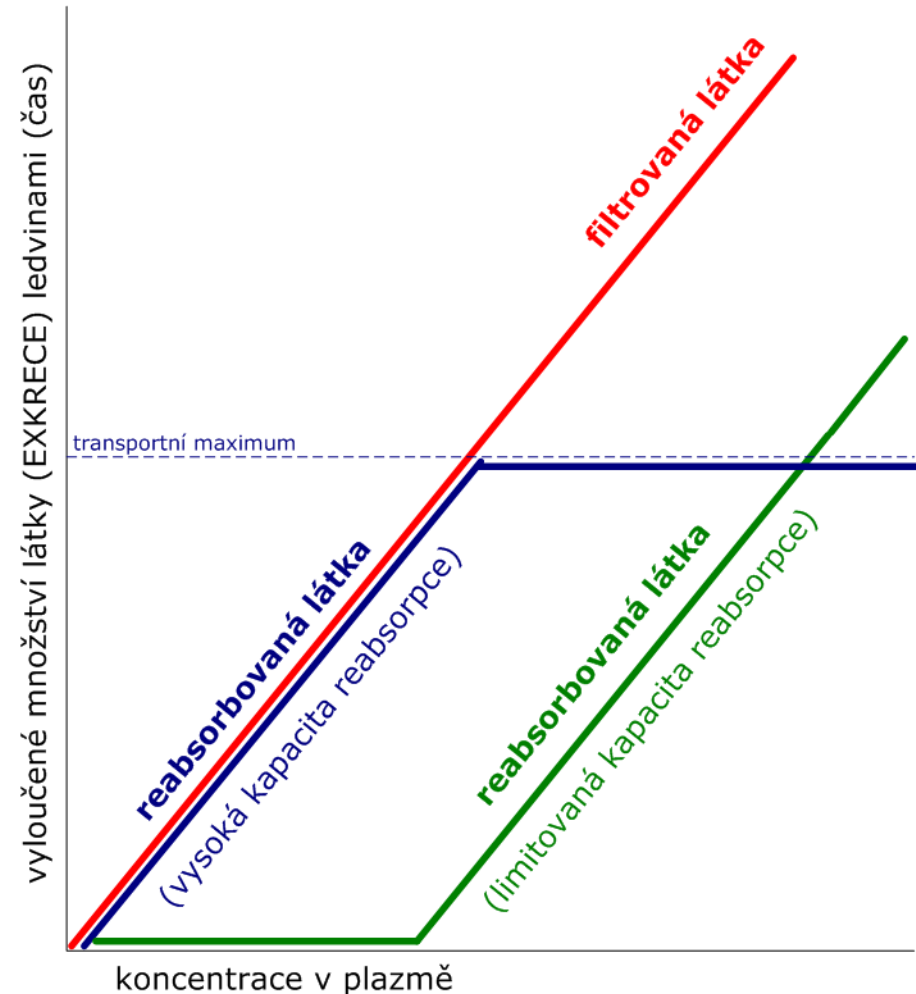
- CAVE – GFR významně neklesá při ztrátě do cca 50% funkčních glomerulů nelineární závislost [Kr] a GFR
- při progresivním postižení ledvin (>50% funkčních glomerulů) není iničiální pokles GFR (do cca 50%) provázen významnějším vzestupem [Kr]
 - při dalším poklesu začnou plazm. hladiny růst strměji
- odhadnutý (estimated) GFR (eGFR)
 - výpočet GFR podle plazmatických hladin kreatininu, věku a hmotnosti
 - **Cockroft-Gault rovnice** →
 - ☛ násobeno ×0,85 pro ženy, ×1.0 pro muže
 - **MDRD rovnice**



$$C_{kr} = \frac{(140 - vek) \cdot hmotnost}{49 \cdot P_{kr}}$$

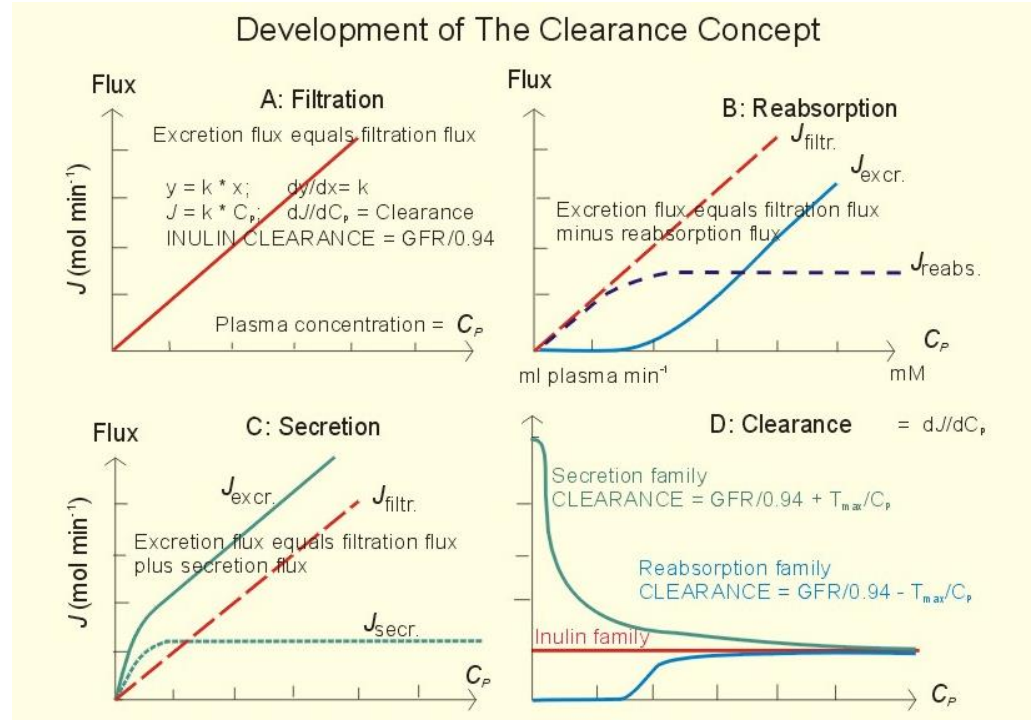
Ostatní endogenní látky

- veškeré filtrované látky můžeme rozdělit do několika skupin podle způsobu jakým je s nimi nakládáno v ledvině
 - (A) pouze filtrace
 - (B) filtrace + reabsorpce
 - glukóza, laktát, aminokyseliny, urea, bikarbonát, ketolátky, fosfáty, Na, ...
 - exkrece močí je do jisté hodnoty plazmatické koncentrace nulová (renální práh), potom roste podobně jako u filtrovaných látek
 - ☛ glukóza - 100% reabsorpce do ~10mmol/l
 - ☛ urea - 50% reabsorpce při normální GFR, vyšší při poklesu (pomalejší průtok napomáhá reabsorpci)
 - » hodnoty močoviny v plazmě jsou tedy kromě GFR ovlivněny také stupněm hydratace (volemii) a nutricí (katabolismus dusíkatých látek)
 - (C) filtrace + sekrece
 - exogenní - PAH
 - endogenní - K⁺



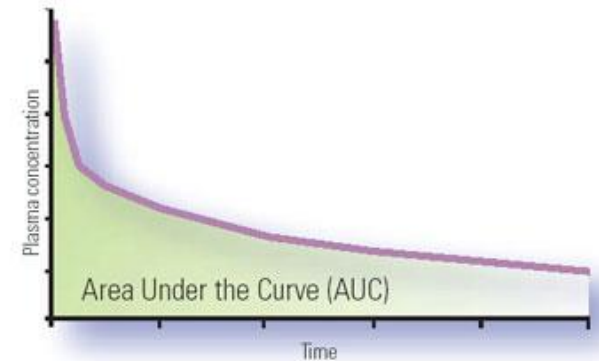
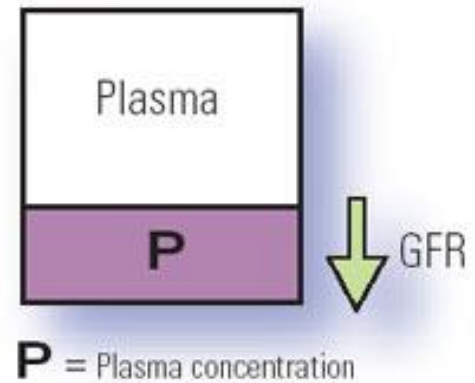
Ostatní endogenní látky

- veškeré filtrované látky můžeme rozdělit do několika skupin podle způsobu jakým je s nimi nakládáno v ledvině
 - (A) pouze filtrace
 - (B) filtrace + reabsorpce
 - glukóza, laktát, aminokyseliny, urea, bikarbonát, ketolátky, fosfáty, Na, ...
 - exkrece močí je do jisté hodnoty plazmatické koncentrace nulová (renální práh), potom roste podobně jako u filtrovaných látek
 - glukóza – 100% reabsorpce do ~10mmol/l
 - urea – 50% reabsorpce při normální GFR, vyšší při poklesu (pomalejší průtok napomáhá reabsorpci)
 - » hodnoty močoviny v plazmě jsou tedy kromě GFR ovlivněny také stupněm hydratace (volemii) a nutriční (katabolismus dusíkatých látek)
 - (C) filtrace + sekrece
 - exogenní - PAH
 - endogenní - K⁺



Stanovení GFR pomocí inulinu

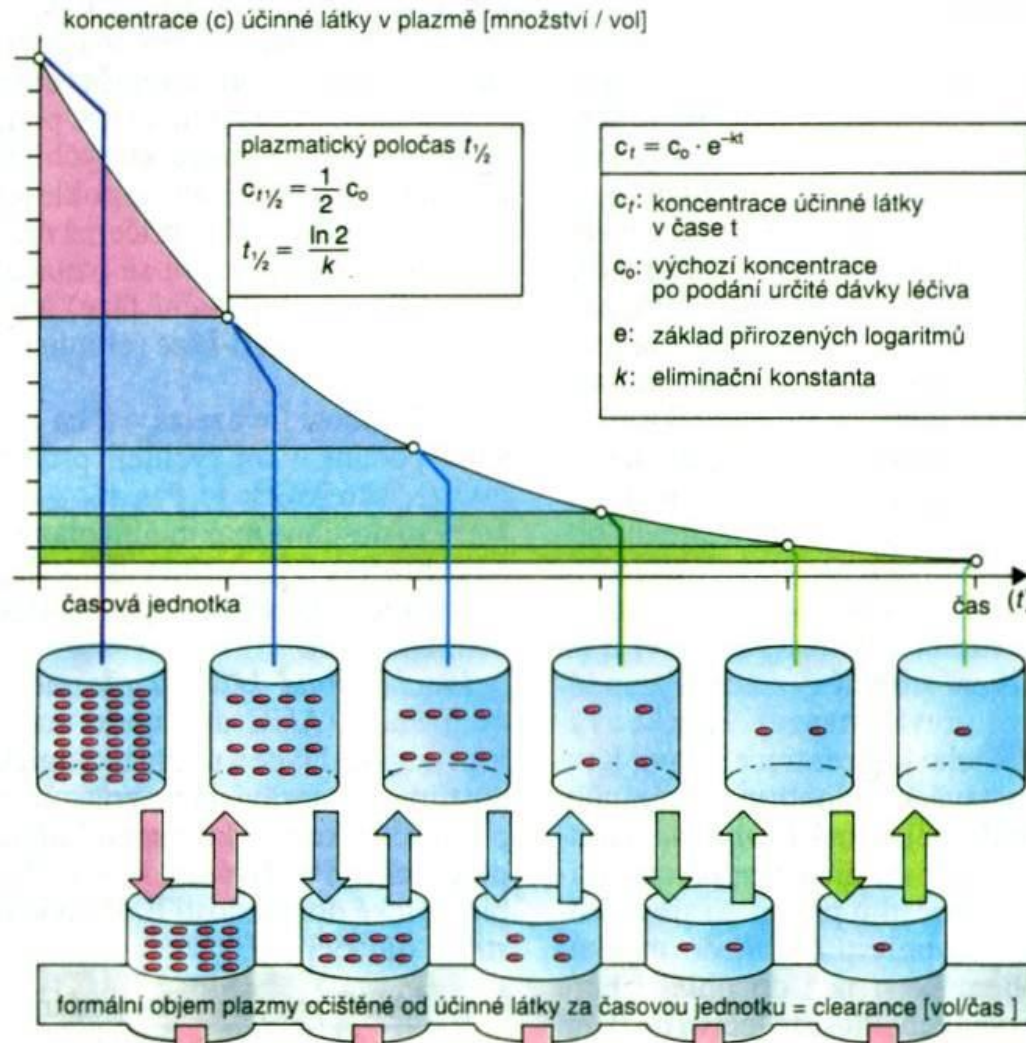
- inulin = rostlinný polysacharid (artičoky, jiřiny, pampelišky)
- výhody
 - není v těle tvořen ani metabolizován, není vázán na plazm. bílkoviny, nemá náboj, neprostupuje přes plazm. membrány (nedostává se tedy do ICF), netoxický, v ledvinách se výhradně filtruje a není v tubulech resorbován ani secernován
 - jestliže je látka z organismu vylučována pouze glom. filtrací, pak rychlost poklesu její plazm. koncentrace je určována výhradně renální funkcí, tj. glom. filtrací
 - měření GFR bez nutnosti sběru moči nebo není-li možný přesný sběr moči
- nevýhody
 - musí být podáván, časově a organizačně náročné, colorimetricky stanovitelný (interferuje s jinými látkami), spíše experimentální metoda
- metody inulinové clearance
 - (1) stabilní kontinuální i.v. infuze inulinu
 - renální clearance = GFR se stanovuje stejně jako u kreatininu, tedy stanovením plazmatické koncentrace a sběry moči ($V_1 \times c_1 = V_2 \times c_2$)
 - plazmatická clearance = spotřeba inulinu pro dosažení stabilní plazm. hladiny
 - (2) inulin se aplikuje jako i.v. bolus látky a dále měříme v odpovídajících intervalech jeho plazm. koncentraci
 - GFR lze vyšetřit pouze na podkladě kinetiky sledované látky v ECT (plazmě)
 - koncentrace inulinu v plazmě klesá exponenciálně
 - $GF = \text{plocha pod křivkou plazm. koncentrací}$
 - nanese-li hodnoty na semilogaritmický papír, dostaneme přímkou, ze které můžeme odečíst hodnotu tzv. **biologického poločasu** ($t_{1/2}$)
 - udává, za jakou dobu klesne koncentrace v plazmě na polovinu výchozí hodnoty ($[P_0]$)



Plasma clearance is determined by:

$$Cl = \frac{\text{Dose}}{\text{AUC}}$$

Princip "očišťování" plazmy o exogenní filtrovanou látku

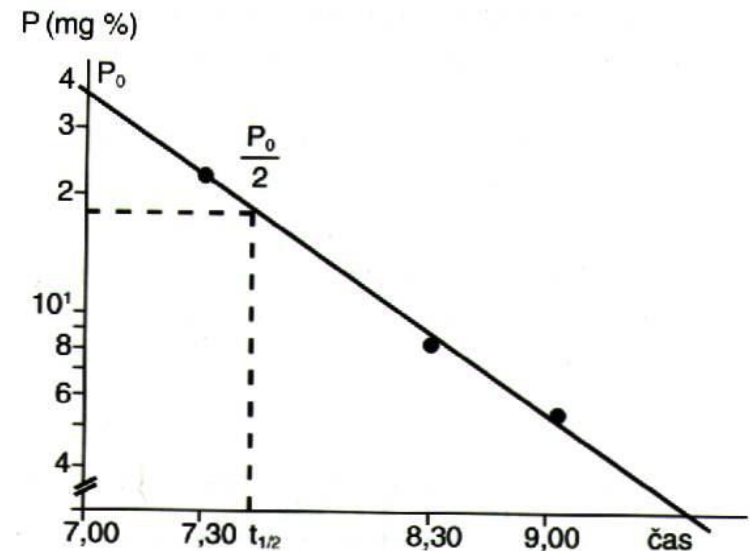


$$CL = k \times V_D$$

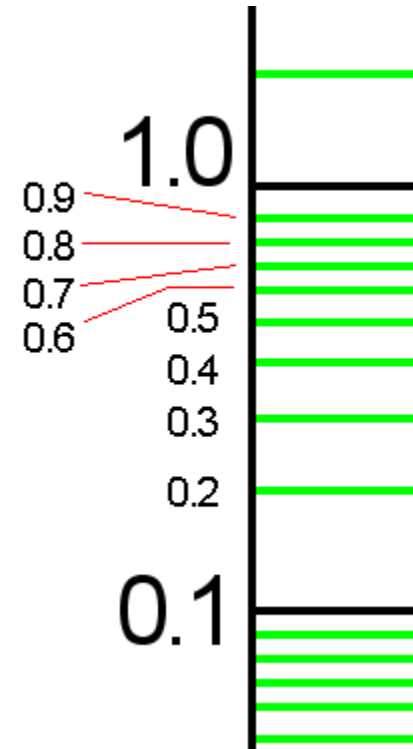
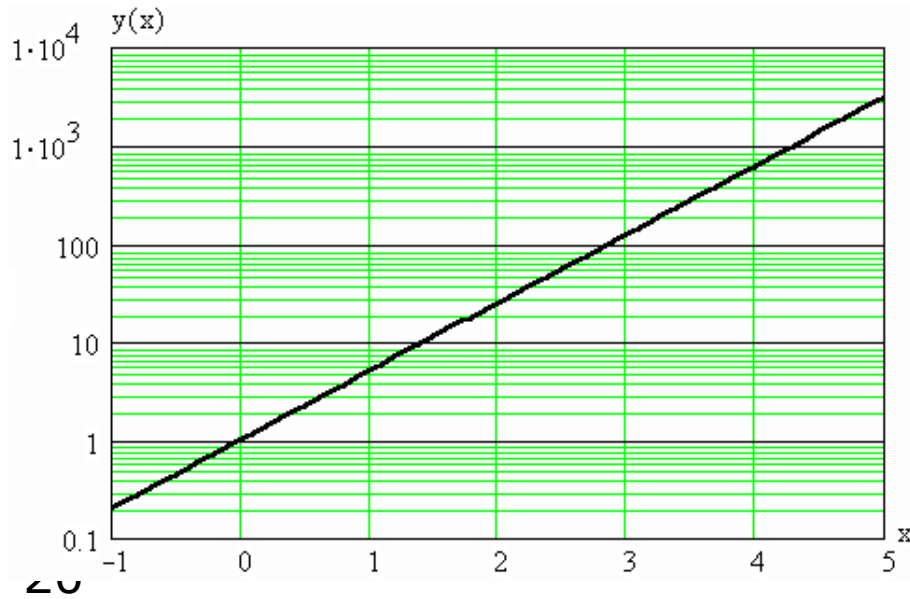
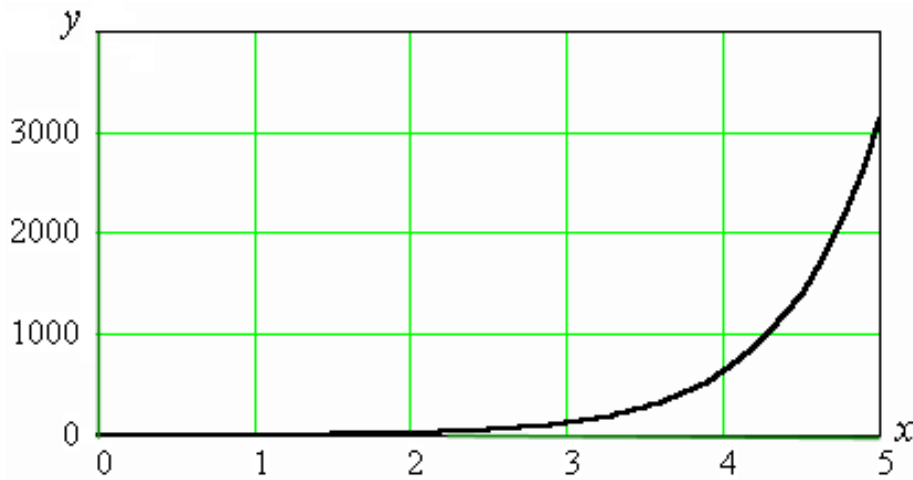
Hodnotu GFR vypočítáme

- D je množství aplikované látky
 - 25mg
- P_0 zjistíme extrapolací hodnot z přímky poklesu v čase
 - koncentrace v čase, kdy byla látka injikována = průmět s osou Y
- $t_{1/2}$ vypočteme metodou nejmenších čtverců s následujícími parametry:
 - počáteční koncentrací (stejná u pokusných i kontrolních zvířat)
 - rychlosti poklesu koncentrace inulinu – zvláště u kontrol a zvláště u pokusných zvířat (získané rychlostní konstanty by měly být v poměru 1:2 a rozdíl jejich hodnot vydělený odmocninou ze součtu čtverců celkových chyb jednotlivých rychlostí lze testovat t-testem s počtem stupňů volnosti rovným celkovému počtu zvířat)

$$GFR = \frac{D \cdot \ln 2}{P_0 \cdot t_{1/2}}$$



Lineární a semilogaritmický graf: $y = 5^x$



Koncentrace jako funkce času

