



# **Stanovení kinetiky vylučování inulinu ledvinami**

---

# Cíl: Demonstrovat princip stanovení GFR jako clearance látky vylučované jen glomerulární filtrací

---

## ○ Model

- Renální insuficience způsobená sníženým počtem funkčních glomerulů. Vyřazení jedné ledviny z funkce podvazem arteria renalis sinistra.

## ○ Přínos experimentu:

- Praktické měření ledvinné clearance. Sledování vlivu úbytku funkčních glomerulů na clearance inulinu. Praktické vyhodnocení naměřených dat.

# Provedení

---

- uspání laboratorního zvířete
- střední laparotomie, podvlečení ligatury pod a. renalis sinistra (event. zaškrcení této tepny)
- chirurgické zpřístupnění v. jugularis a aplikace inulinu (15mg/1,5ml fyz. roztoku)
- v intervalech 5, 10, 15, 20, 30 min) otevřeme hrudník a punkcí srdce odebereme nejméně 1,5ml srážlivé krve
- analýza vzorků , spektrofotometrické stanovení
- výpočet koncentrací inulinu + zhodnocení

# Ledvinná clearance látky x

---

- Objem plazmy úplně očištěný za jednotku času od látky x.
- Rozměr: objem/čas

# GFR

---

- Velikost GFR je dána:
  - Filtračním tlakem (poměr rozdílu tlak ve vas afferens a efferens a v BV)
  - Permeabilitou glomerulární membrány
  - Velikostí filtrační plochy

# Stanovení GFR

---

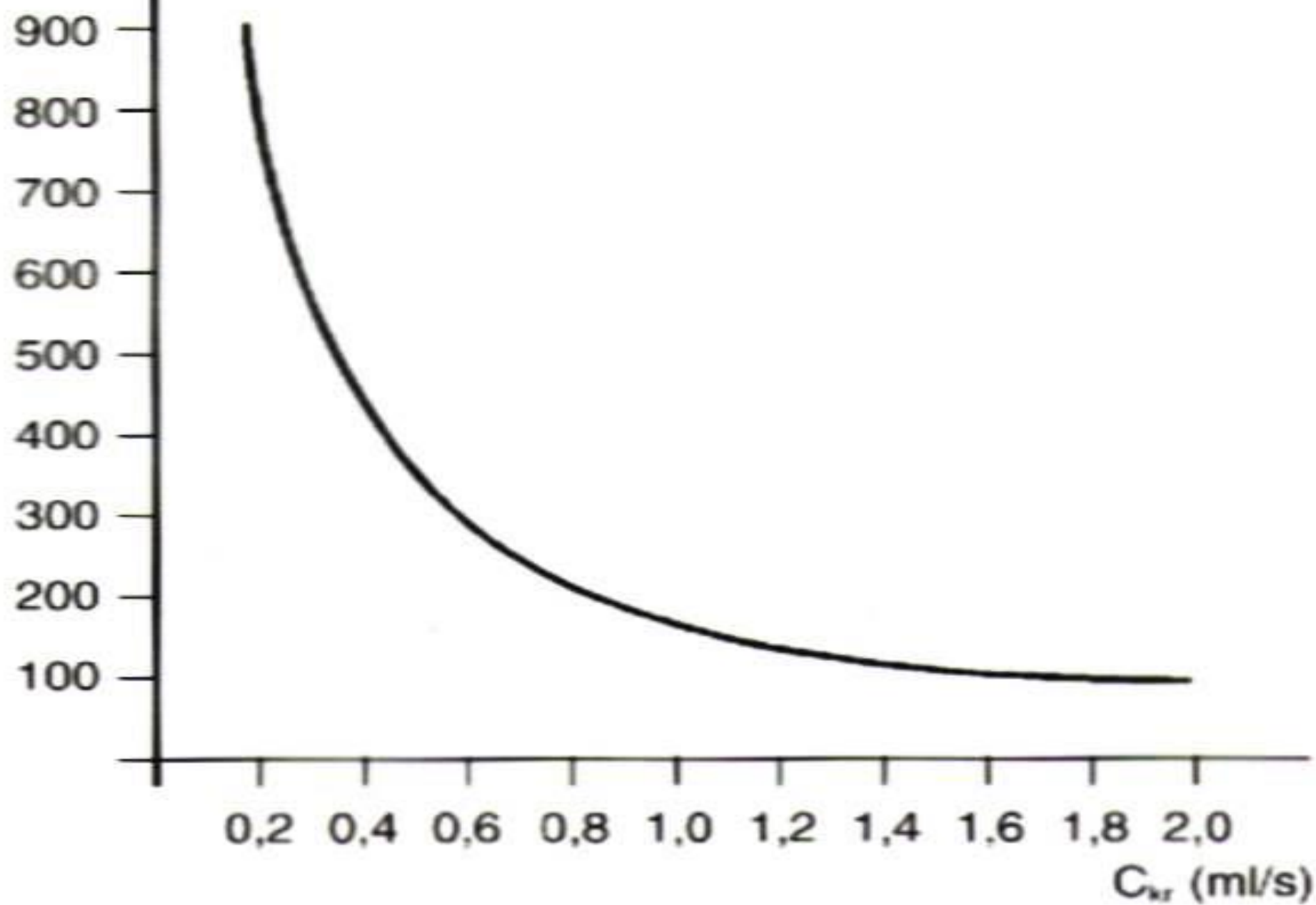
- Endogenní látky s konstantní koncentrací v plazmě.
  - Plazmatická koncentrace
  - Clearance
- Exogenně podané látky, jejich koncentrace v plazmě postupně během vyšetření klesá.
  - Clearance

# Odhad GFR na základě plazmatické koncentrace látek

---

- Závislost mezi plazmatickou koncentrací a GFR je hyperbolická
- „Okrajové“ části křivky jsou málo informativní
- Lépe použít vyšetření clearance, které je přesnější a má větší vypovídací hodnotu

$P_{kr}$  ( $\mu\text{mol/l}$ )





# Odvození vzorce pro výpočet GFR

---

- **$GF \times P + T = U \times V$**

- Chceme-li vypočítat GFR musí být  $T=0$ . Potom platí:

- **$GF \times P = U \times V$**

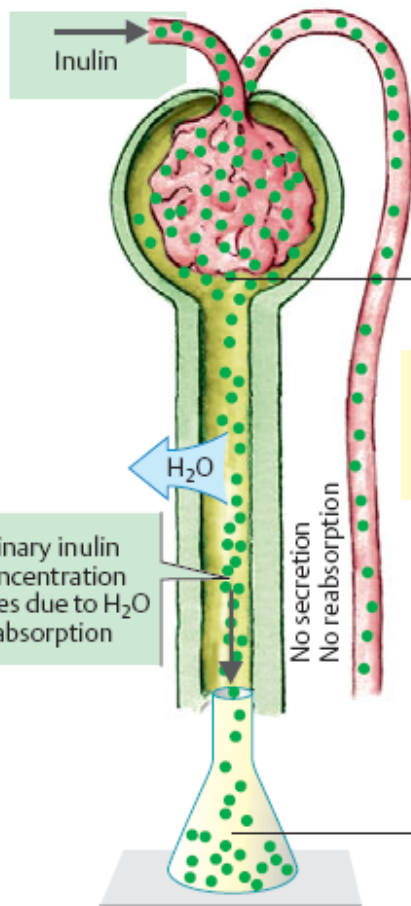
- **$GF = U \times V / P$**

# Inulin

---

- Chceme-li vypočítat GFR, musíme zvolit látku, která:
  - se bez omezení filtruje v glomerulech
  - nepodléhá přitom tubulární sekreci ani resorpci
- Látka která splňuje výše uvedené, je **INULIN**
  - tvořen fruktozovými jednotkami
  - všechno profiltrované množství se vyloučí v definitivní moči

A. Inulin clearance = glomerular filtration rate (GFR)



Amount excreted/time  
= Urinary inulin concentration  
· (urine volume/time)

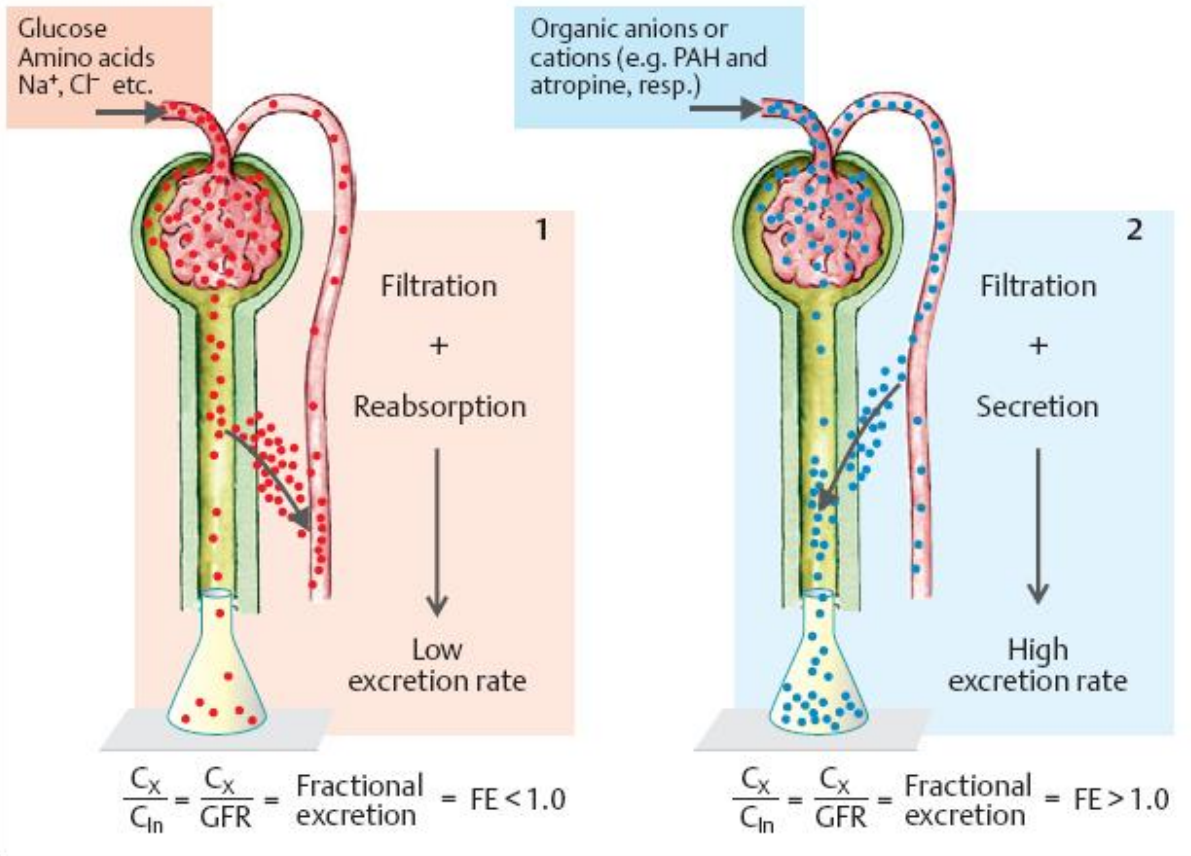
Amount filtered/time  
= Plasma inulin concentration  
· (filtered volume/time)

$$U_{In} \text{ (g/L)} \cdot \dot{V}_U \text{ (mL/min)} = P_{In} \text{ (g/L)} \cdot \text{GFR (mL/min)}$$

$$\text{GFR} = \frac{U_{In}}{P_{In}} \cdot \dot{V}_U \text{ (mL/min)}$$

GFR = ca. 120 mL/min  
per 1.73 m<sup>2</sup> body surface area

B. Clearance levels (1) lower or (2) higher than inulin clearance

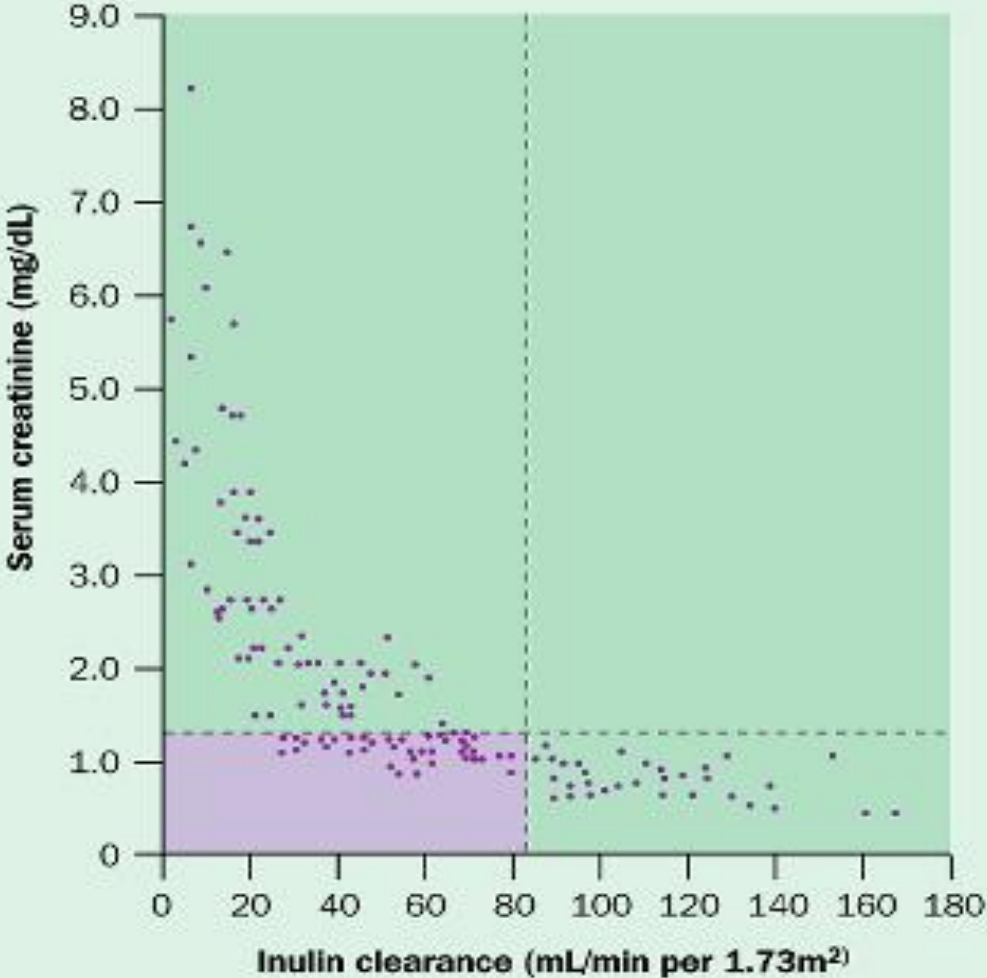


# Nevýhody inulinové clearance

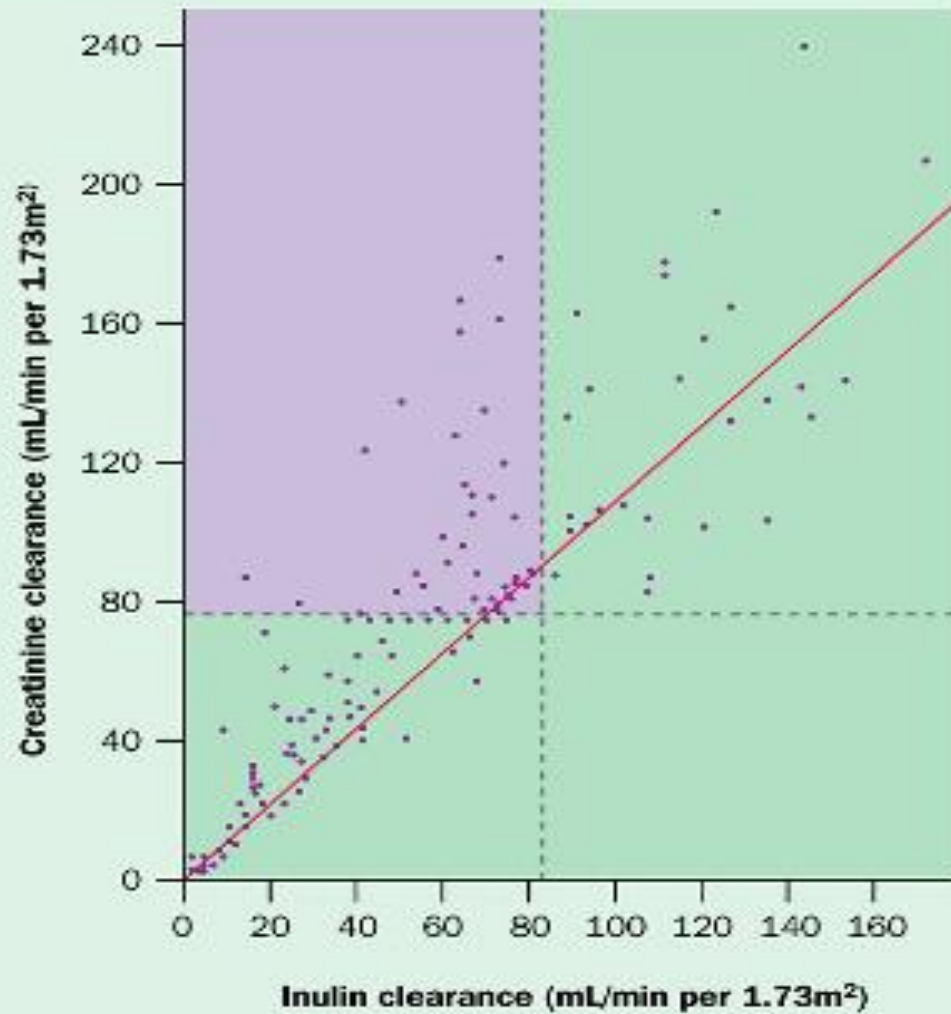
---

- Nutné zajistit stabilní c inulinu dlouhodobou infúzí
- Nepříznivý vliv reziduálního objemu moči v močovém měchýři
- Složitější je i stanovení koncentrace inulinu

# Relationship between serum creatinine and glomerular filtration rate



## Relationship between creatinine clearance and glomerular filtration rate



# Kreatinin

---

- vzniká ve svalech neenzymovou dehydratací kreatinu
- při průchodu ledvinou je z 90% filtrován, z 10% secernován do moči tubuly
- koncentrace kreatininu v séru je přímo úměrná svalové hmotě organismu ( a tedy nepřímo závislá na věku a pohlaví)
- intraindividuální kolísání nepřesahuje 10-15%, hladiny se zvyšují až při omezení GFR pod 50%
- ↑ hladiny - po fyzické námaze, při příjmu exogenního kreatininu (maso, masné výrobky)



# Hodnocení $C_{kr}$

---

- Ohled na správné a přesné stanovení S – kreatininu (Jaffého reakce - Jaffé pozit. chromogeny - i glu, aceton)
- podíl kreatininu vylučovaného tubuly (zvyšuje se při poklesu počtu fungujících nefronů - tzn. čím menší GFR, tím méně přesné stanovení pomocí  $C_{kr}$ )
- problém s kvantitativním sběrem moči (nedostatečná spolupráce - děti, staří nemocní..)
- velikost tělesného povrchu (korekce na stand.  $1.73m^2$ - nemusí odstranit diskrepanci 25-letý atlet x 60-letý obézní muž)

# Výpočet clearance

---

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

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

- Aby se vyloučil vliv nestejně velikosti těla, hmotnosti a konstituce, přepočítává se tato hodnota na ideální povrch těla, tj 1.73 m<sup>2</sup>
- Clearance jednorázová vs. frakcionovaná

# Nejčastější chyby při stanovení clearance kreatininu

---

- Neúplný sběr moči
- Nepromíchaná moč
- Nesprávný výpočet povrchu těla u obézních osob a pacientů s velkou retencí tekutin
- Pacient sbírá moč kratší období

# Stanovení GFR

---

- clearance látky, která se jen filtruje a není v tubulech resobrována nebo naopak secernována
- inulin (analog : polyfruktosan S -Inutest)
- $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA (diethylentriaminopentaoctová kyselina)
- $^{131}\text{I}$ -Iothalamát
- kreatinin (též tubulární sekrece - 10%)

---

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

- pro muže 20-80 let (u žen x 0.85)

# Cystatin C

---

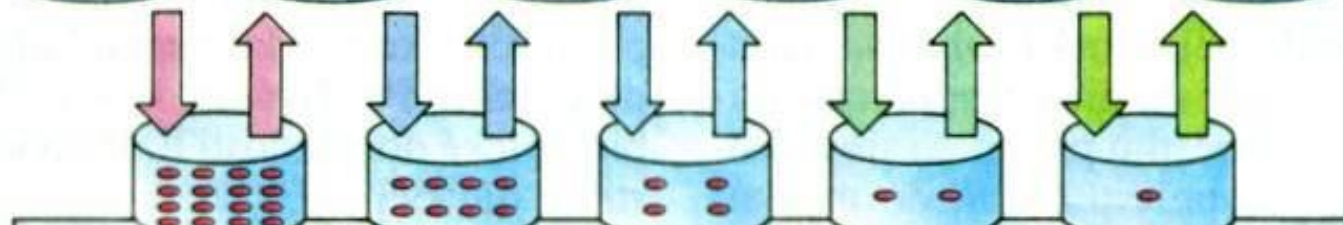
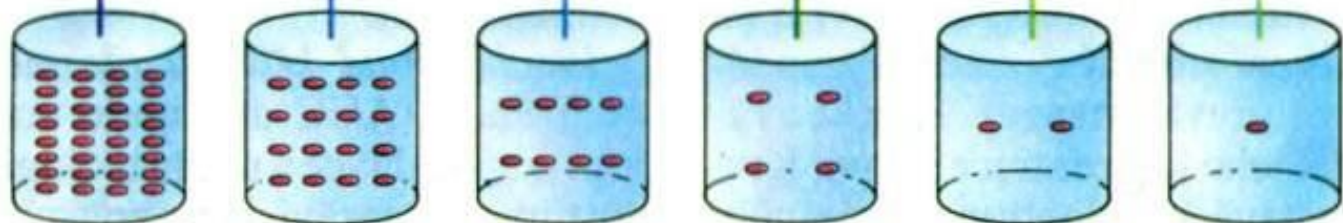
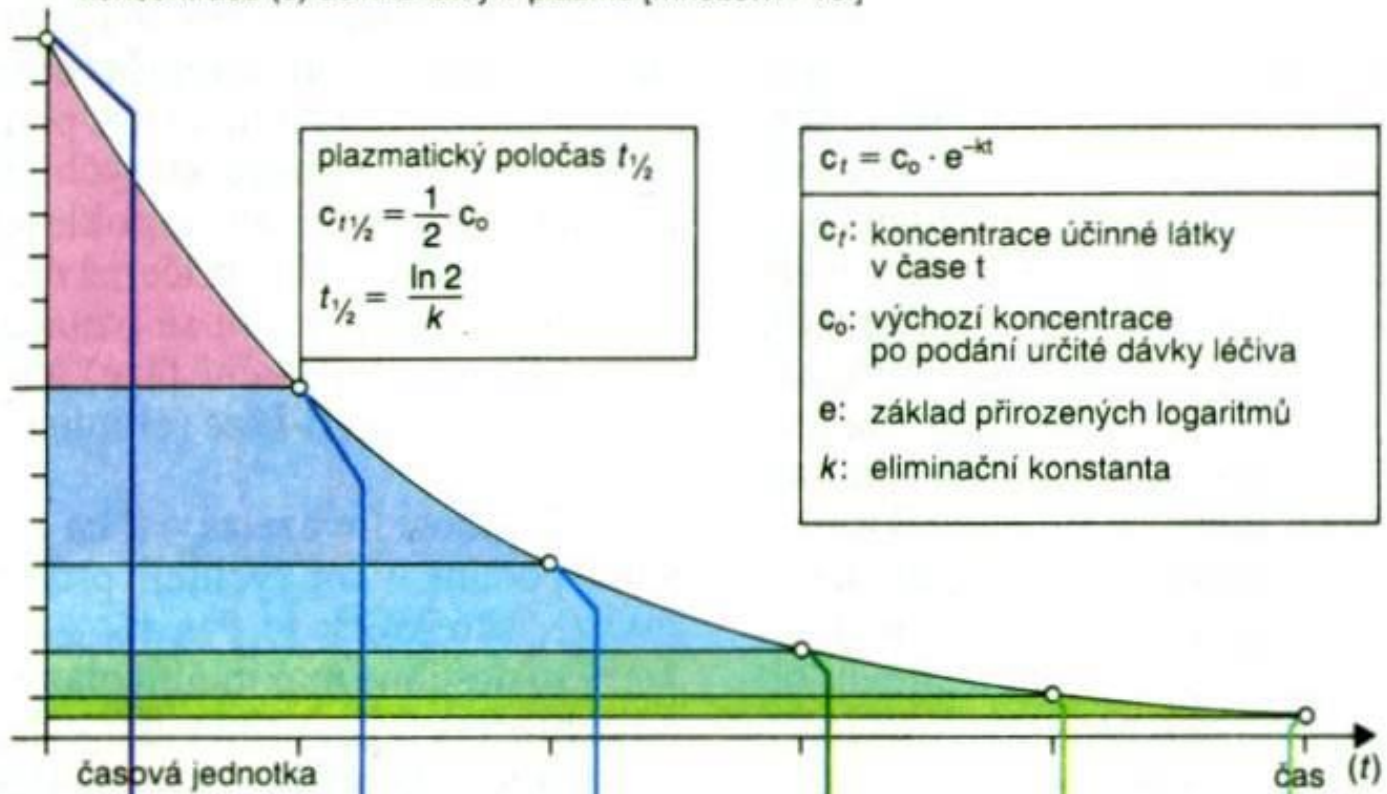
- protein z cystatinové superrodiny (120 kDa)
- vylučován většinou buněk jako inhibitor cysteinových proteáz
- filtrován do primární moči a poté resorbován proximálním tubulem, kde je degradován.
- z koncentrace v séru je přímo odhadována GFR

# Měření glomerulární filtrace bez nutnosti sběru moči

---

- i.v. aplikace látky vylučované jen glomerul. filtrací a měření plazmatické koncentrace v odpovídajících časových intervalech
- koncentrace v plazmě klesají podle exponenciální závislosti
- nanese-li hodnoty na semilogaritmický papír, dostaneme přímku, ze které můžeme odečíst hodnotu tzv. biologického poločasu ( $t_{1/2}$ )
- $t_{1/2}$  udává, za jakou dobu klesne koncentrace v plazmě na polovinu výchozí hodnoty ( $P_0$ )

koncentrace (c) účinné látky v plazmě [množství / vol]



formální objem plazmy očištěné od účinné látky za časovou jednotku = clearance [vol/čas]



# Inulinová clearance

---

- klasické vyšetření na podkladě plazmatické clearance (není-li možný přesný sběr moči)
- hodnota, kterou lze vyšetřit pouze na podkladě kinetiky sledované látky v extracelulární tekutině
- jestliže je látka z organismu vylučována pouze glomerulární filtrací, pak rychlost poklesu jejích plazmatických koncentrací (po předchozí i.v. aplikaci) je určována touto renální funkcí

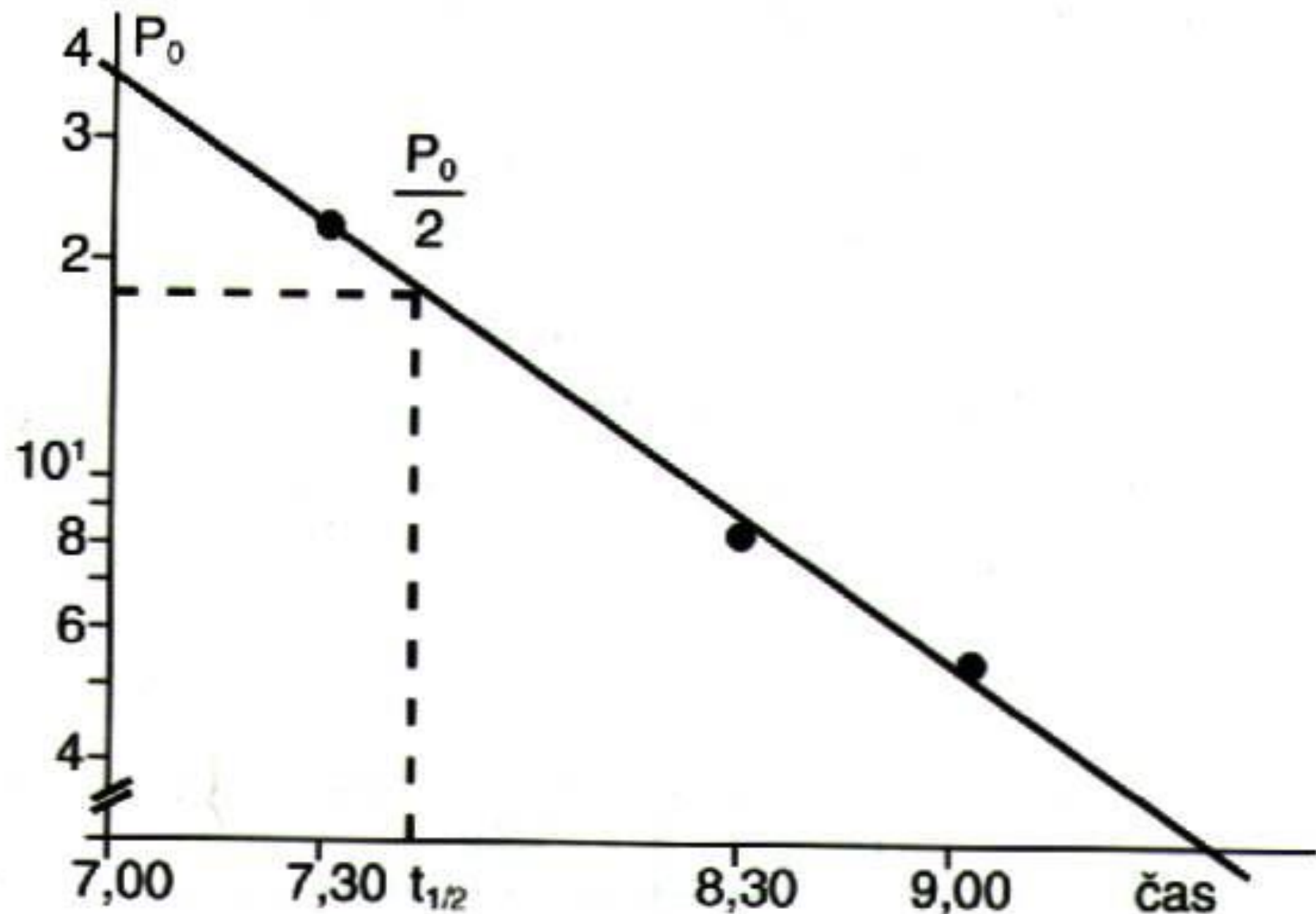
# Hodnotu GFR vypočteme

---

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

- D množství aplikované látky (g)
- $P_0$  zjišťujeme jako extrapolovanou hodnotu koncentrace v čase, kdy látka byla injikována
- $t_{1/2}$  vypočteme

P (mg %)



# Lambertův-Beerův zákon

---

○  $A = cd\varepsilon$

- $\varepsilon$  - molární absorpční (extinkční) koeficient
- $d$  - délka dráhy paprsku (délka kyvety)
- $c$  - molární koncentrace