

# Patofyziologie vylučovacího systému – část I

Glomerulární hemodynamika a GFR

Metody stanovení GFR

Filtrační membrána a její patologické změny

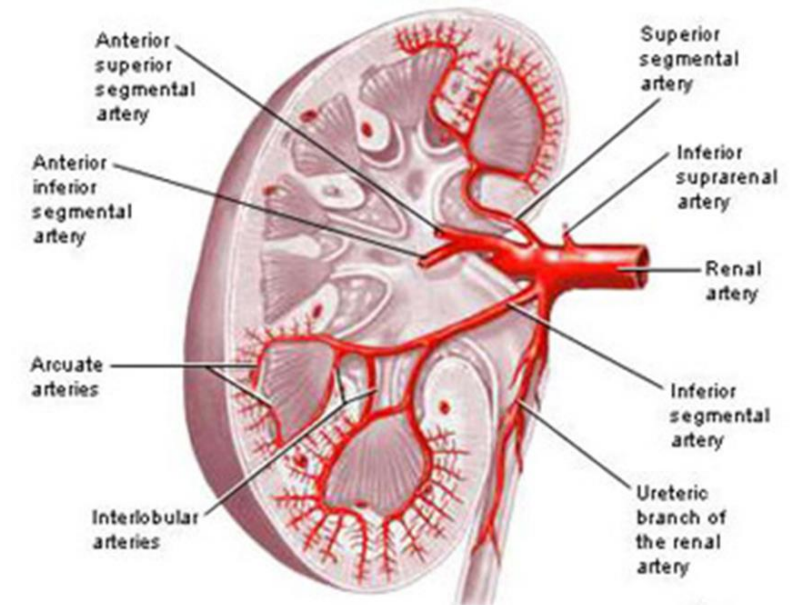
Proteinurie

Onemocnění glomerulů

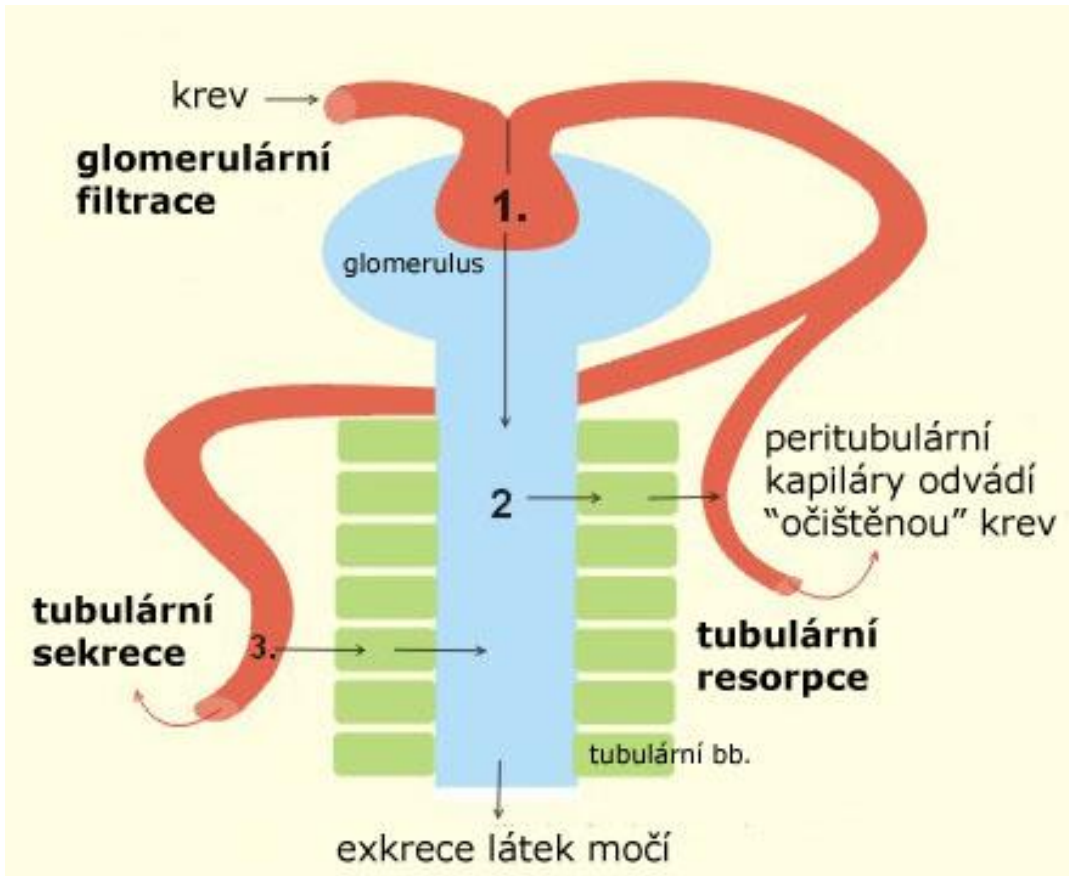


# Průtok krve ledvinou a funkce ledvin

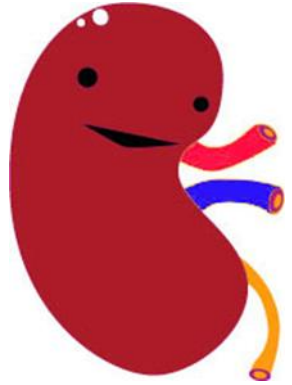
- ledvinou protéká cca 1200 ml/min, což představuje ~**20-25% srdečního výdeje**
  - průtok kůrou >>> dření ledvin
- ale arteriovenózní rozdíl v saturaci hemoglobinu je velmi malý
  - při 100% saturaci Hb O<sub>2</sub> v arteriální krvi je saturace Hb ve venózní krvi vytékající např. ze srdce 35%, u mozku 50%, ale v ledvině celých 90%
    - velká perfuze ledviny tedy primárně slouží regulačním účelům a ne nutrici
- krevní zásobení ledviny
  - a. renalis → aa. interlobares → aa. arcuate → aa. interlobulares → aferentní arterioly → glomerulární kapiláry → eferentní arterioly →
    - peritubulární kapilární síť (u kortikálních nefronů)
    - vasa recta (u juxtamedulárních nefronů)
- regulace
  - extracelulárního objemu
  - tonicity a osmolarity
  - acidobazické rovnováhy
  - dusíkového metabolismu
  - homeostázy kalcia a fosfátů
  - hematokritu



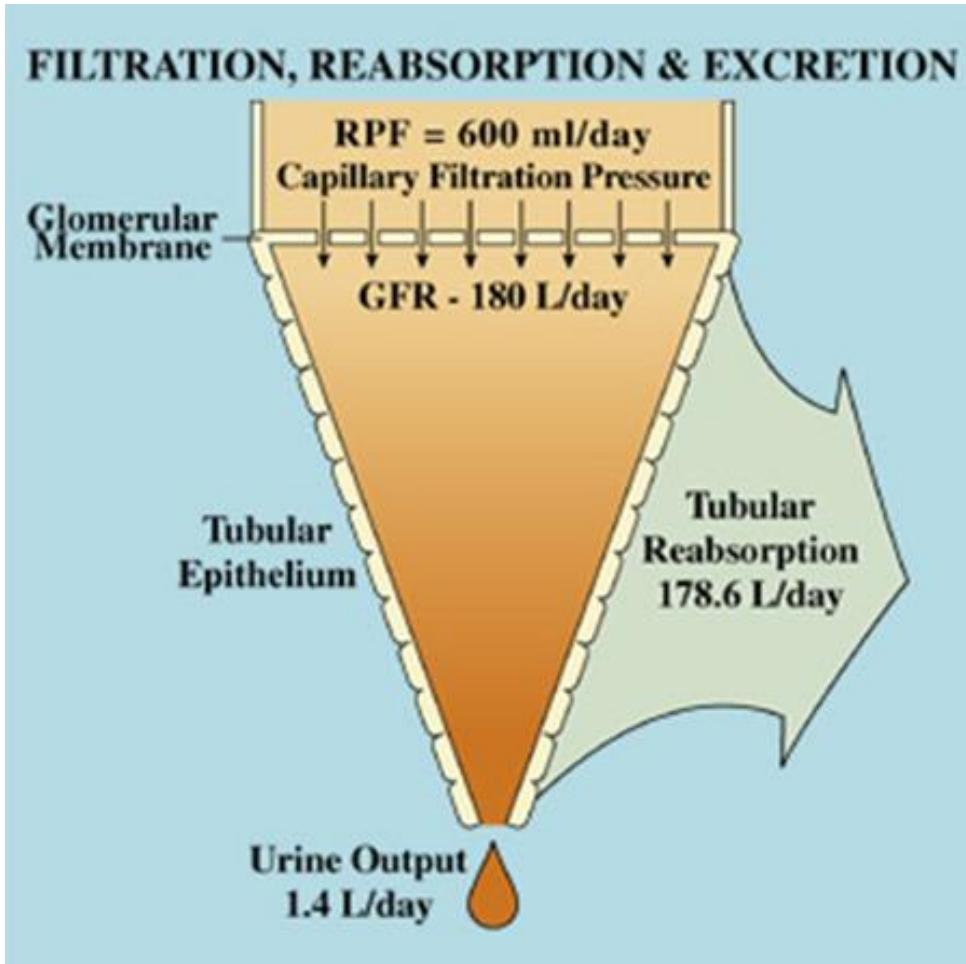
# Nefron – zákl. transportní procesy



- 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 (ATP)
  - sekundárně aktivní

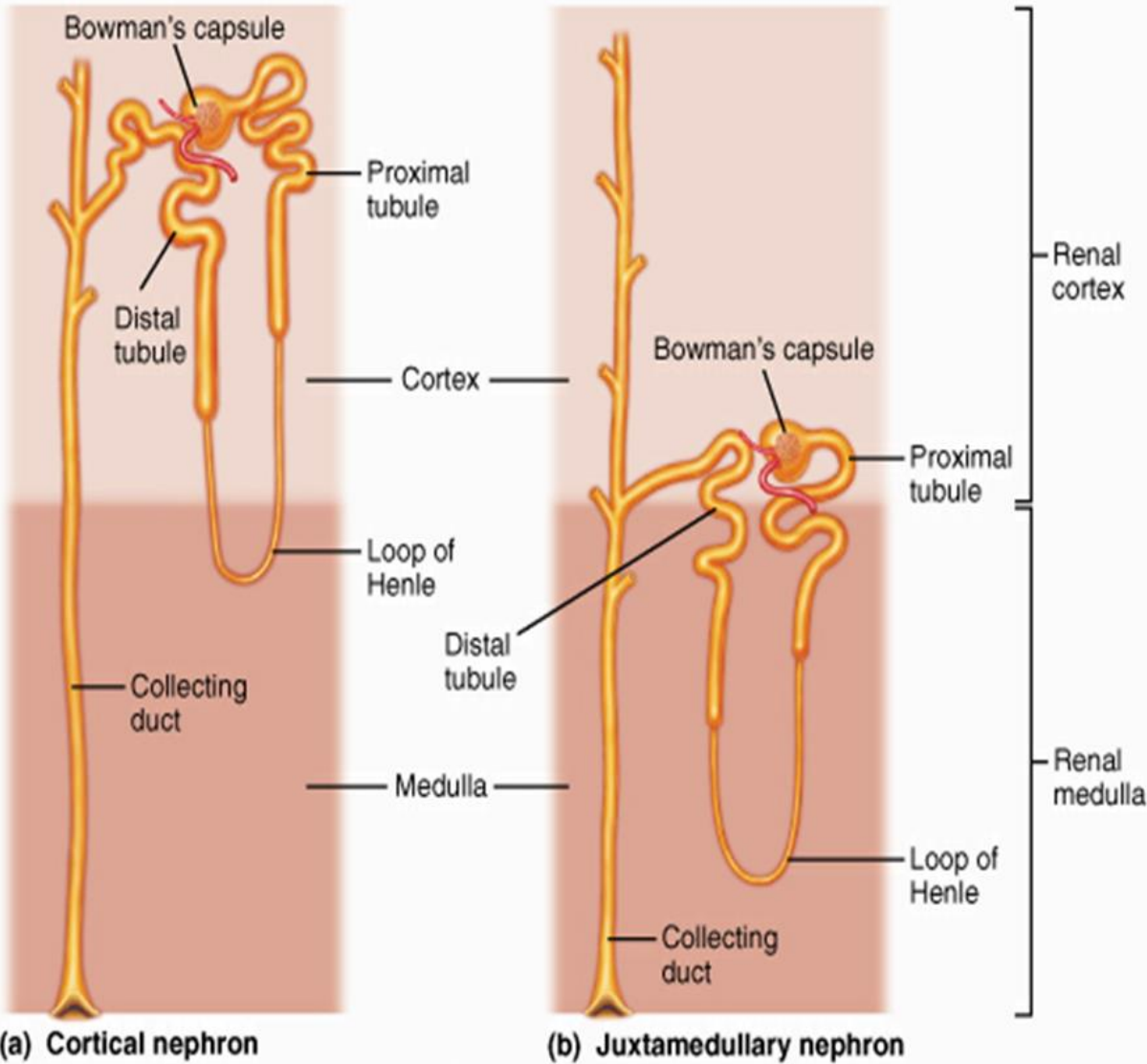


# Předpoklady normální kontroly homeostatických parametrů ledvinou



- dostatečný průtok krve ledvinou
  - autoregulace vs. systémové efekty
- dostatečné množství glomerulárního filtrátu
  - prvním krokem v tvorbě moči je ultrafiltrace plazmy
    - ultrafiltrát je prostý buněk a proteinů, přičemž koncentrace nízkomolekulárních látek je v něm stejná jako v plazmě
  - GFR je základním parametrem funkce ledvin
    - množství glom. filtrátu za min
  - dolní hranice normy  $\sim 100 \text{ ml/min}/1.73\text{m}^2$
  - přirozený věkový pokles ( $>40$  let)  $0.4 - 1.2 \text{ mL/min/rok}$
- neporušená funkce tubulárního epitelu
  - tubulární resorpce cca 99% glom. filtrátu
- správná funkce peritubulárních kapilár
  - u korových i juxtamedulárních nefronů

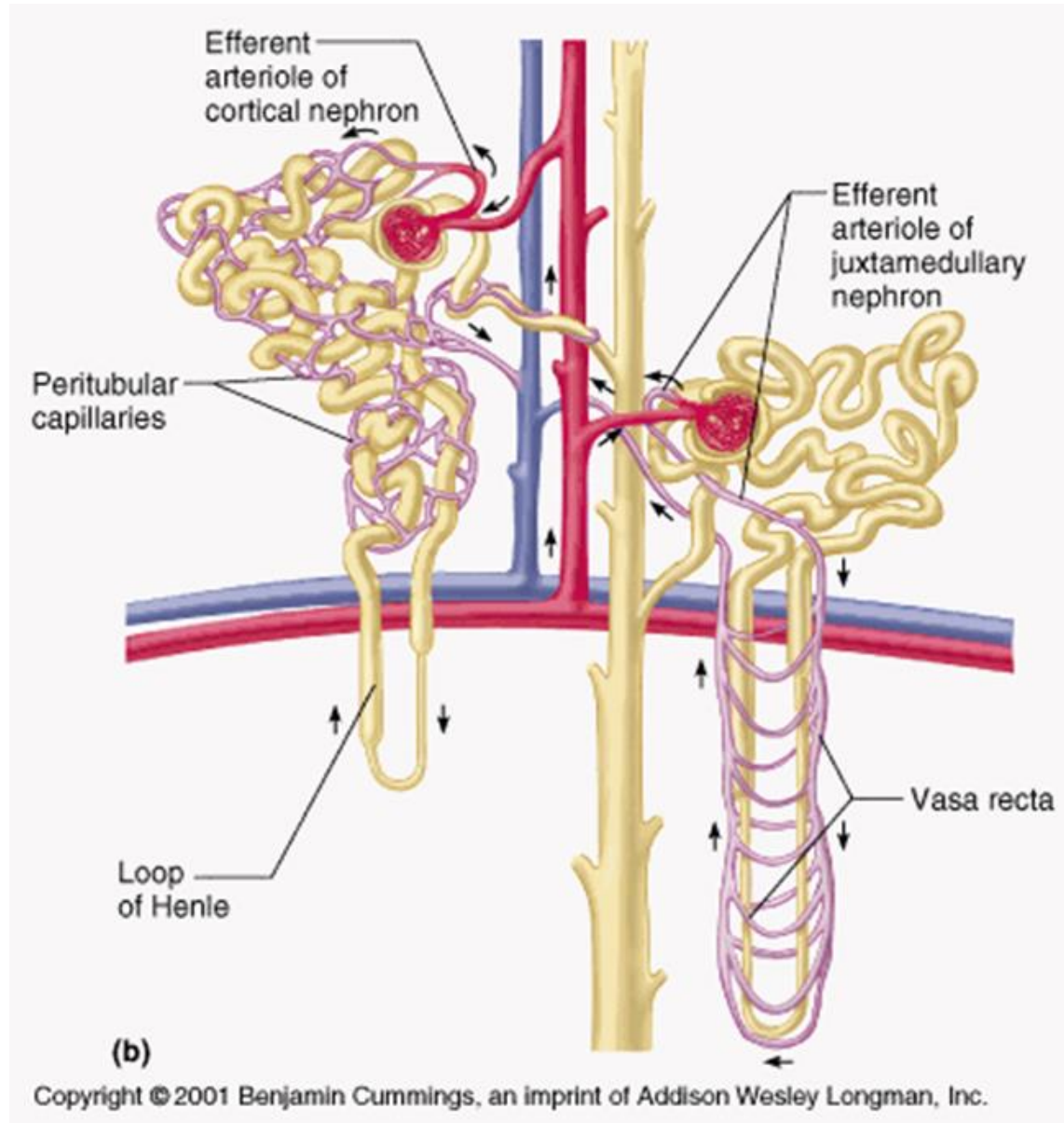
# Dva typy nefronů



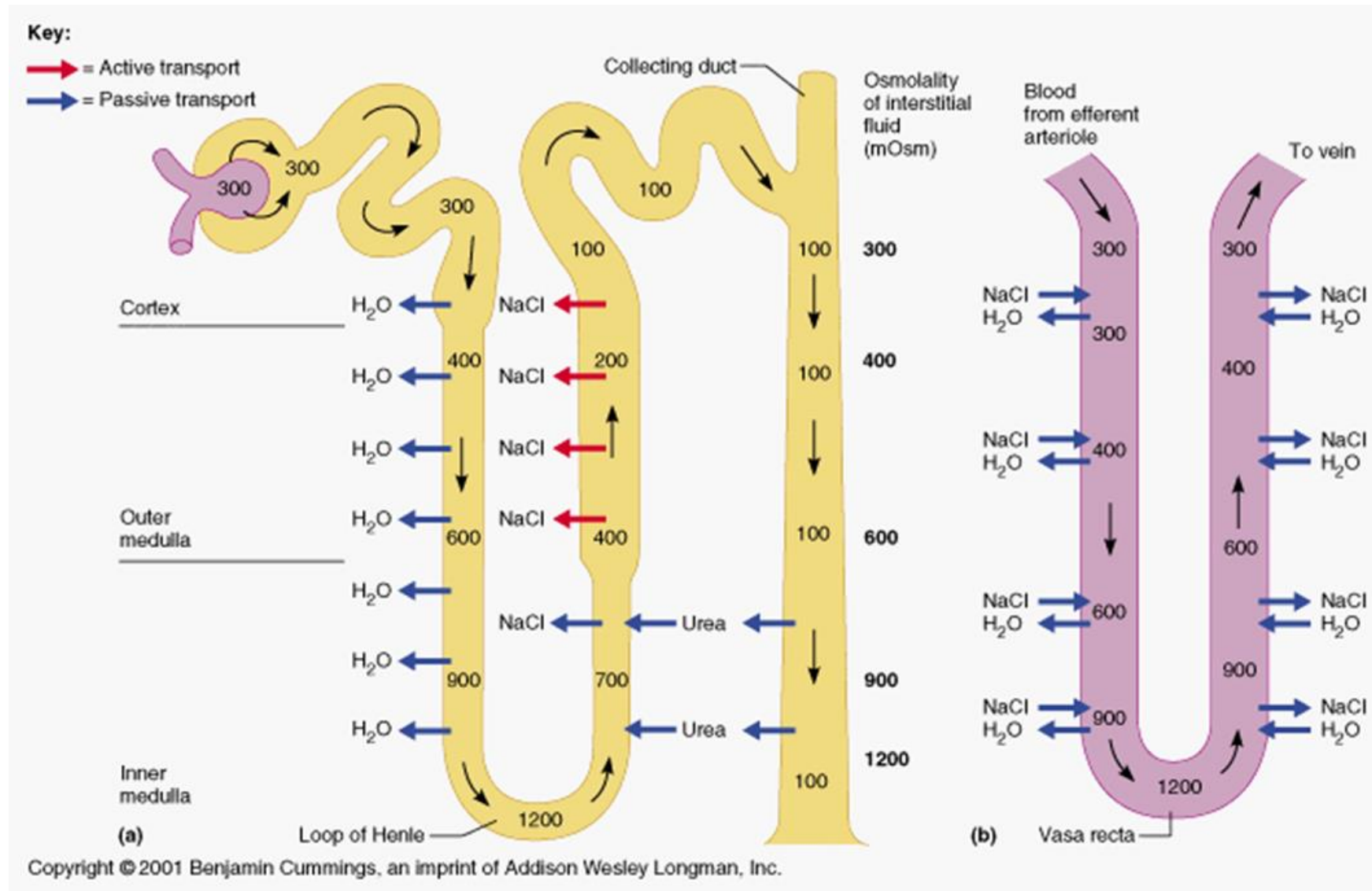
© 2002 Pearson Education Inc., publishing as Benjamin Cummings

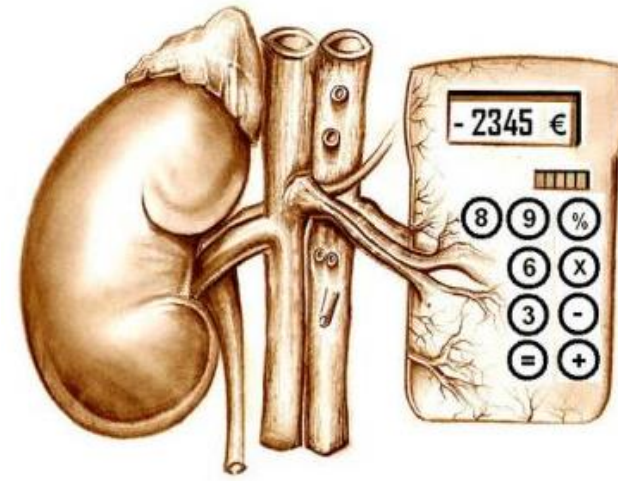
- **kortikální nefrony (cca 80%)**
  - zevní 2/3 kůry
  - kratší tubuly a zejm. Henleovy kličky (LH)
  - účast v reabsorpci solutů, ne v koncentraci moči
    - kličky peritubulárních kapilár
  - důležité autoregulačně
    - tubulo-glomerulární zpětná vazba
- **juxtamedulární nefrony**
  - vnitřní 1/3 kůry
  - mají delší LH zasahující hluboko do osmoticky koncentrované dřeně
  - důležité pro produkci koncentrované moči
    - kapiláry - vasa recta (z eferentní arterioly) spolu s LH tvoří „proti-proudový“ koncentrační systém
- různé choroby mohou zasáhnout různě tyto dvě populace a mít tudíž rozdílný efekt na ledvinné děje

# Různá délka LH a kapilár – různá funkce



# Proti-proudový systém ve dřeni



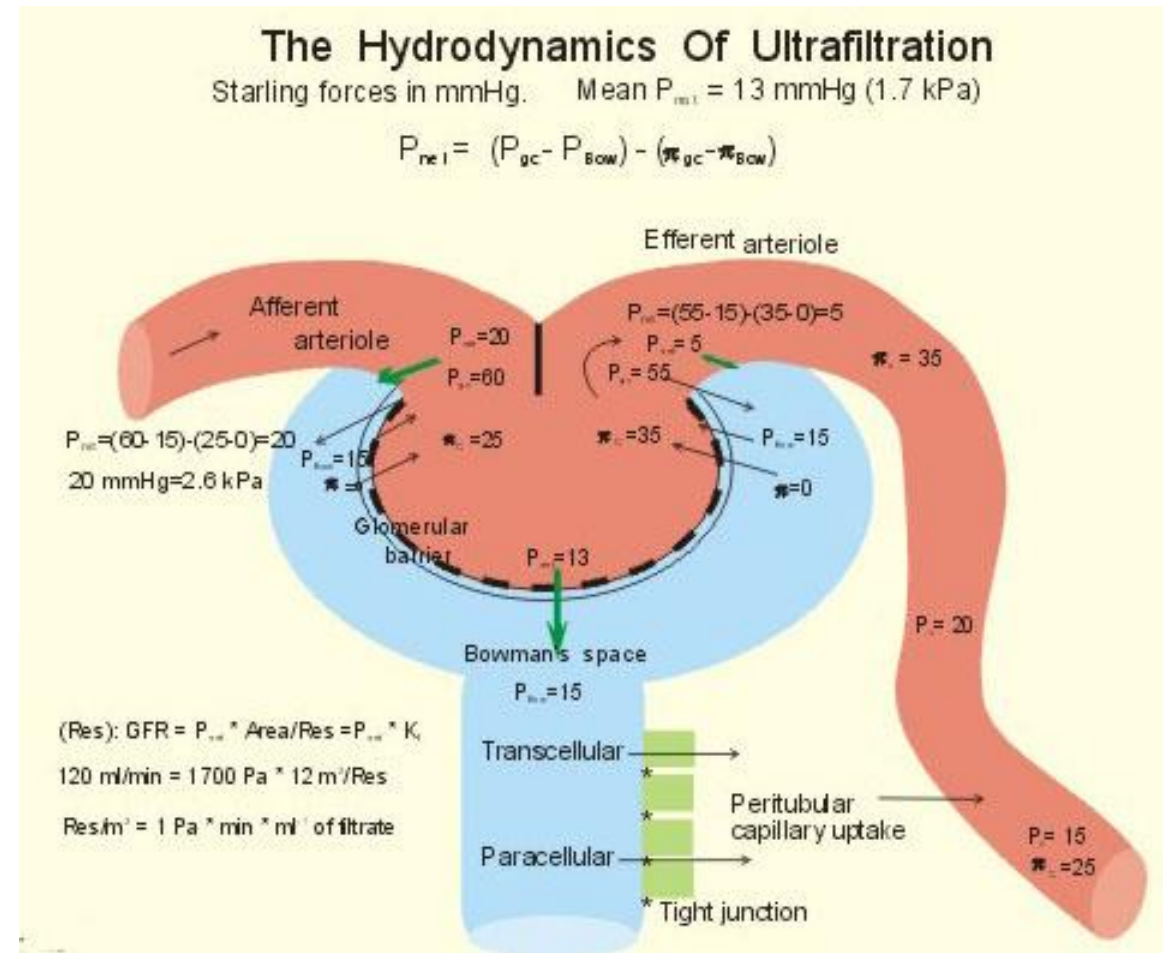


# GLOMERULÁRNÍ FILTRAČNÍ RYCHLOST (GFR)

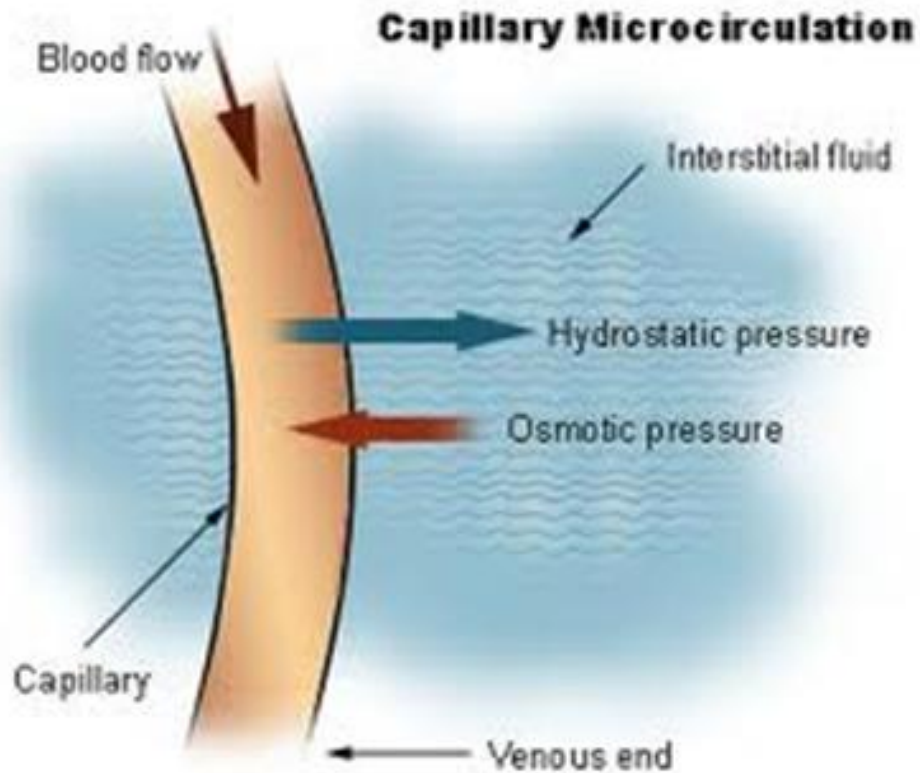


# Determinanty GFR

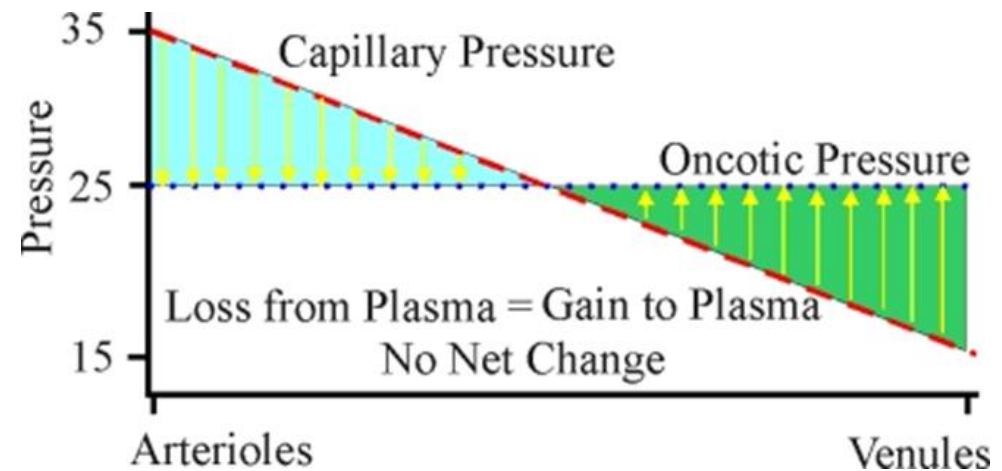
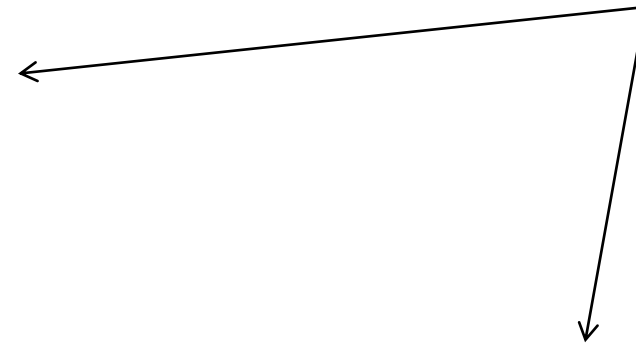
- rychlost ultrafiltrace plazmy do Bowmanova pouzdra je určena:
  - **$GFR = A \times K \times P_f$**
- tedy závisí na:
  - $A$  = velikost celk. filtrační plochy ( $\sim 100m^2$ )
    - počet glomerulů
      - mění se s úbytkem funkčních glomerulů
    - efekt mesangiálních buněk
      - mají schopnost kontrakce (a tím  $\downarrow A$ )
  - $K$  = propustnost filtrační membrány
    - mění se při nemocech ledvin ovlivňujících strukturu glom. filtr. membrány (viz dále)
  - $P_f$  = efektivní ultrafiltrační tlak
    - závisí na rozdílu hydrostatických a onkotických tlaků mezi glom. kapilárami a vnitřkem Bowmanova pouzdra (Starlingovy síly)



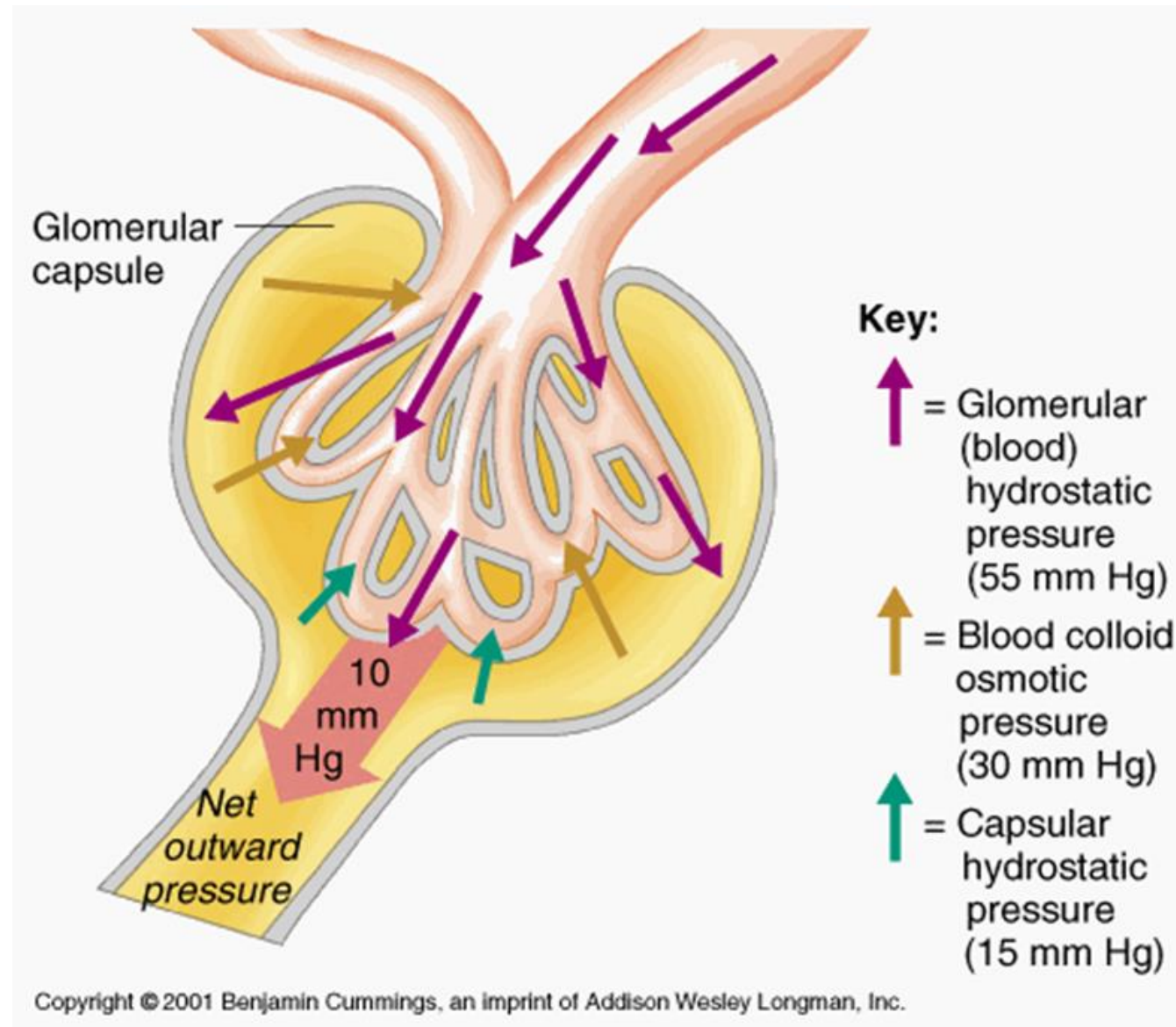
# Mikrocirkulace – Starlingovy síly



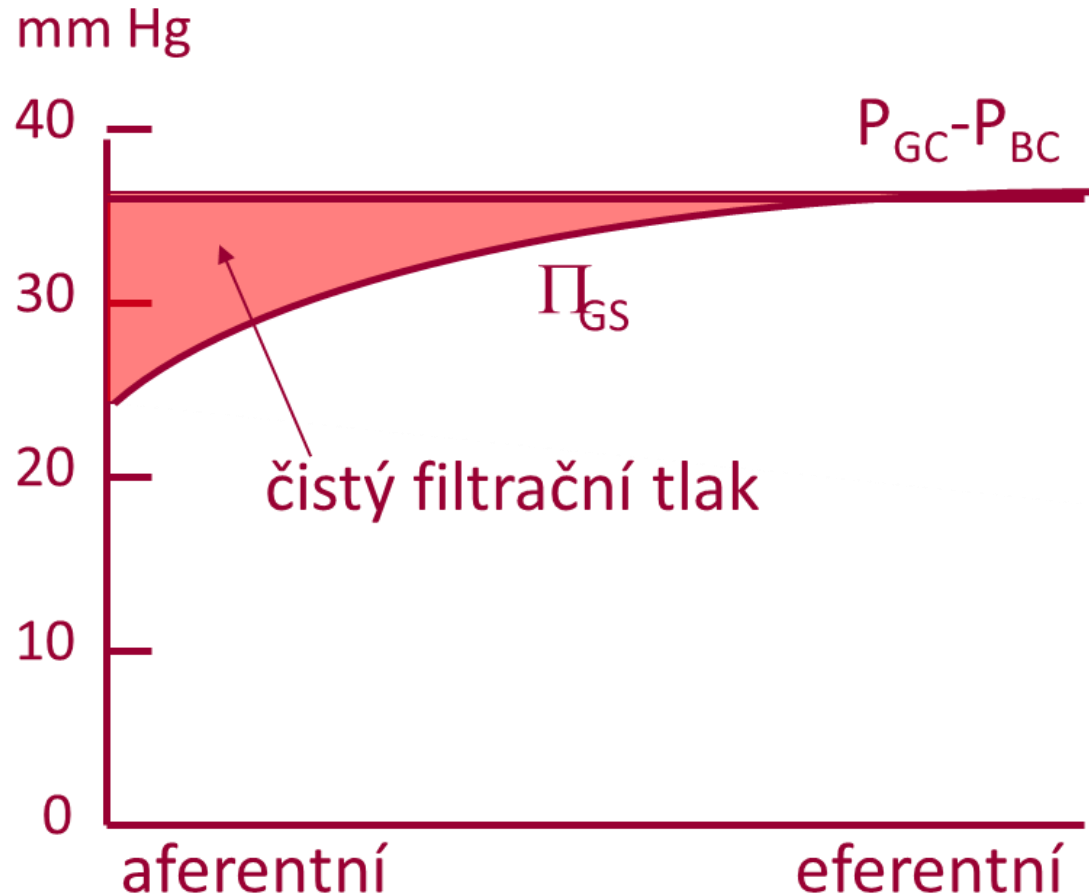
situace obvyklá jinde v  
mikrocirkulaci kromě ledvinných  
glomerulů



# Glomerulární filtrační tlak

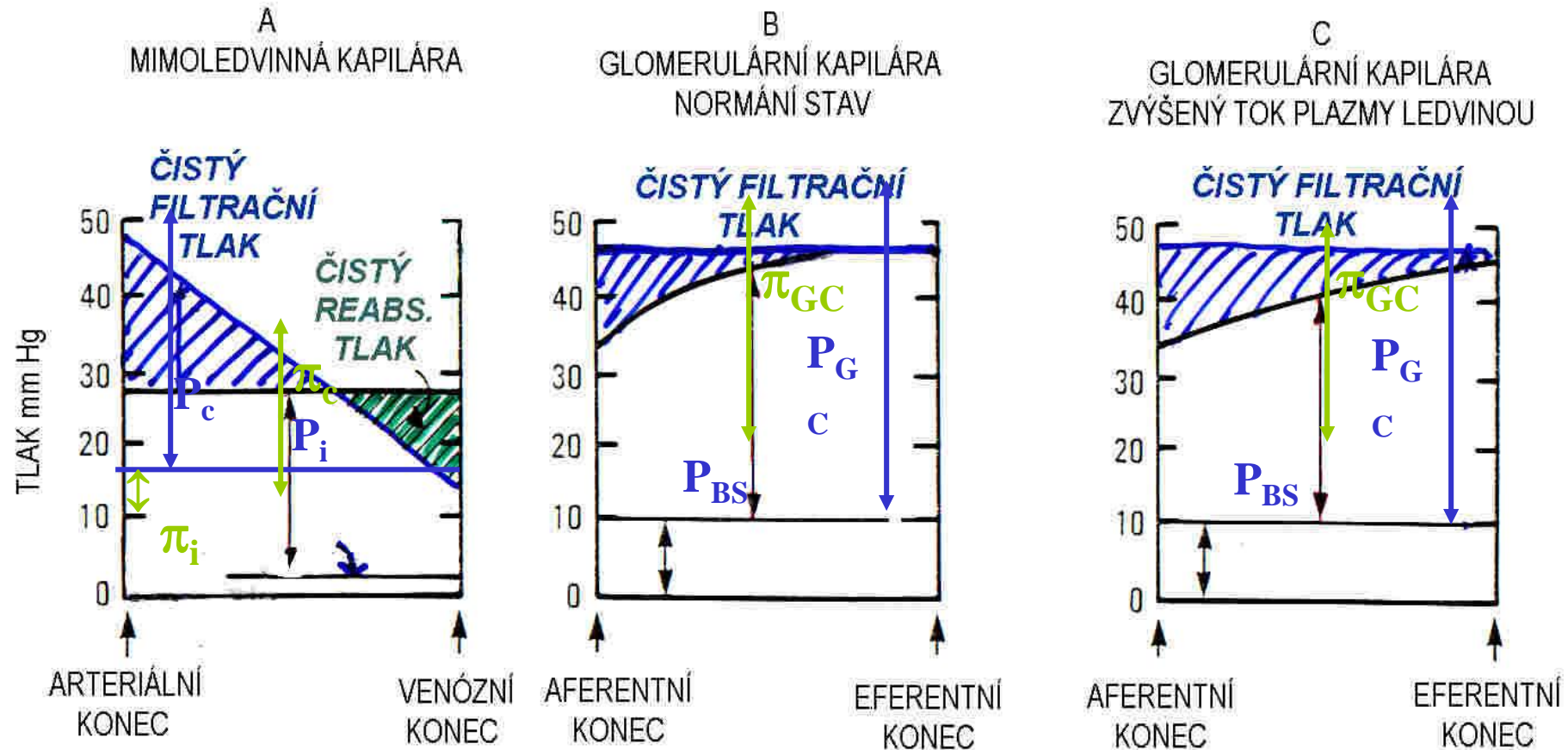


# Glomerulus - Starlingova rovnováha



- na rozdíl od běžných kapilár hydrost. tlak v celé délce glom. kapiláry poklesá minimálně (v důsledku autoregulace), takže filtrace je cca 100-krát větší oproti jiným kapilárám
- hydrostatický tlak
  - glomerulární hydrostatický tlak ( $P_{GC}$ ) je vysoký a konstantní
    - ~45-55 mmHg
  - to je vyrovnáváno tlakem v Bowmanově pouzdře ( $P_{BC}$ )
    - ~10-15 mmHg
  - čistý filtrační tlak tedy ~35 mmHg
- osmotický tlak ( $\Pi_{GS}$ )
  - ~25-30 mm Hg
  - díky velké filtraci tekutiny se  $\Pi_{GS}$  dále zvyšuje v průběhu kapiláry a dojde k vyrovnání

# Srovnání různých kapilár



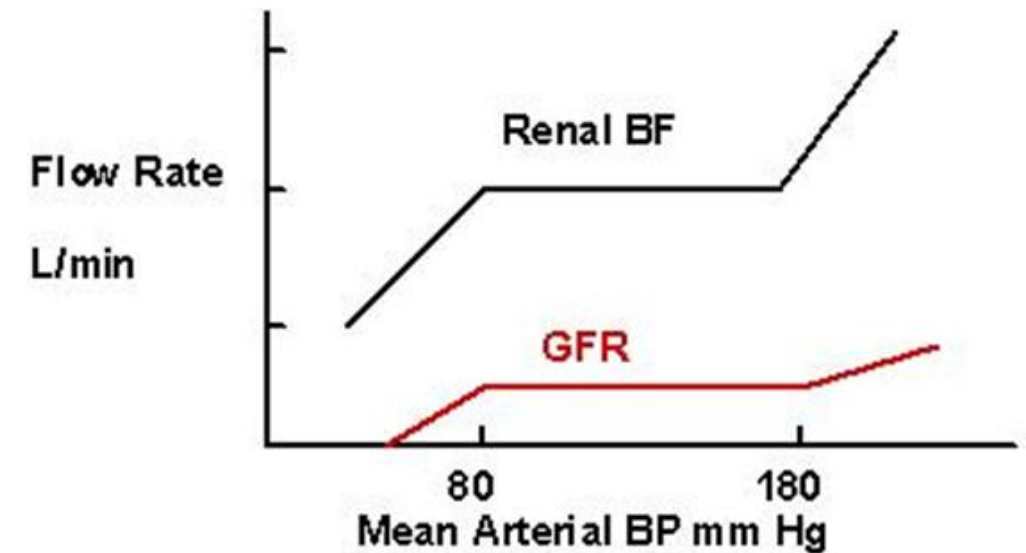
Pozn. k obr.: faktor vypuzující tekutinu z kapiláry je  $(P_c + \pi_i)$ , faktor nasávající je  $(\pi_c + P_i)$ .

# Průtok krve ledvinou a GFR

- u zdravého člověka je průtok krve ledvinou a GFR (díky autoregulaci) velmi konstantní
  - veškerý objem plazmy proteče normálně ledvinou za cca 20 min
  - kolísání systémového tlaku
    - v rozmezí 80 – 180 mmHg se udržuje poměrně stabilní RBF autoregulaci
    - teprve při významném poklesu selhává perfuze ledviny (→ ischemie, nekróza)
- renal blood flow (RBF) a renal plasma flow (RPF)
  - RBF ~1000 - 1200 ml/min
    - tj. ~ 20-25% of CO (kortex >>> medula)
    - vysoký průtok vzhledem k váze ledvin (~350 g)
  - RPF (hematokrit 0.45) ~600 - 700 ml/min
- glom. filtrace
  - GFR ~20 - 25% RPF → **GFR ~ 120 – 140 ml/min**
  - poměr GFR/RPF = filtrační frakce (~ 120/600 = ~ 0.2)
  - denně ~ 180 l
  - 99% reabsorpce → 1.5–1.8 l moči/den
- GFR a RPF mohou být měřeny přísl. metodami **clearance**
  - RPF (RBF) - PAH
  - GFR – kreatinin, inulin (experimentální) aj.

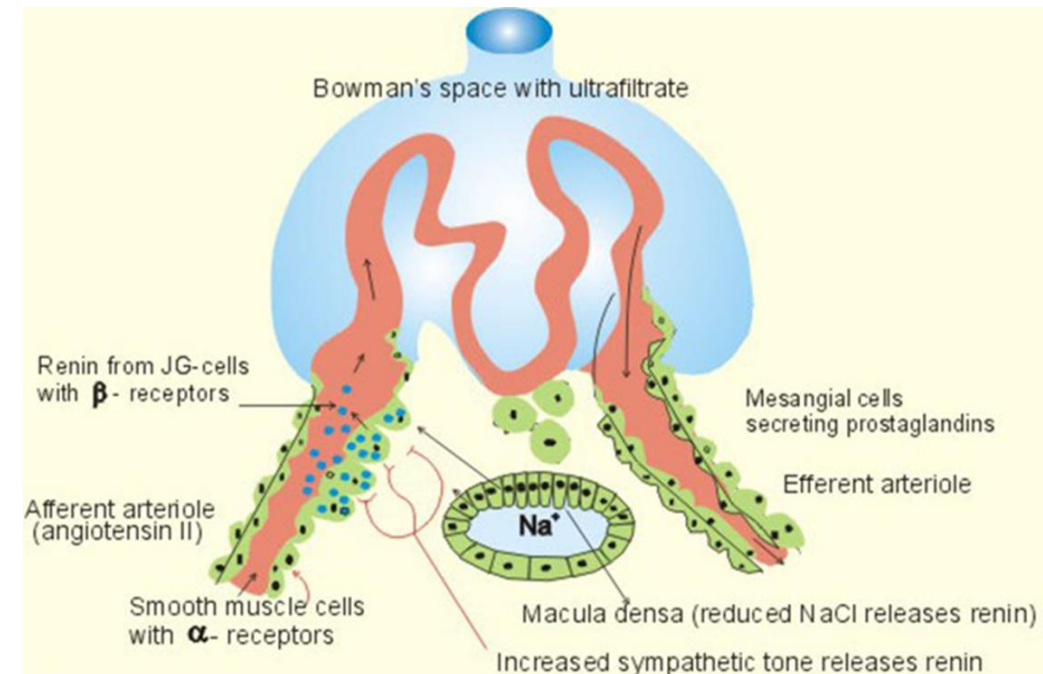
díky

## AUTOREGULATION

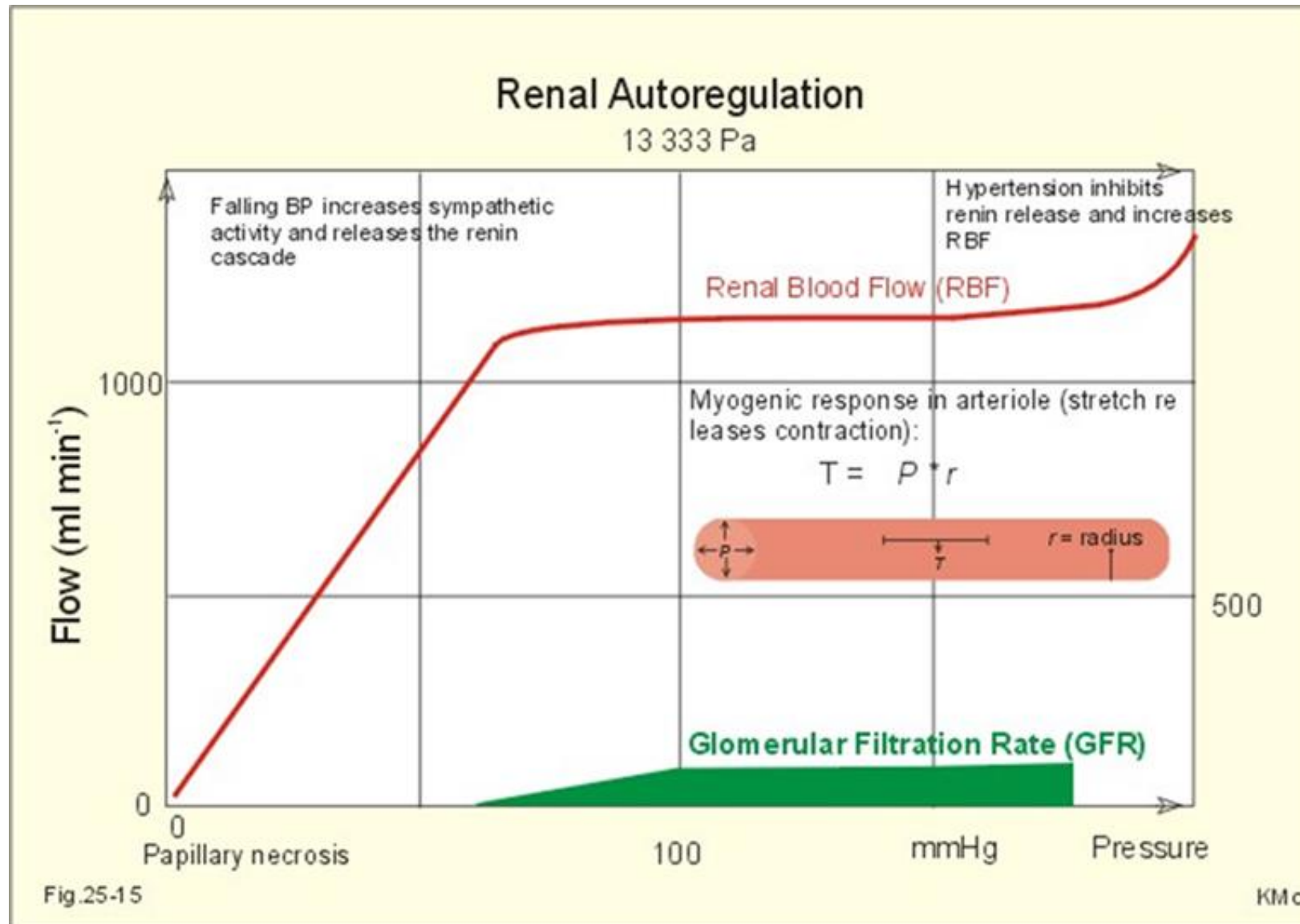


# Regulace krevního průtoku v ledvině

- autoregulace RBF
  - (1) **myogenní regulace**
    - SMC af. a ef. arterioly detekují tenzi a upravují rezistenci svou kontrakcí (brání přílišnému rozpětí)
  - (2) **tubuloglomerulární zpětná vazba (TGF)**
    - juxtaglomerulární aparát detekuje event. změny NaCl koncentrace a uvolňuje renin
    - aktivace lokálního RAS zajišťuje kontrakci nejdříve eferentní arterioly a tím zvýší filtrační tlak (při vyšších koncentracích AT II pak aferentní)
- další parakrinní faktory
  - **prostaglandiny, adenosin a NO**
- sympatikus – systémový zájem
  - NA z adrenergických nerv. zakončení a cirkulující A z dřeně nadledvin konstrihuje a. i e. arterioly ( $\alpha_1$ -r.)
    - pokles RBF a GFR
  - NA stimuluje uvolnění reninu z granulárních JG-bb. ( $\beta_1$ -rec.) a tím aktivaci systémového RAS
  - NA  $\uparrow$  reabsorpci  $\text{Na}^+$  v prox. tubulu
- systémový **RAS**



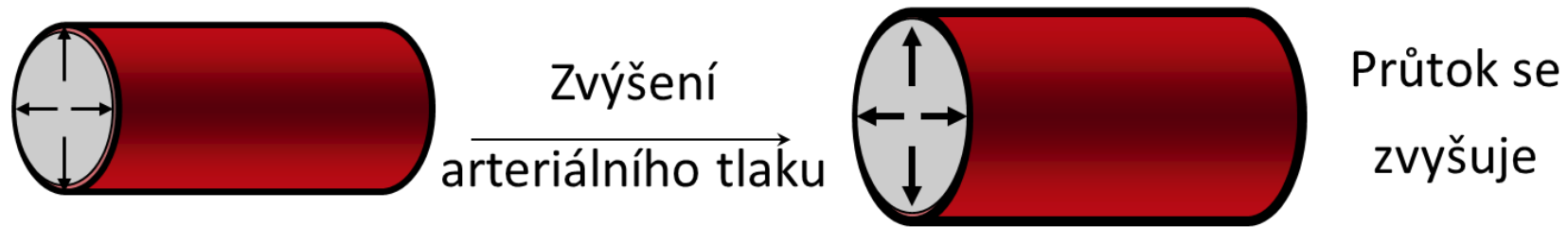
# Autoregulace RBF vs. systémový zájem



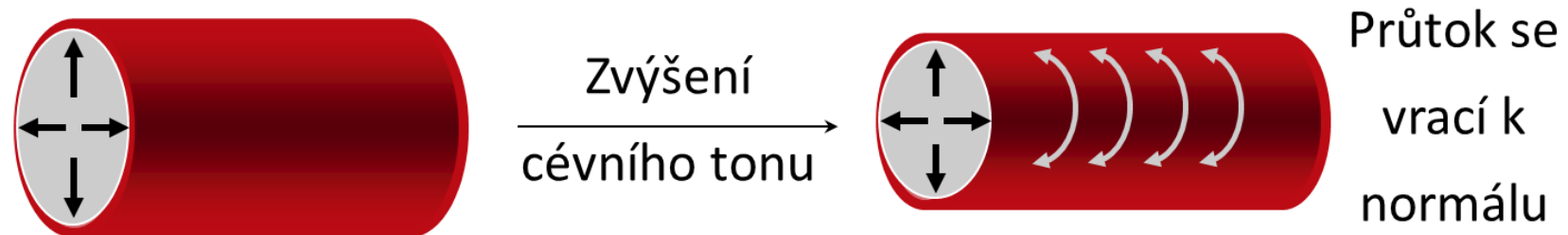


# (1) Myogenní regulace (Baylissův efekt)

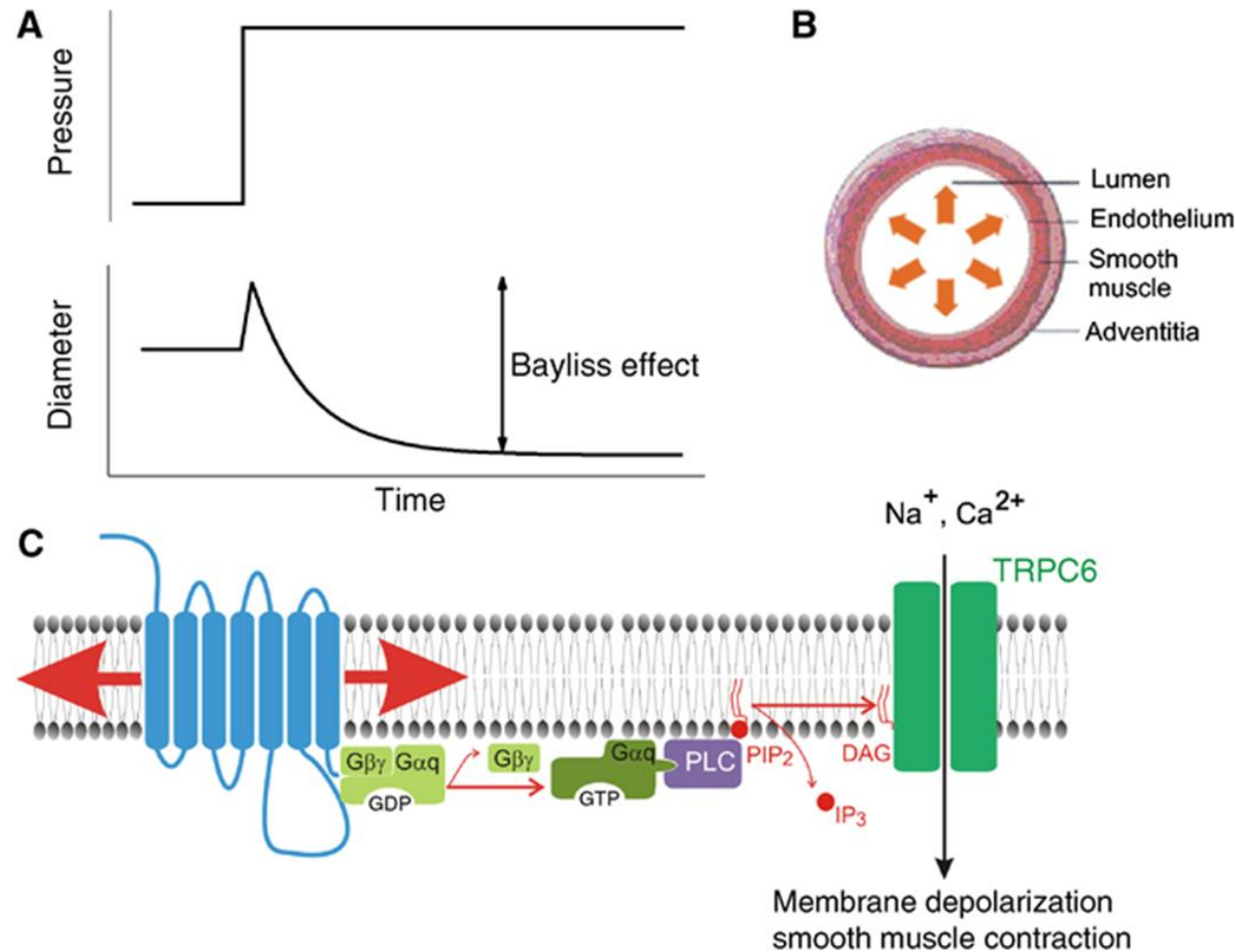
Když se arteriální tlak zvyšuje, je rozpínána aferentní arteriola



Hladké svalové buňky cév odpovídají kontrakcí a tak se zvýší rezistence



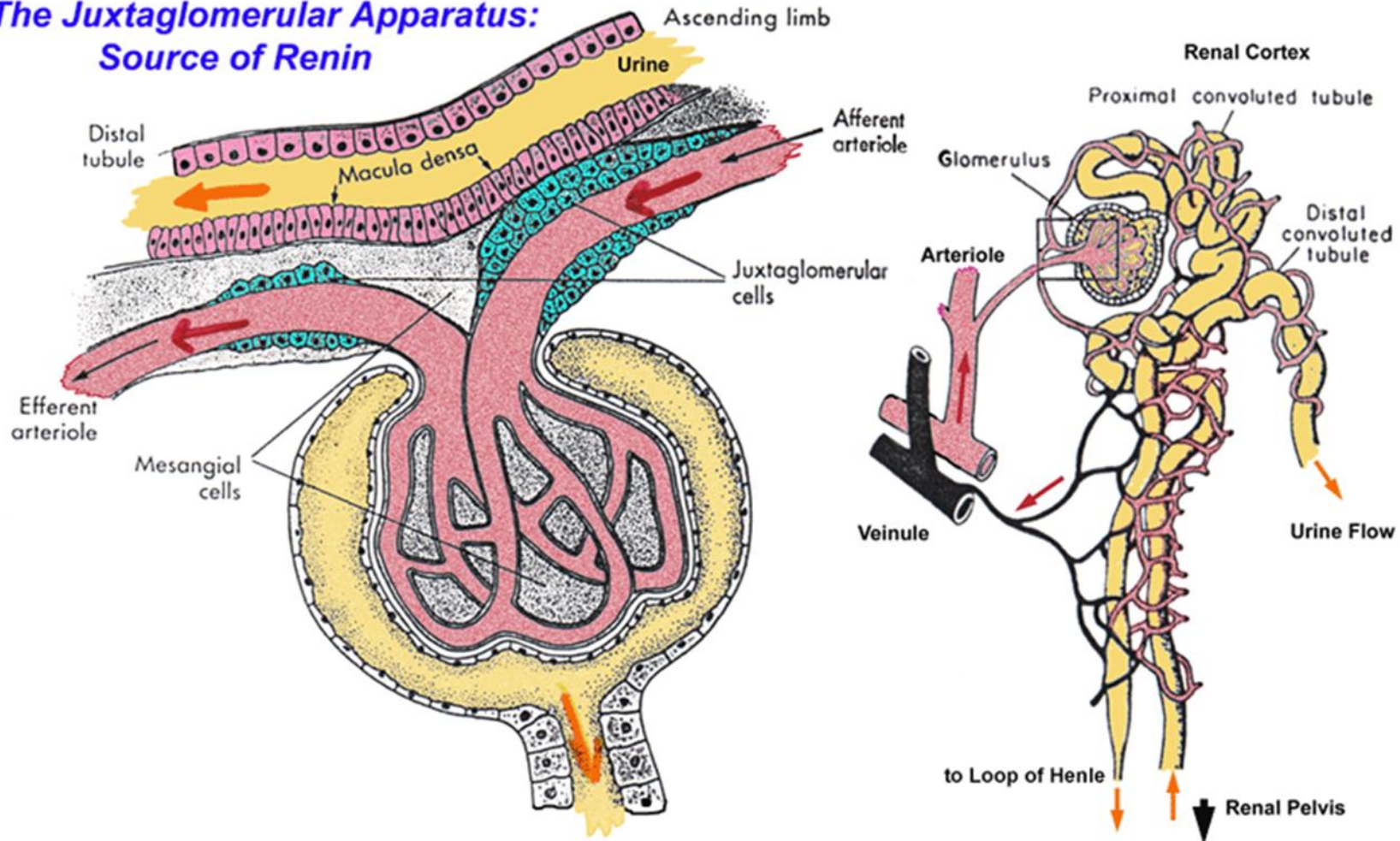
# Mechanismus Baylissova efektu



(A) Increasing pressure causes vasoconstriction. (B) The BE is mediated by the smooth muscle layer, independent of the inner layer of endothelial cells. (C) Proposed mechanism for stretch-induced activation of stretch-activated receptors in vascular smooth muscle membranes.

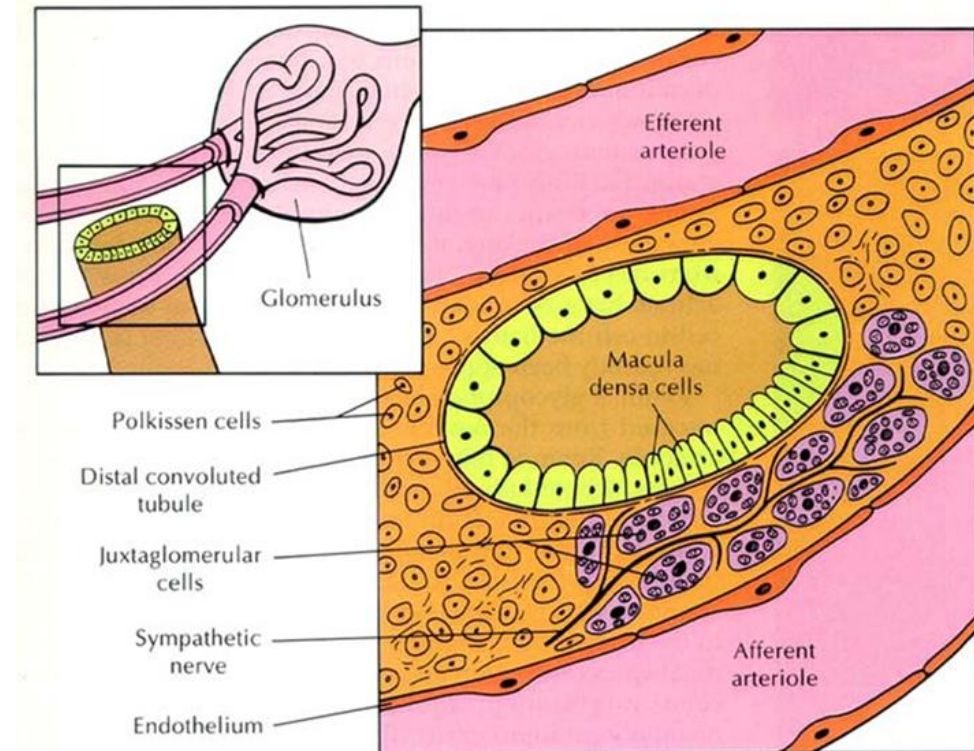
# (2) Tubuloglomerular feedback

*The Juxtaglomerular Apparatus:  
Source of Renin*

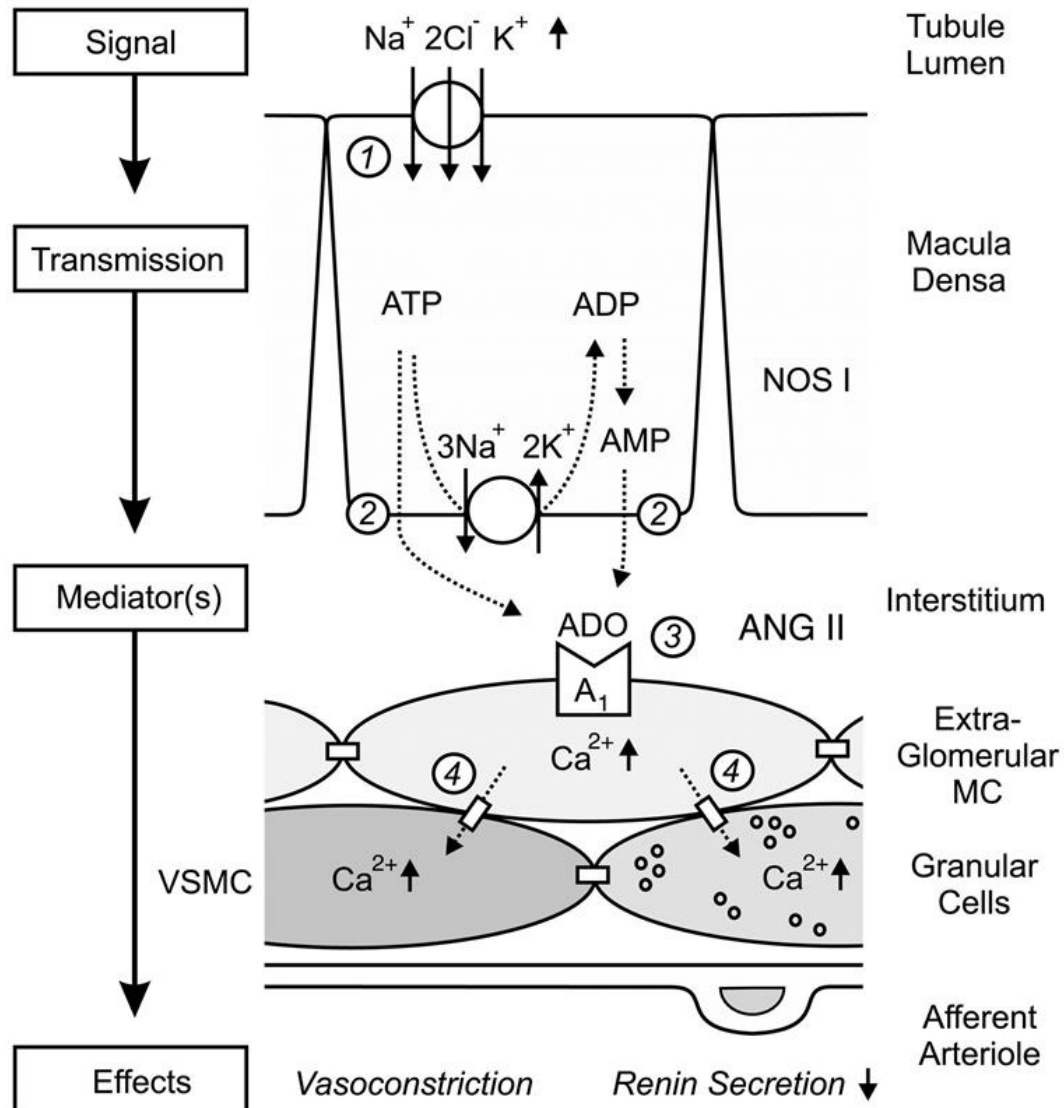


# Juxtaglomerulární aparát

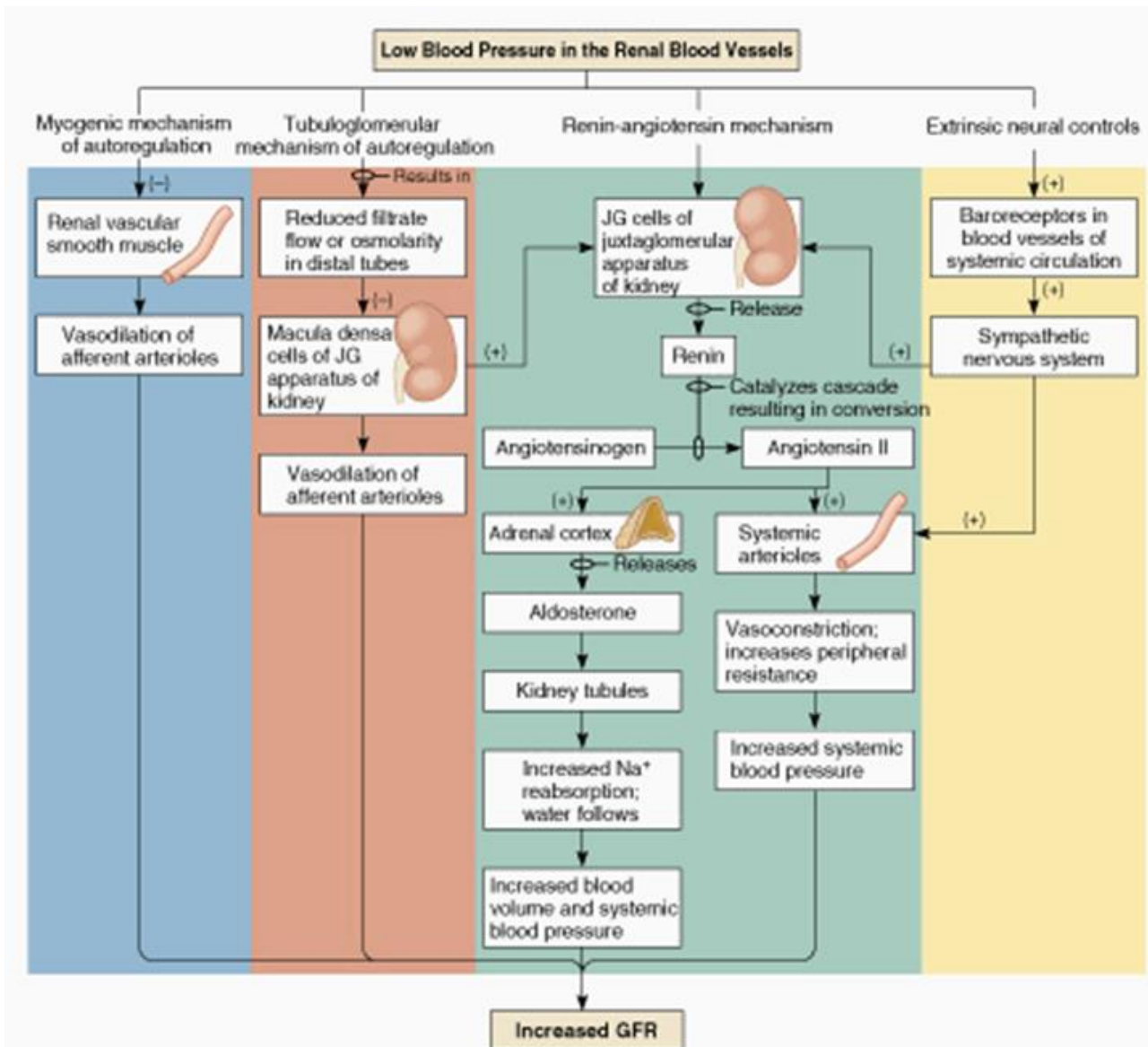
- tubulární and vaskulární komponenta
  - (1) tubulární komponenta
    - specializovaná oblast distálního tubulu blízko aferentní a eferentní arterioly (**macula densa**)
    - buňky macula densa jsou sensitivní k NaCl a kontrolují podle něj produkci reninu v **juxtaglomerulárních bb.** (JG-bb.)
  - (2) vaskulární komponenta
    - **aferentní a eferentní arteriola** téhož nefronu
    - extra-glomerulární **mesangium**
- JG-bb. (granulární bb.) jsou specializované hladké sval. bb., které produkují a skladují renin
- bb. macula densa nemají bazální membránu, což umožňuje těsný kontakt s JG-bb.
- vaskulární a tubulární komponenty jsou bohatě inervovány **sympatikem**



# Detailní mechanismus TGF

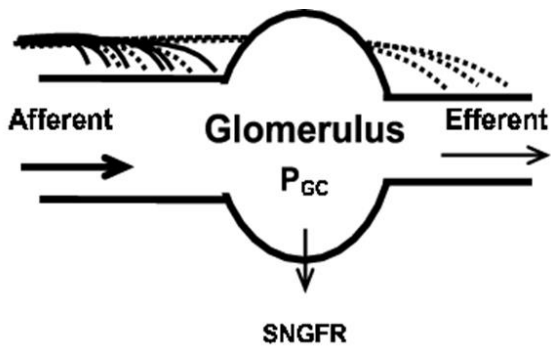


- macula densa cells (at the junction of ascending limb of loop of Henle and distal convoluted tubules)
  - presence of Na-K-2Cl symporter
    - when ↑ NaCl content at macula densa cells → ↑ NaCl uptake → swelling of macula densa cells → release of ATP
      - stimulation of purinergic P2 receptors on mesangial cells and afferent arteriole smooth muscles
      - alternatively ATP may be metabolised to adenosine, which also causes vasoconstriction here
        - adenosine normally causes vasodilation in other tissues !!!
- effect of increased NaCl content
  - contraction of mesangial cells and contraction of afferent arteriole
    - reduction in effective filtration area
    - decreases GFR and RBF
  - NaCl content at macula densa also ↓ renin release
- effect of decreased NaCl content
  - opposite

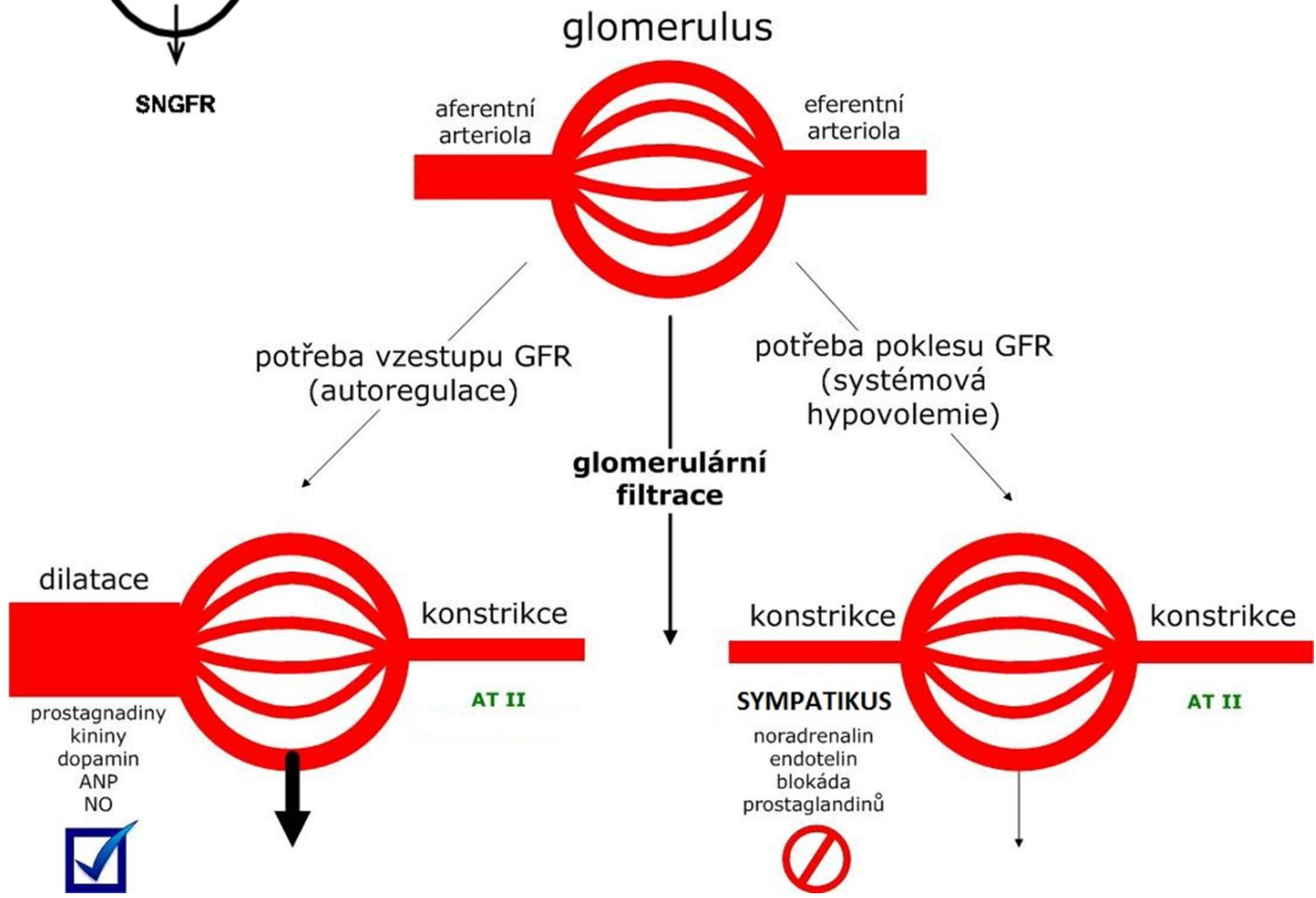


Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

# Další regulátory glom. hemodynamiky

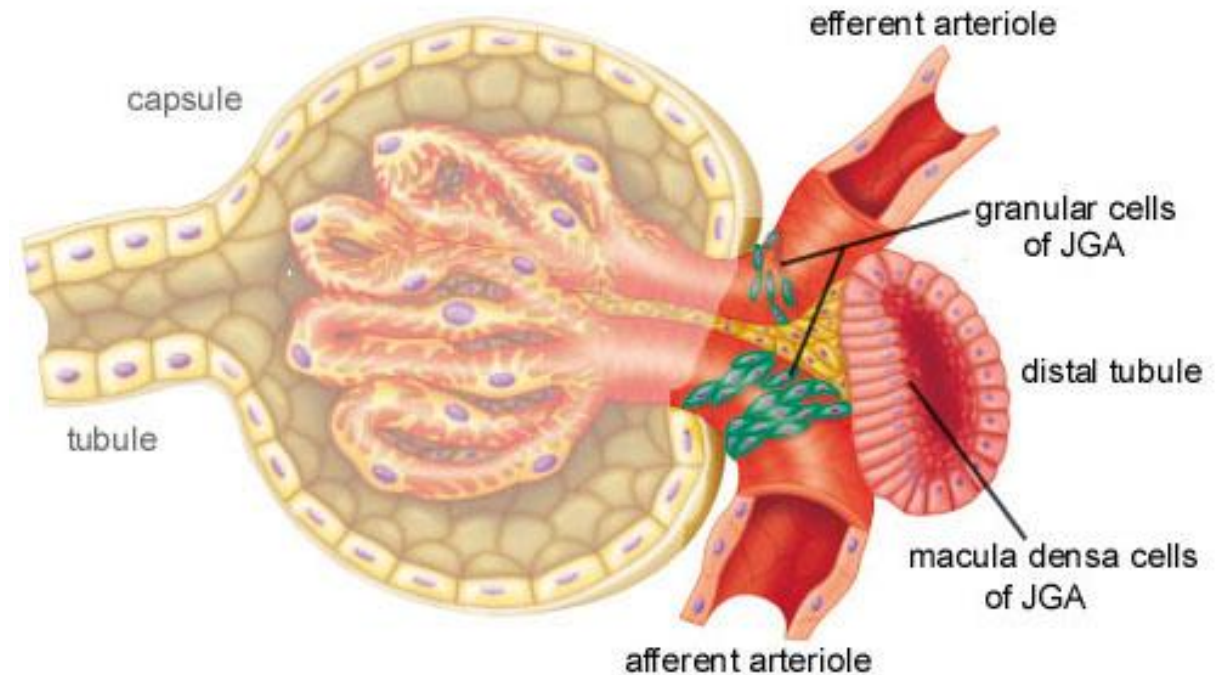


- sympatikus
  - sympatická inervace arterioli glomerulu
    - 3x hustší v aferentní arteriole
- vazoaktivní peptidy
  - receptory pro vasodilatátory zejm. v AA
    - jejich blokáda (např. COX1 inhibitory) může snížit GFR bez změny tlaku



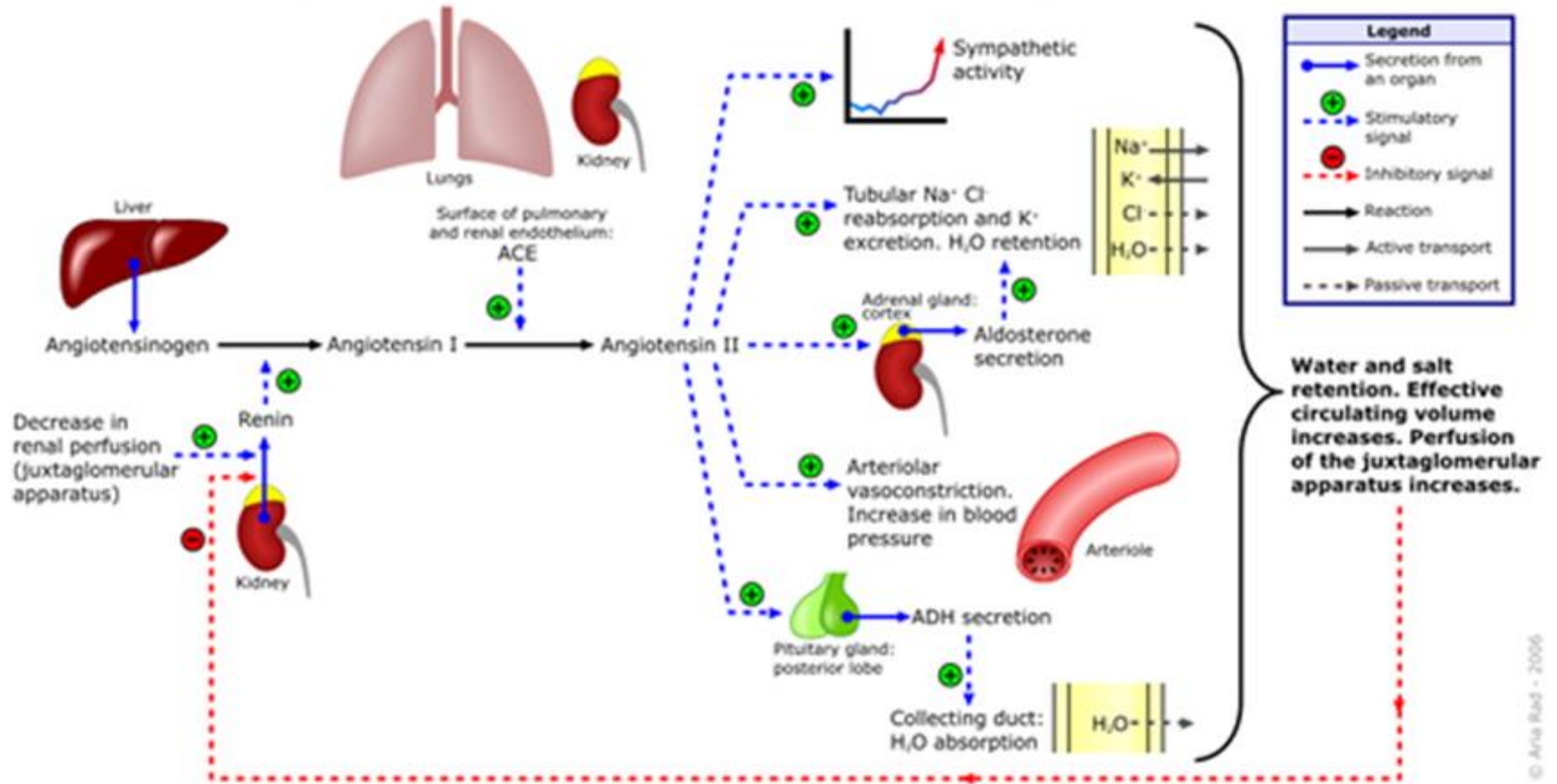
# Tři hlavní mechanismy ovlivňující uvolnění reninu

- (1) signals at the individual nephron
  - decreased NaCl load at the macula densa
  - decreased afferent arteriolar pressure (probably mediated by a cellular stretch mechanism)
- (2) signals involving the entire kidney
  - beta1-adrenergic receptor stimulation at the juxtaglomerular cells
  - at the same time, negative-feedback inhibition by AT II at the JG cells
  - other hormonal factors
- (3) local effectors
  - prostaglandins E2 and I2
  - nitric oxide
  - adenosine
  - dopamine
  - arginine vasopressin

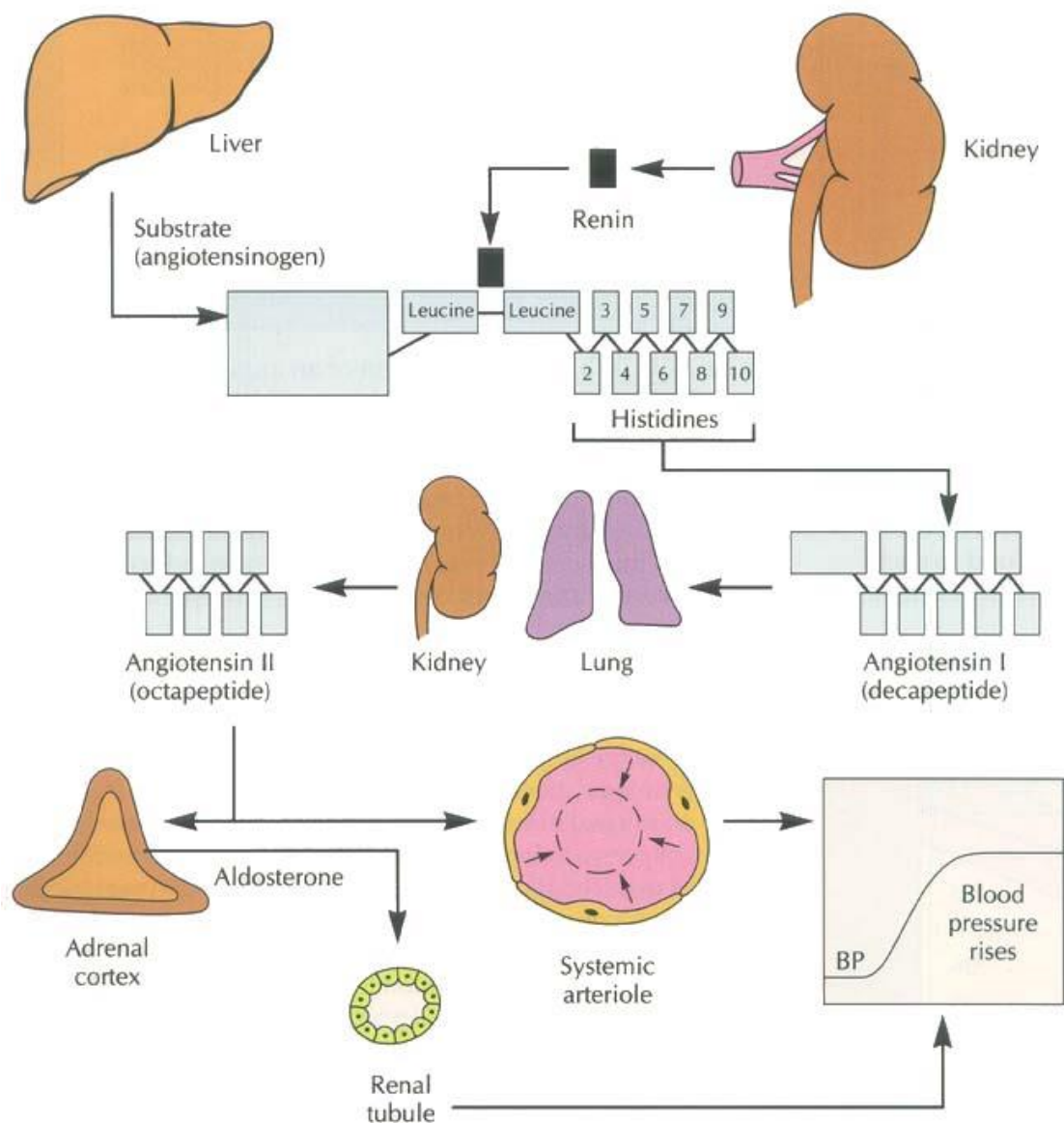




# Renin-angiotensin-aldosterone system

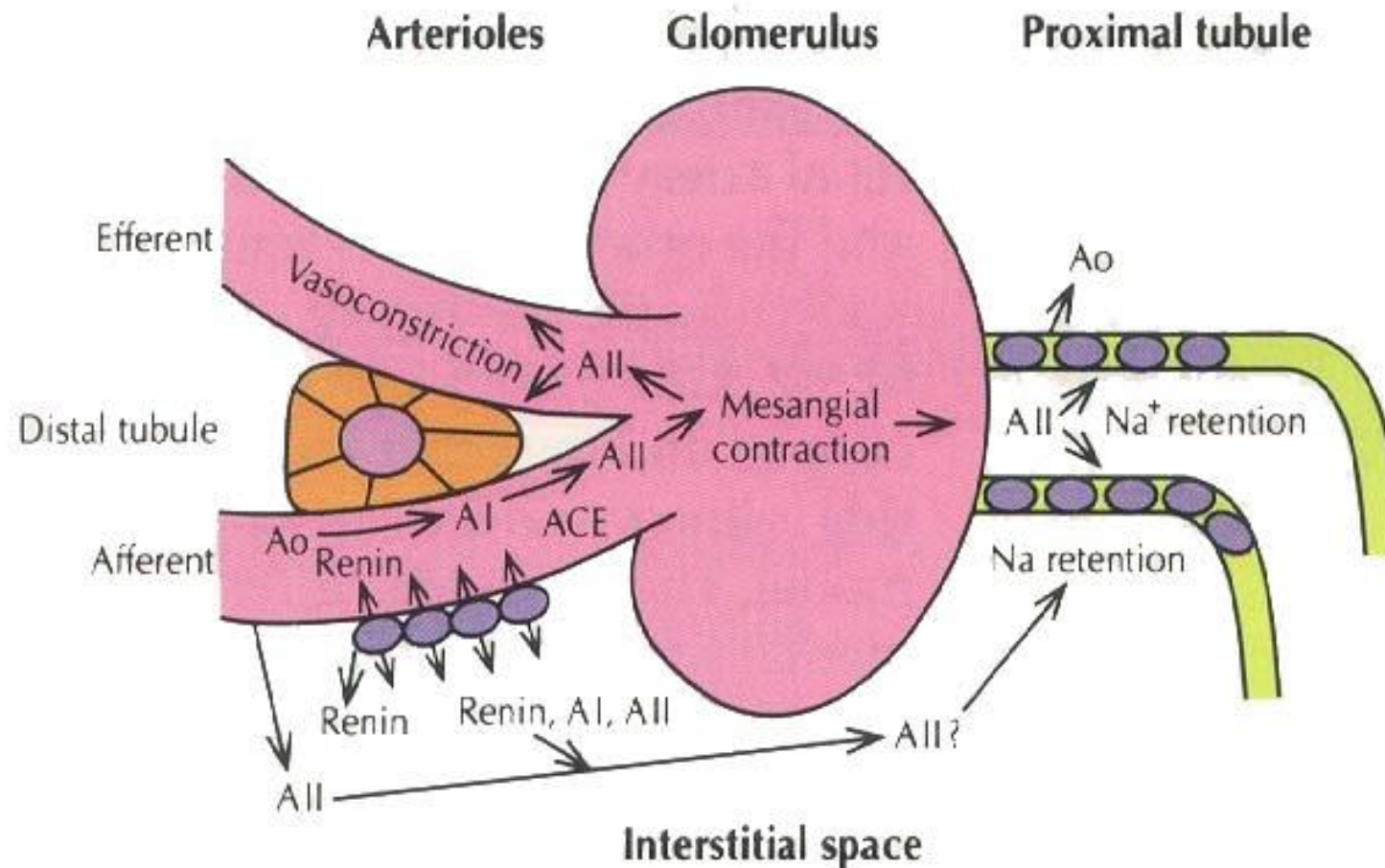


# Systemový RAAS



- angiotensinogen v ledvině
  - původu systémového (z jater)
  - rovněž produkovaného lokálně (proximální tubulární bb.)
- renin
  - z JG-bb. uvolňován do aferentní arterioly a renálního intersticia, kde tvoří AT I z cirkulujícího angiotensinogenu a dále AT II pomocí cirkulujícího ACE

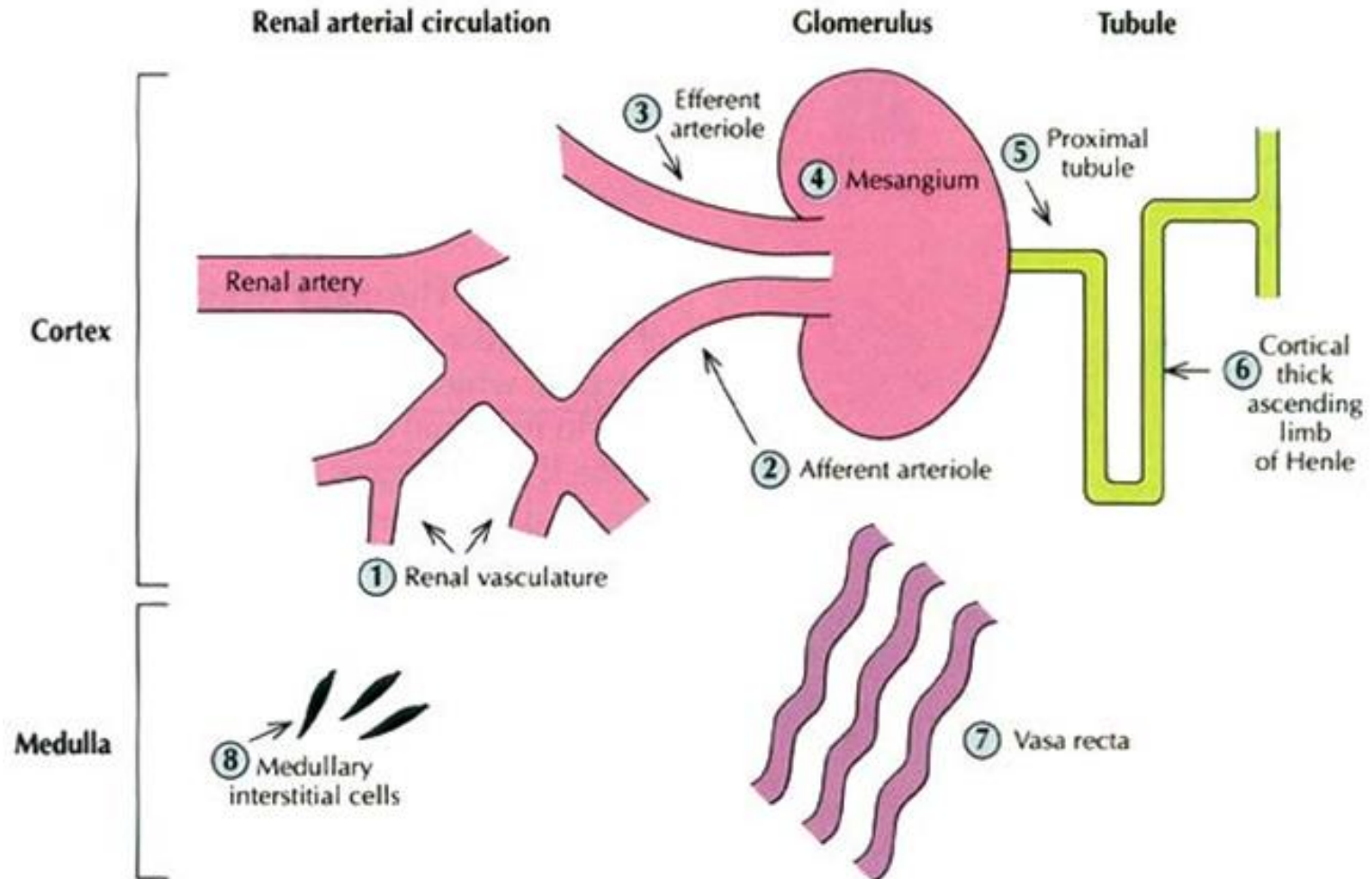
# Hlavní efekty RAAS v ledvině



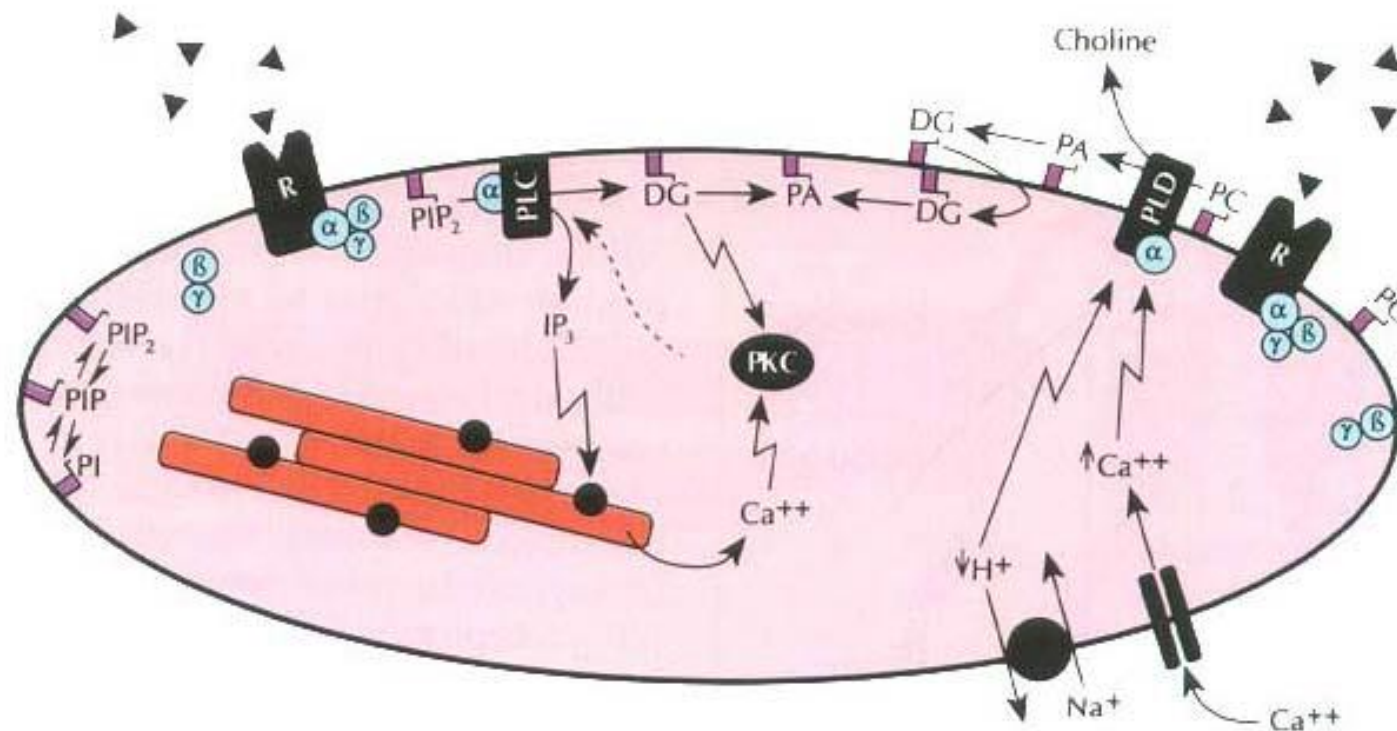
- kontrakce mesangia
- kontrakce eferentní arterioly
- reabsorpce Na v proximálním tubulu

# Lokalizace ATII receptorů v ledvině

- 1-vazokonstrikce
- 2-omezeně vazokonstrikce a inhibice tvorby a uvolňování reninu
- 3-preferenční vazokonstrikce
- 4-kontrakce
- 5-Na<sup>+</sup> reabsorpce
- 6-Na<sup>+</sup> reabsorpce
- 7-vazokonstrikce
- 8-efekt neznámý



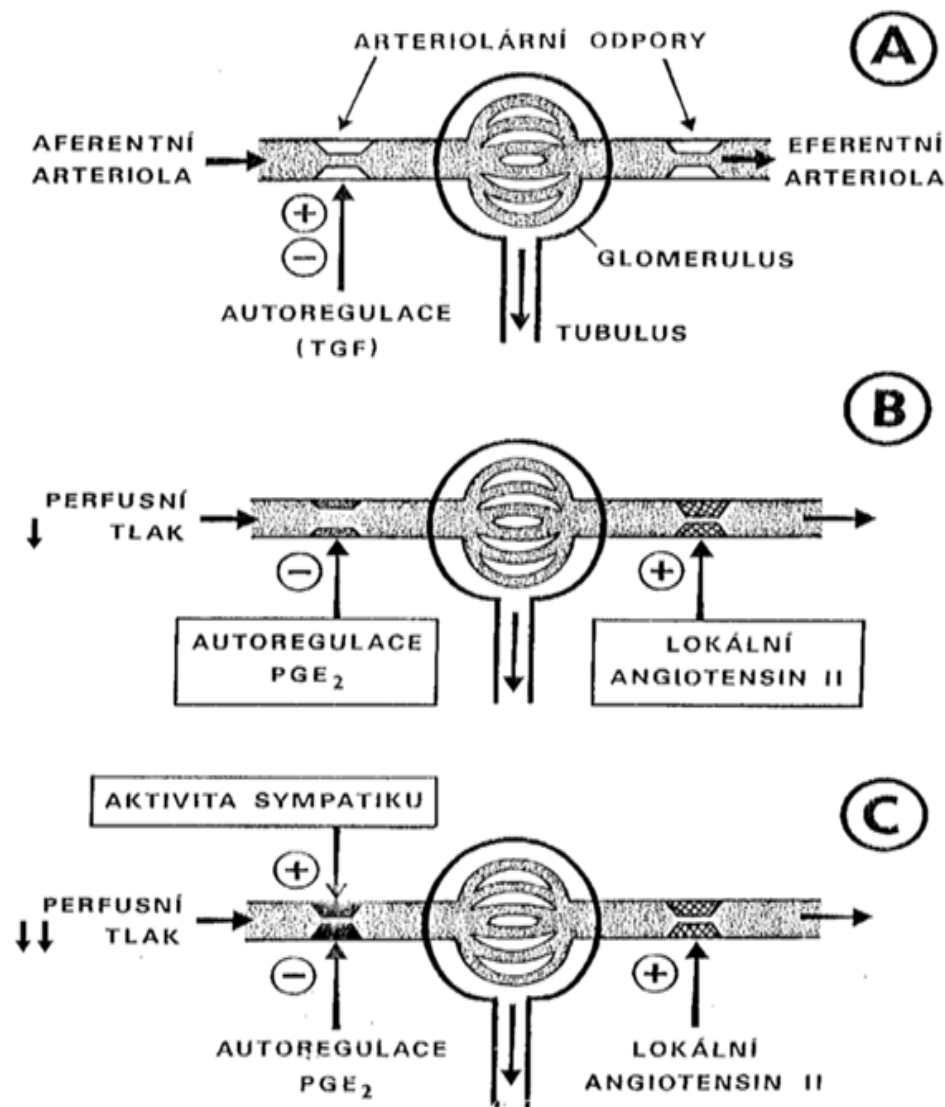
# Signální kaskáda AT II



- AT II receptory vykazují bifazickou odpověď
  - (1) aktivace fosfolipázy C (PLC)
    - PIP<sub>2</sub> štěpen na IP<sub>3</sub> a DAG (mobilizace intracelulárního Ca)
  - (2) DAG aktivuje proteinkinázu C (PKC), hydrolyzuje fosfatidylcholin aktivací fosfolipázy D (PLD) a alkalizuje intracelulární prostředí

# RBF je regulován v konfliktním zájmu

- při mírném poklesu systémového tlaku autoregulačně
  - snaha zachovat perfuzi ledviny, GFR a homeostázu
- při výrazném poklesu (emergentní cirkulační situace) je ledvina “odstavena” (viz B a C obrázek)
  - prerenální azotémie
  - případně s morfologickými důsledky (akutní tubulární nekróza)



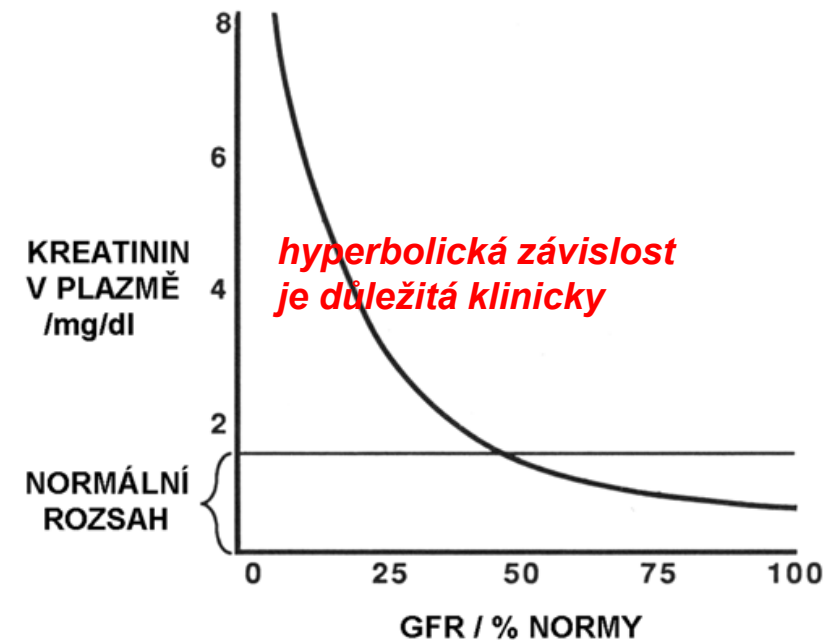
# Měření GFR

- GFR je základní parametr charakterizující ledvinné funkce
  - ale objem glomerulárního filtrátu vytvořený za časovou jednotku **není přímo měřitelný**
- dostatečně přesně ji lze určit
  - (1) stanovením **clearance** některých látek splňujících určité předpoklady (viz dále)
    - endogenní – kreatinin, urea
    - exogenní
      - neznačený tracer – např. inulin,
      - radiokontrastní - iohexol
      - radioaktivní isotop – [<sup>51</sup>Cr] EDTA, [<sup>125</sup>I] iothalamate, [<sup>99</sup>Tcm] DTPA
  - (2) **odhadem** GFR na základě plazmatických hladin endogenních látek **pomocí rovnice**
    - kreatinin - Cockcroft-Gault, MDRD, CKD-EPI, ...
    - jiné endogenní markery (volně filtrované a kompletně degradované tubulárními buňkami)
      - β2-mikroglobulin, cystatin C, ...



# Clearance

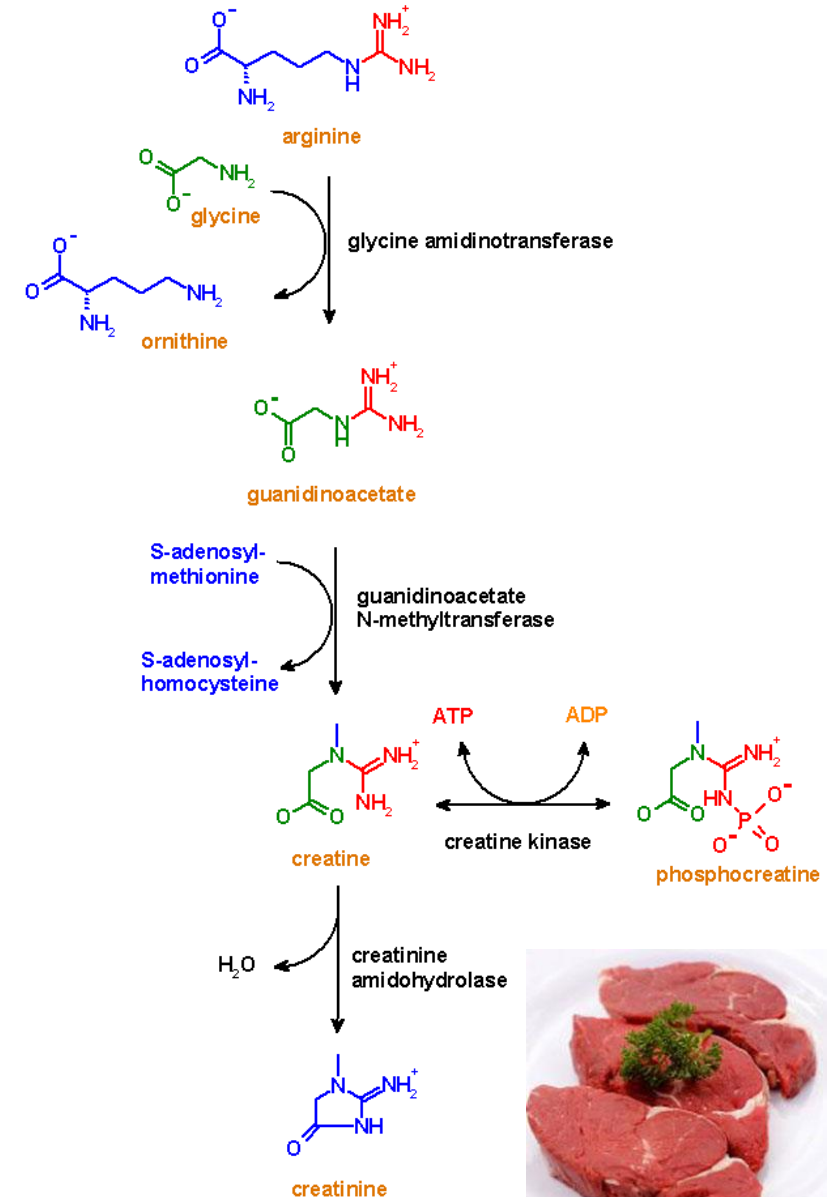
- látka musí splnit určité předpoklady
  - nízkomolekulární, volně filtrované do moče, neváží se na bílkoviny plazmy
  - nepodléhají další degradaci
  - nepodléhají tub. reabsorpci ani sekreci
  - koncentrace v plazmě a analogickém objemu glom. filtrátu je stabilní
  - detekční metoda je jednoduchá, levná a standardizovatelná (mezi pracovišti)
- v tom případě koncentrace v definitivní moči se pak změní tolikrát, kolikrát klesl objem oproti glom. filtrátu
  - **$[P] \times GF = V \times [U]$**
- 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



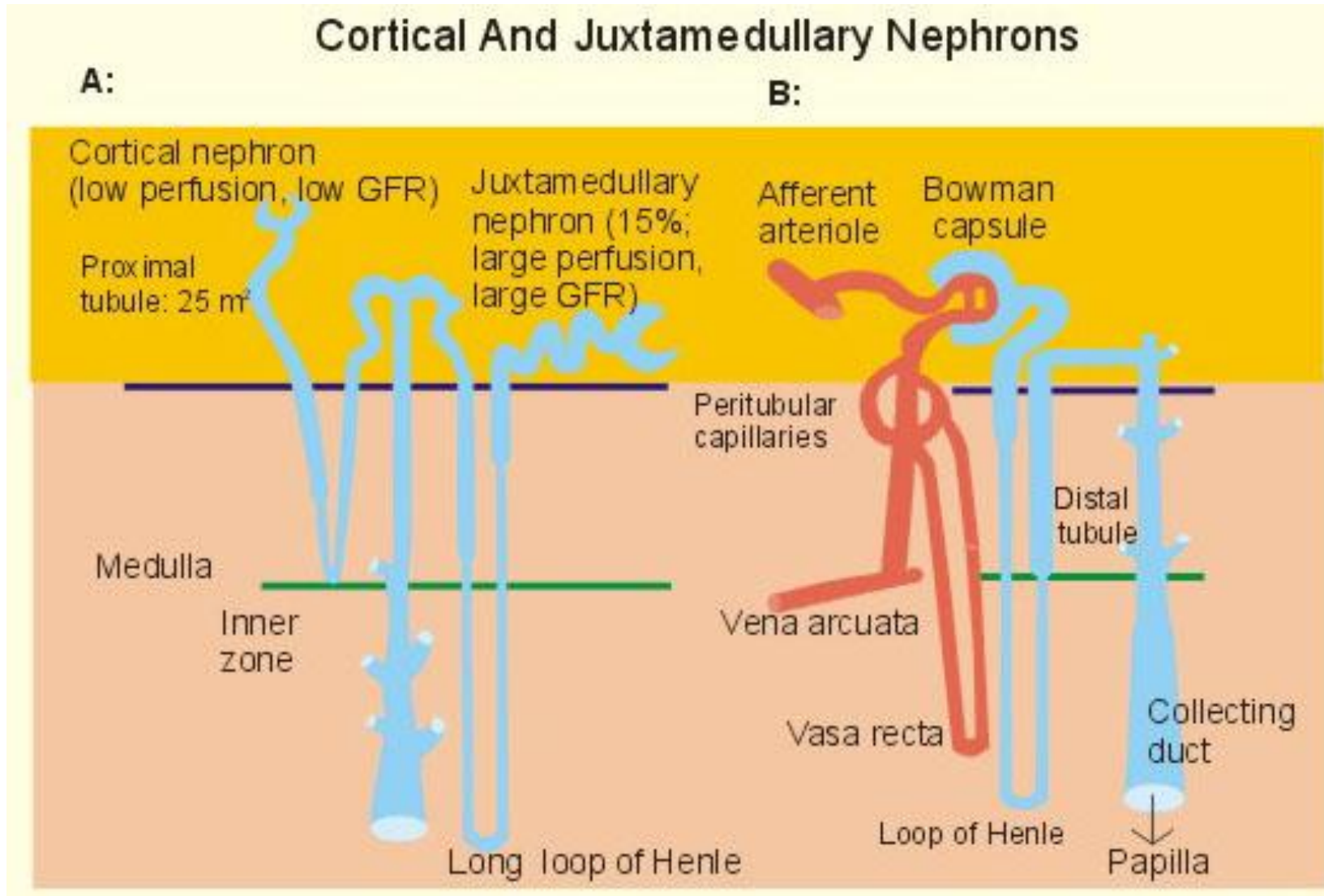


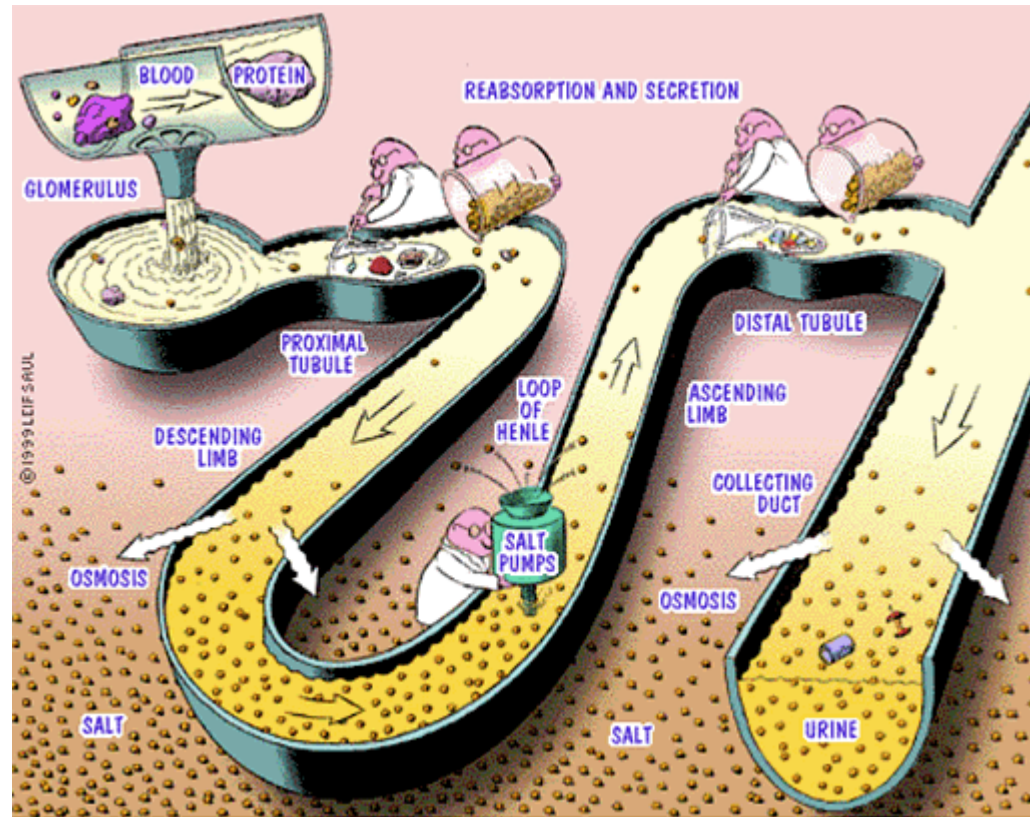
# Kreatinin

- vzniká ve svalech z kreatinu
- při průchodu ledvinou je z 90% filtrován, z 10% secernován do moči tubuly
  - podíl tubulární sekrece roste při poklesu flitrace (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 pacienta
- 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.  $1.73\text{m}^2$
  - 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



# GFR je v jednotl. nefronech heterogenní





# TUBULÁRNÍ REABSORPCE A SEKRECE

# Tubulární reabsorpce a sekrece

- komplexní povaha (aktivní i pasivní děje)
  - epitelové buňky ledvinných tubulů (a jejich hormonální řízení)
    - reabsorpce je transport z apikální na bazolaterální stranu
    - sekrece je transport z bazolaterální na apikální stranu

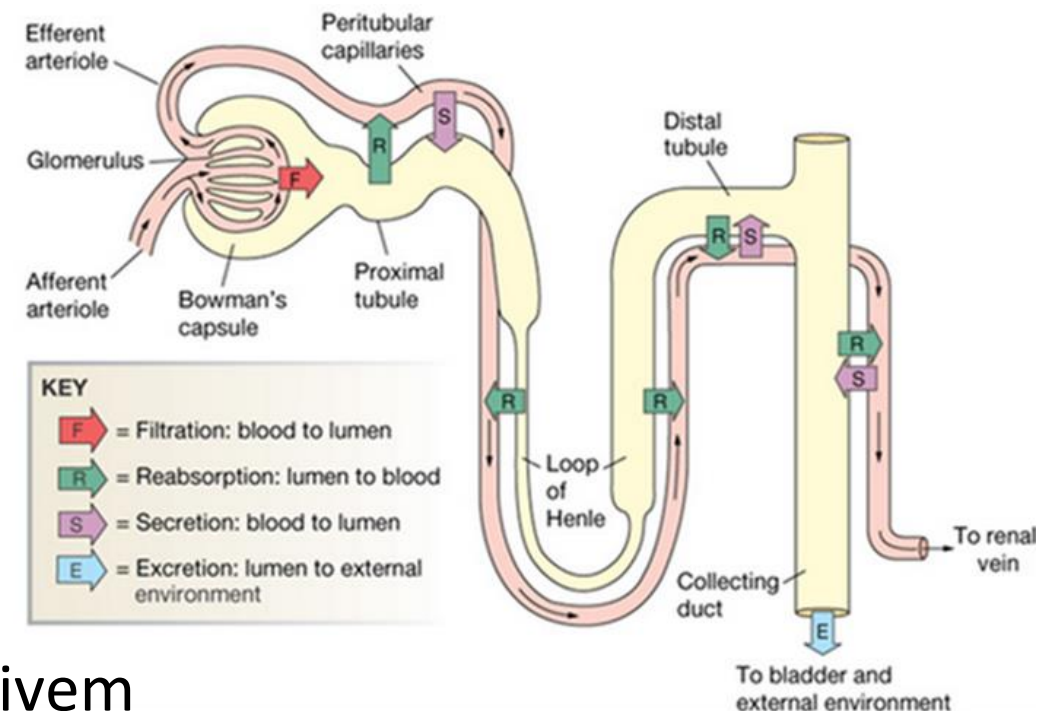
- různé části tubulů mají různé funkce - specializace tubulárních segmentů

— reabsorpce probíhá téměř z 90% v prox. tubulu různými formami transportu

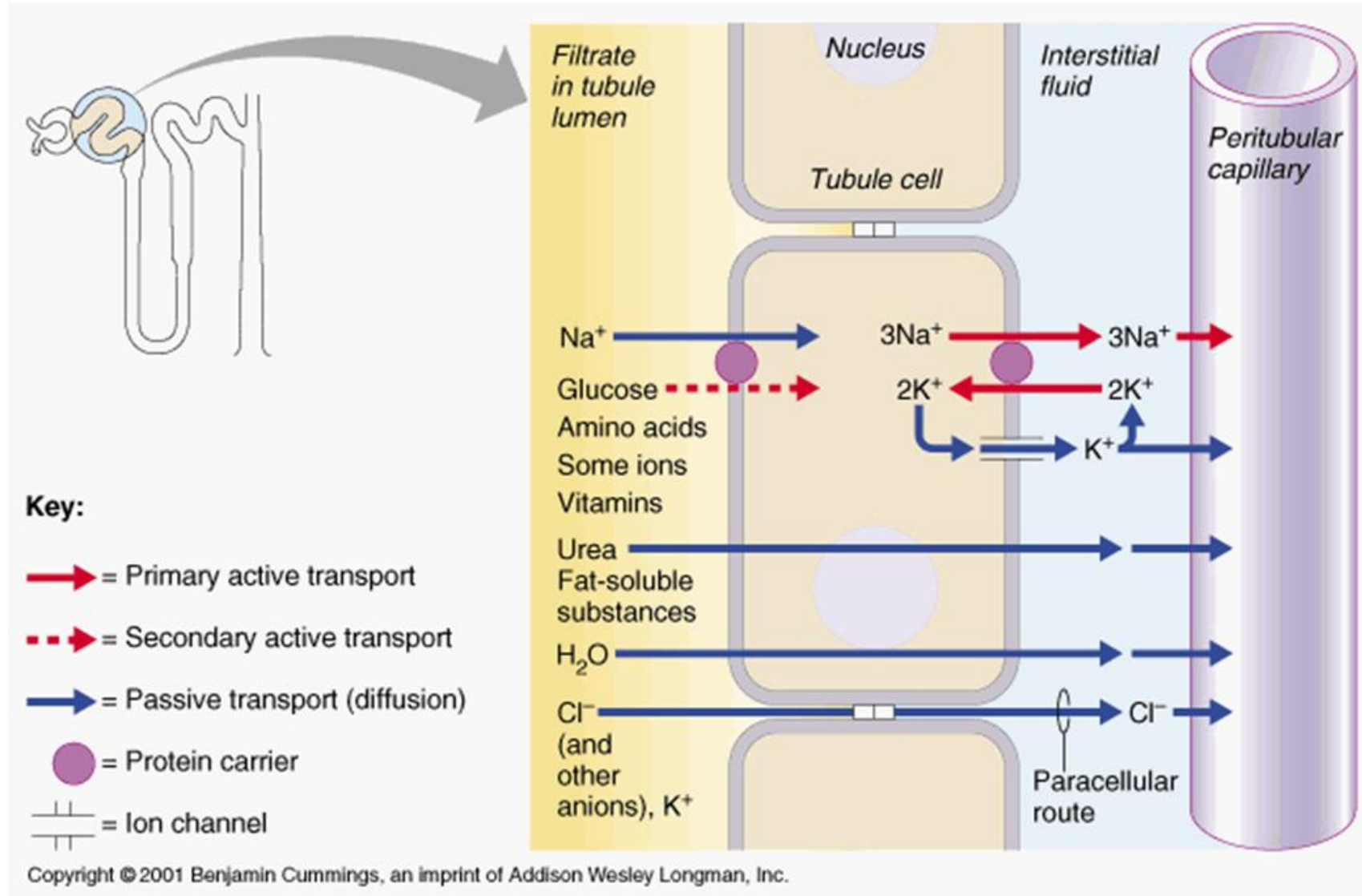
- ~75%  $\text{Na}^+$  (a  $\text{HCO}_3^-$ ),  $\text{Cl}^-$  a  $\text{H}_2\text{O}$
- ~90%  $\text{K}^+$

— sekrece  $\text{K}^+$  probíhá ve sběracích kanálcích, množství závisí na koncentraci  $\text{Na}^+$  v přísl. oblasti aldosteronu

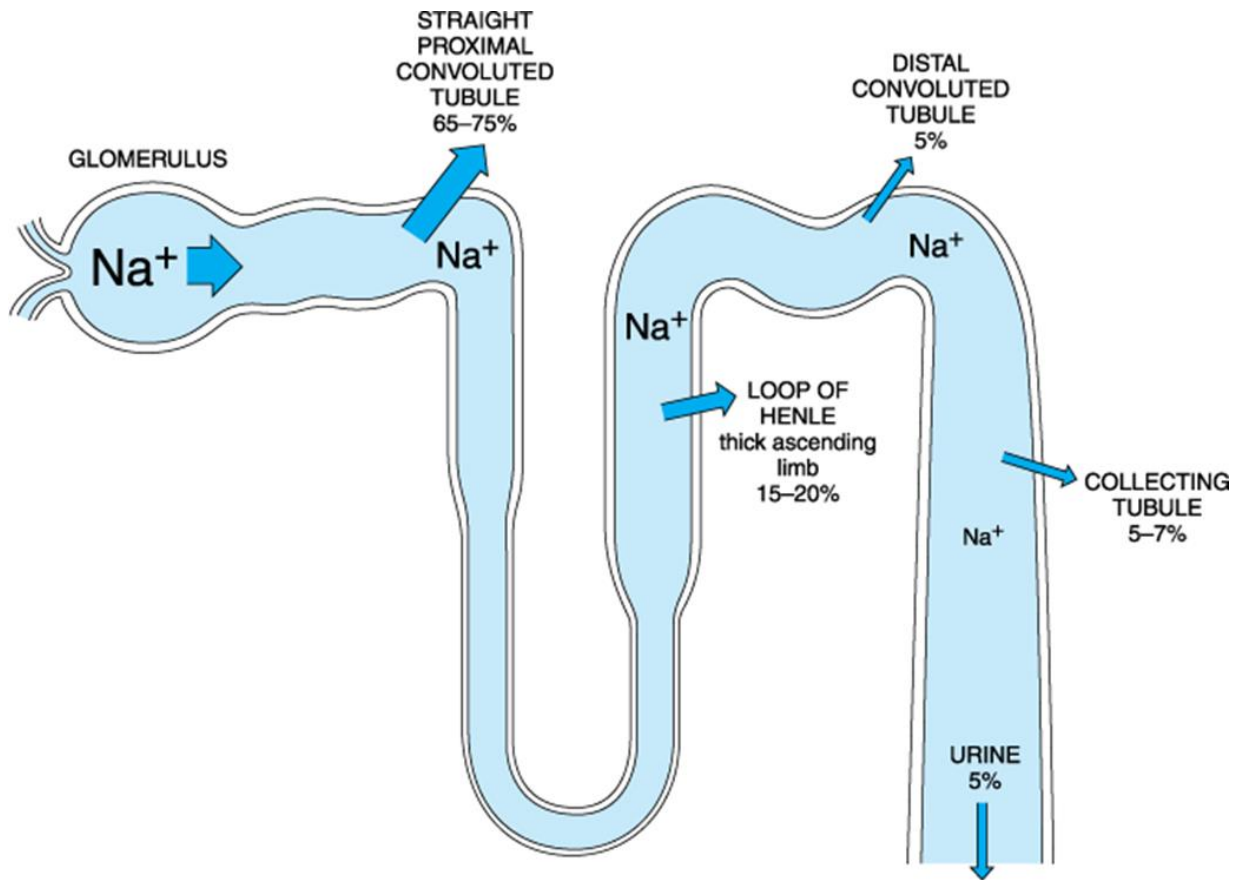
— distální tubulus a sběrací kanálek jsou pod vlivem ADH & aldosteronu



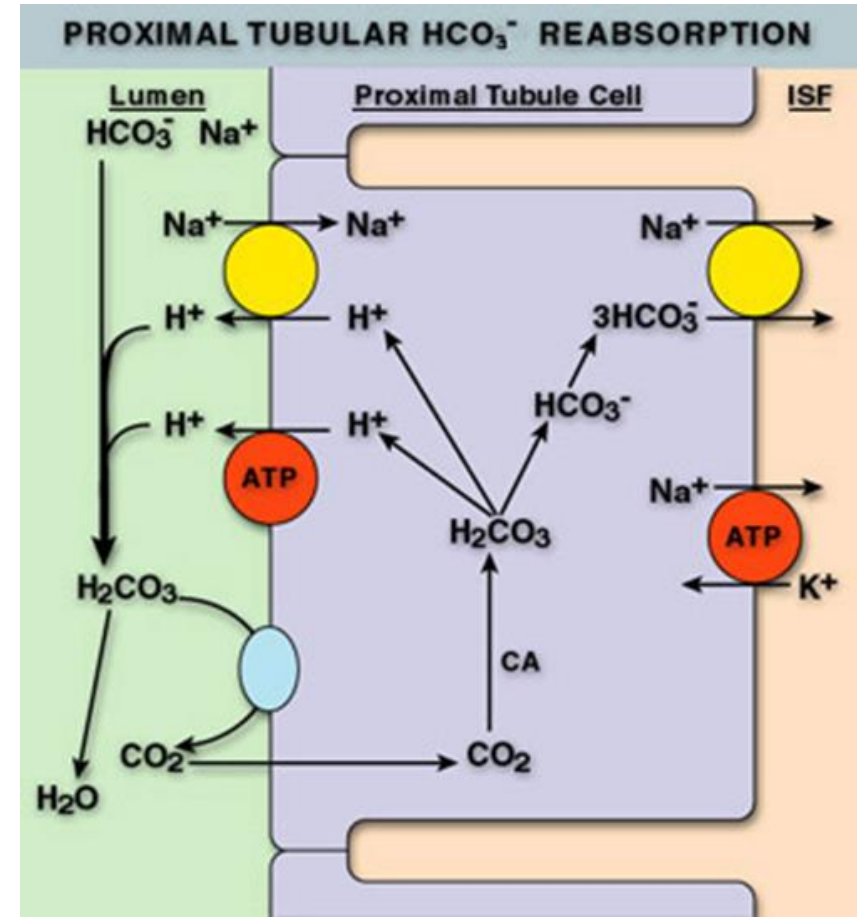
# Typy transportu



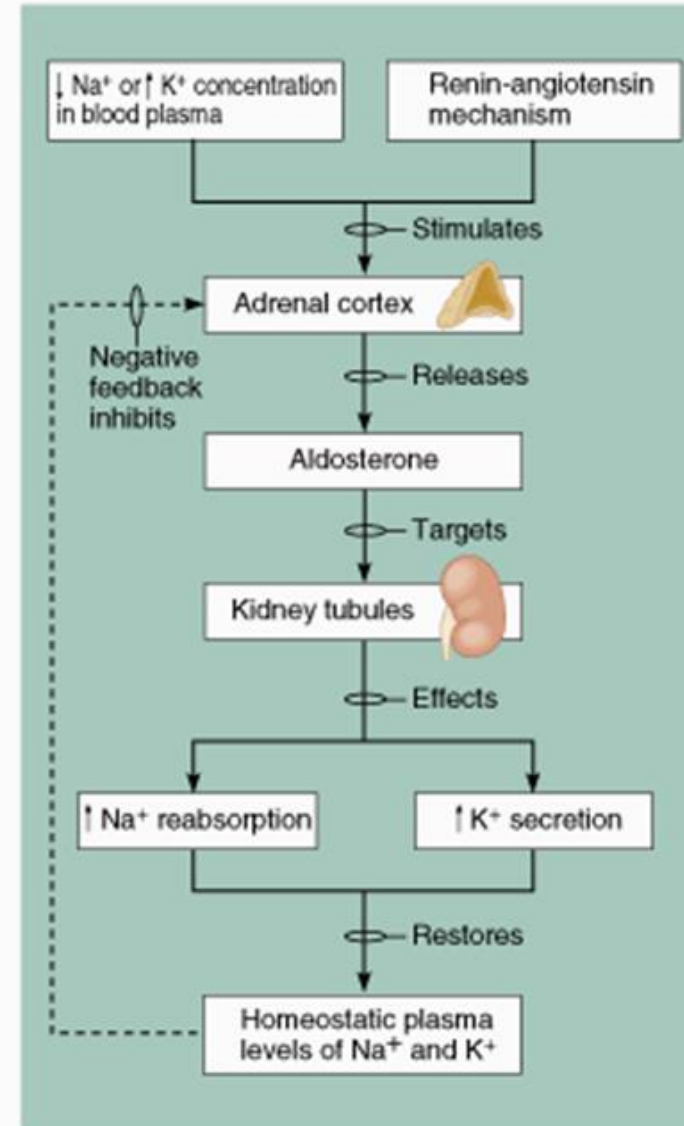
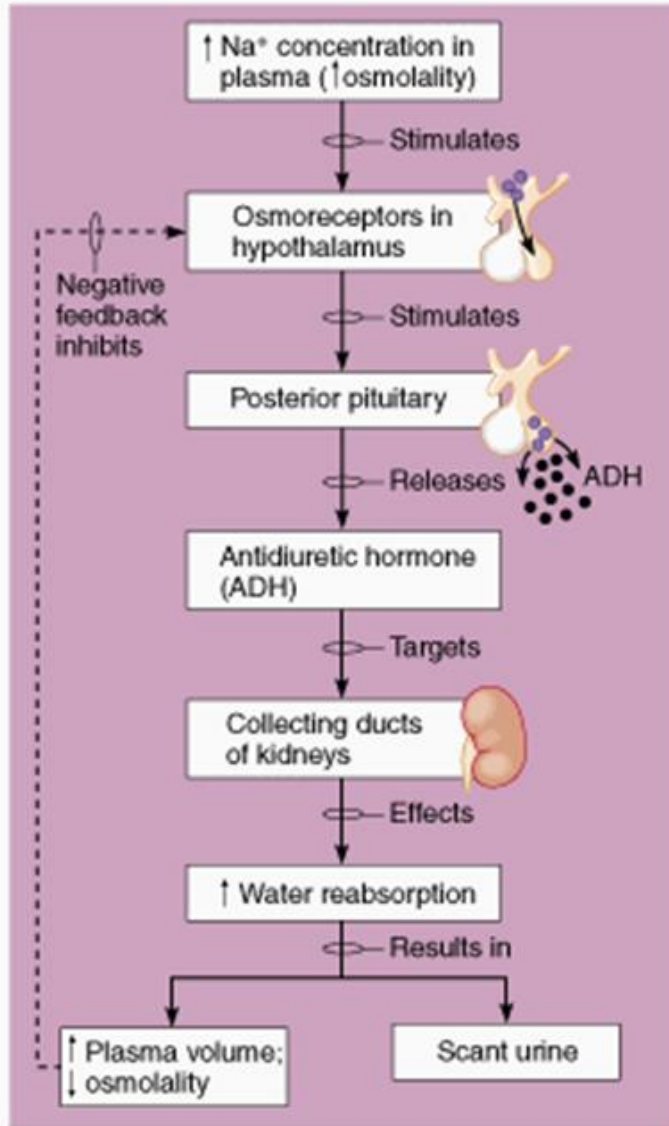
# Reabsorption of $\text{Na}^+$ (and $\text{HCO}_3^-$ )



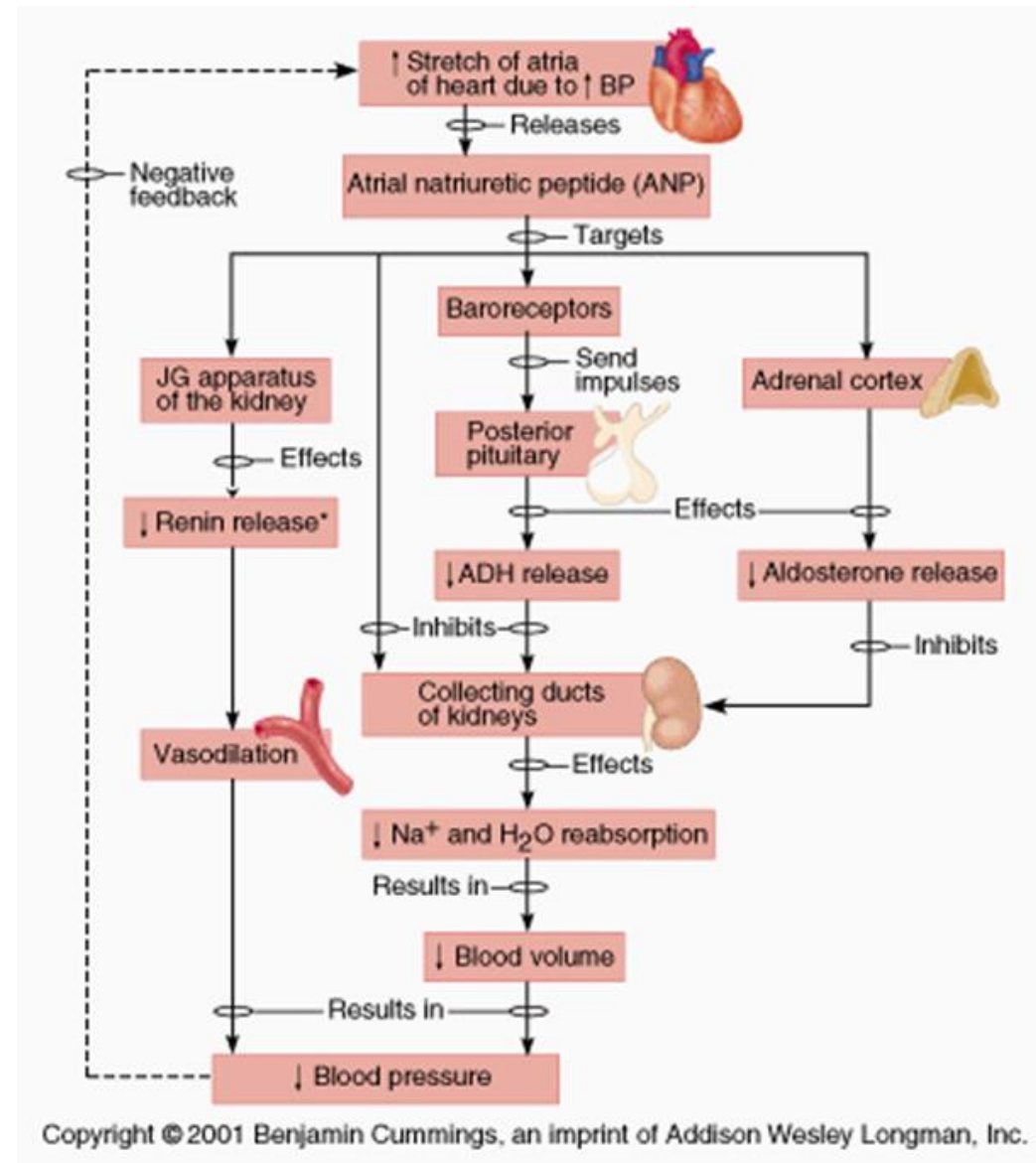
Copyright ©2006 by The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.



# Hormony regulující ledvinné funkce



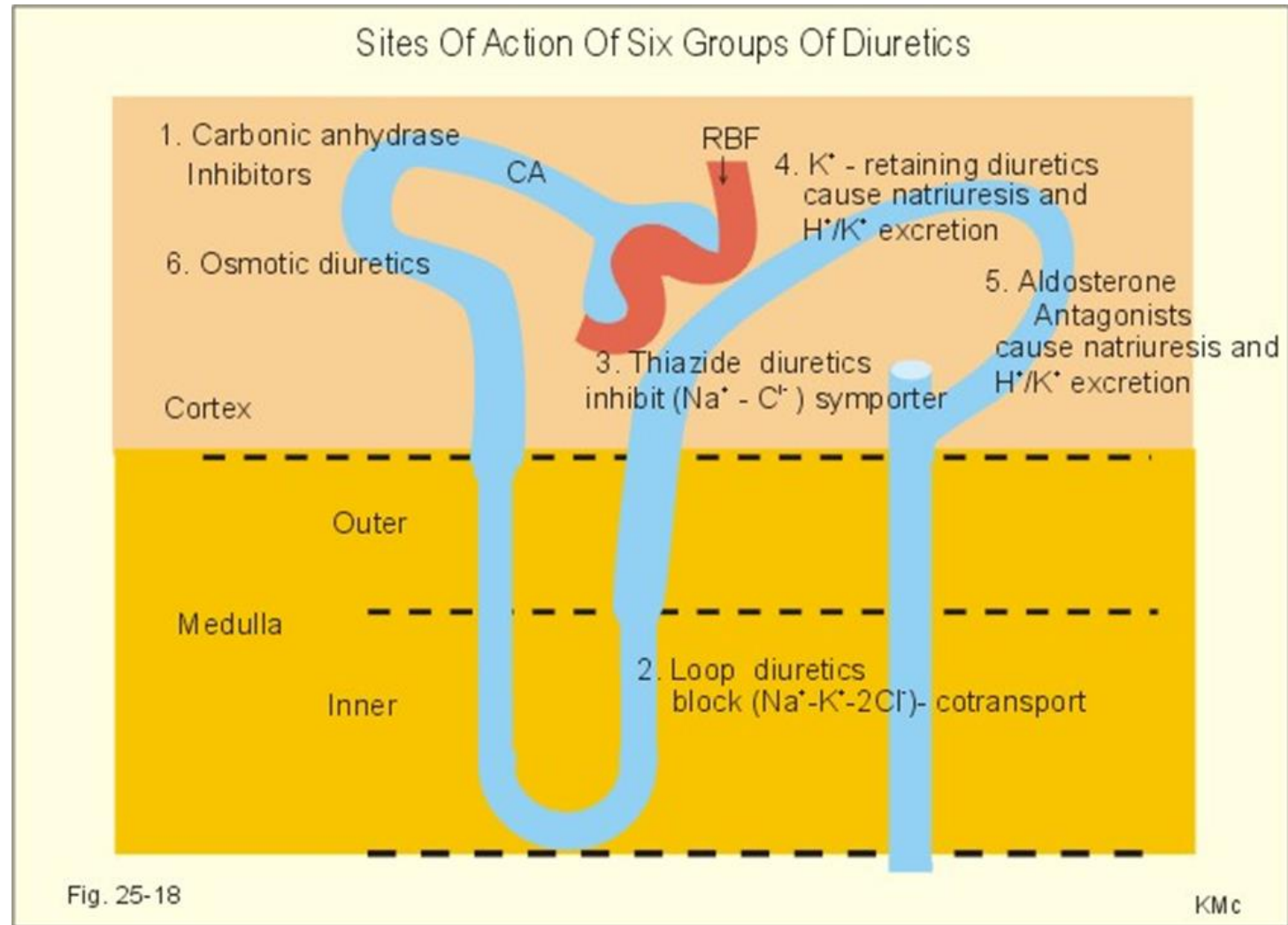
# Hormony regulující ledvinné funkce

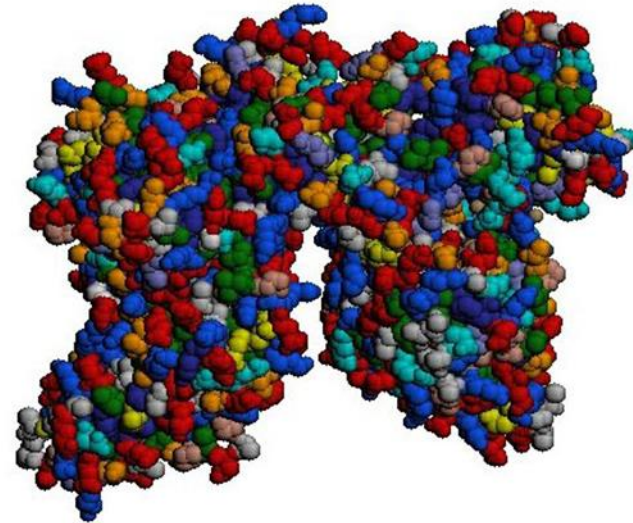




# Diuretika

- zvyšují objem vylučované moči (přesněji zvyšují proporcii glomerulárního filtrátu, který je vylučován jako moč)
- typy
  - inhibitory karboanhydrázy
    - zvyšují osmotický tlak filtrátu
  - kličková diuretika
    - inhibují NaCl transport ze vzestupné části LH
  - thiazidová diuretika
    - inhibují NaCl reabsorpci v 1. segmentu DCT
  - osmotická diuretika
  - šetřící exkreci kalia
  - kombinovaná

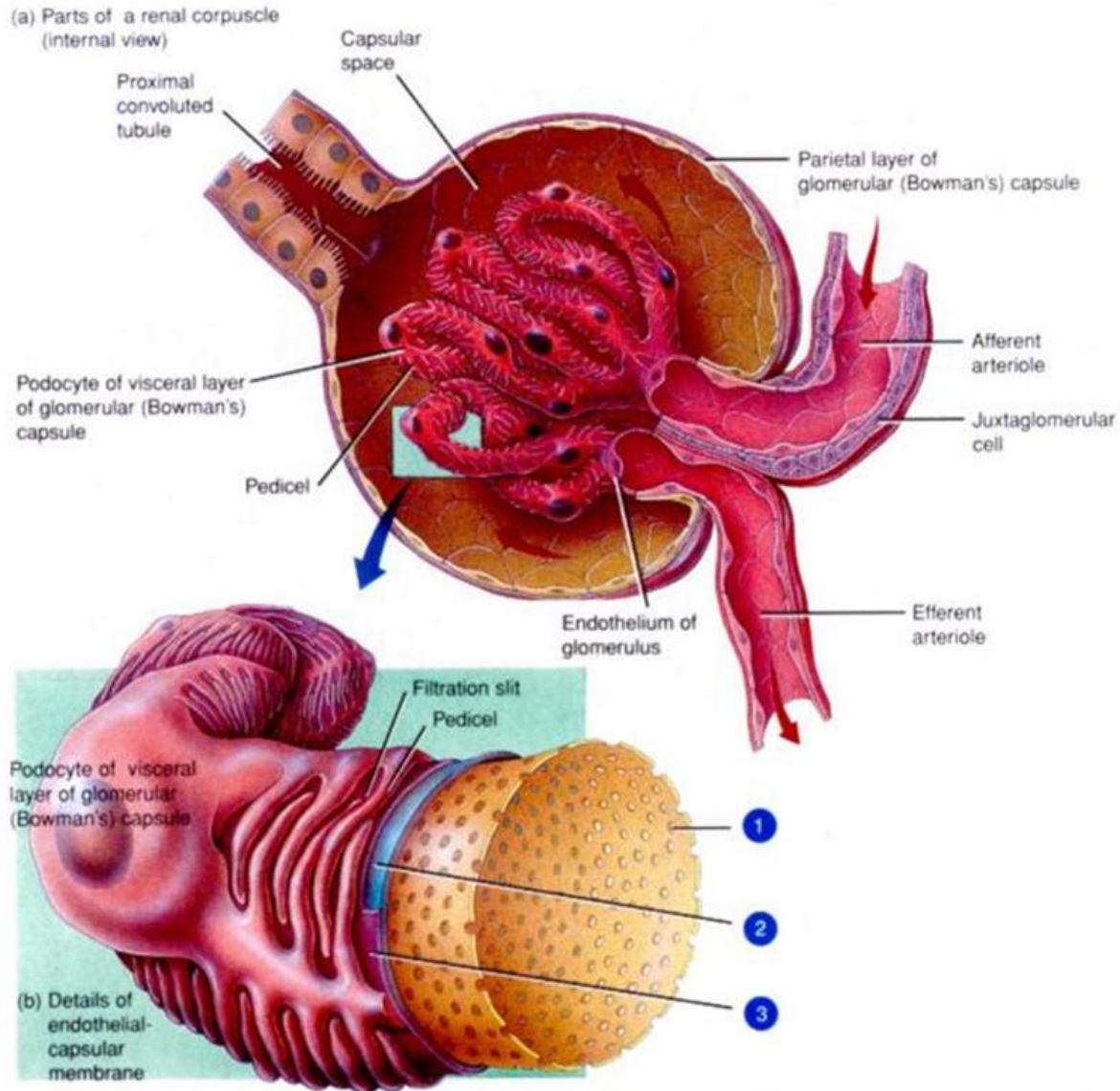




Struktura a funkce glomerulární filtrační membrány  
Filtrace a reabsorpce albuminu a dalších proteinů  
Albuminurie, proteinurie a nefrotický a nefritický syndrom

# FILTRAČNÍ MEMBRÁNA

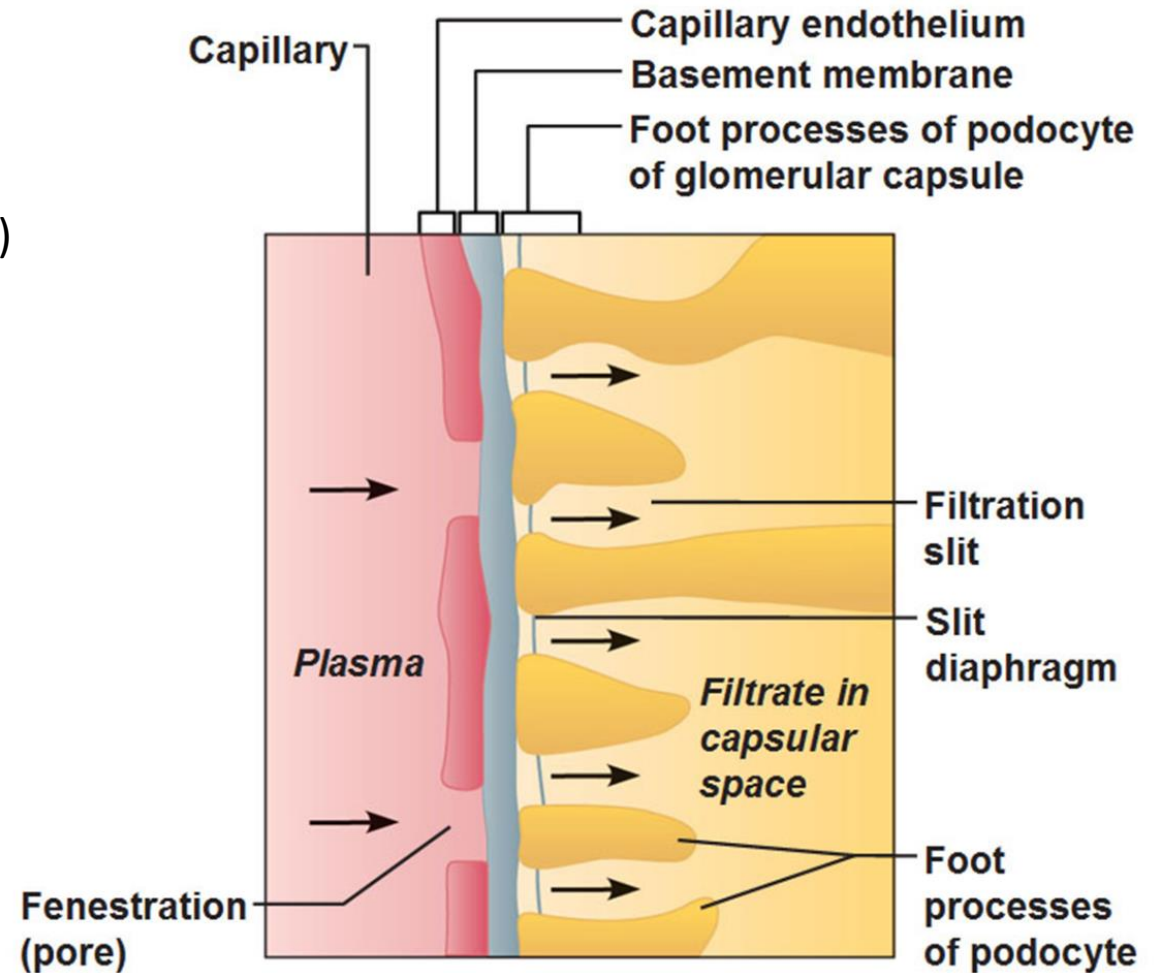
# Vlastnosti filtrační membrány



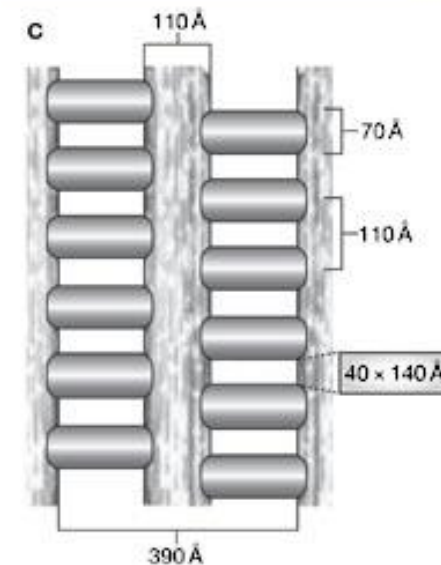
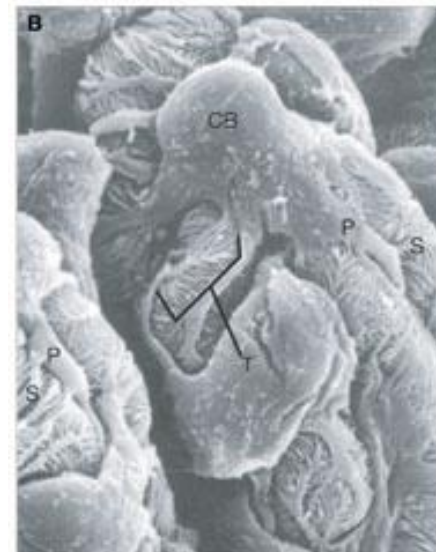
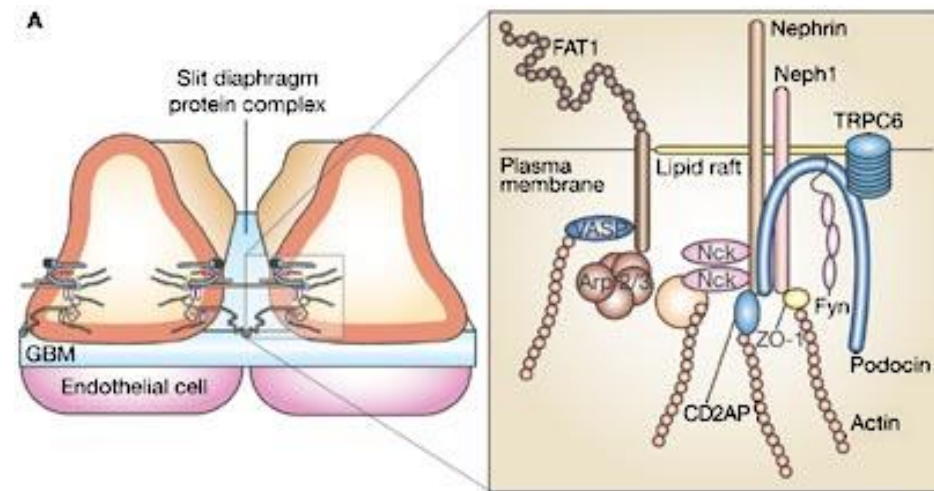
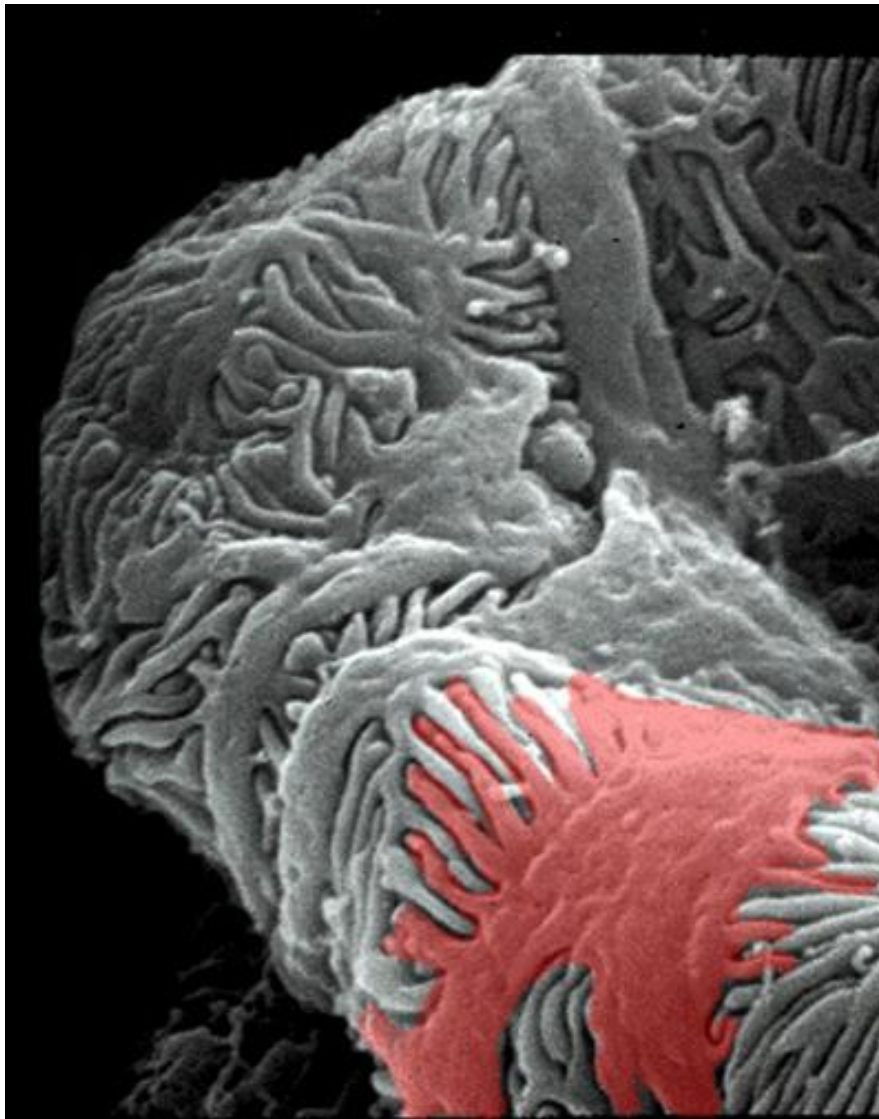
- vlastnosti
  - size-selectivity
  - limit mol. velikosti
    - naprosto volně  $<7\text{kDa}$
    - podle množství  $7\text{-}70\text{kDa}$
    - ne  $>70\text{kDa}$
  - charge-selectivity
    - negativní náboj (a to i proteiny  $<70\text{kDa}$ )

# Struktura glom. filtrační membrány

- (1) endotel
  - **fenestrace** – filtr  $\sim 50\text{-}100\text{nm}$   $\varnothing$ 
    - separace zejm. kr. buněk
- (2) glom. bazální membrána (GBM)
  - síť (glyko)proteinů (kolagen IV, laminin, entactin, agrin, ...) a mukopolysacharidů tloušťky  $\sim 300\text{nm}$  se sumárním **negativním nábojem**
    - velikostní a separace většiny proteinů  $>70\text{kDa}$  ( $\sim 4\text{nm}$   $\varnothing$ )
      - hemoglobin ( $\sim 40\text{kDa}$ ) ano
      - myoglobin ( $\sim 17\text{kDa}$ ) ano
      - $\beta 2$ -mikroglobulin ( $12\text{kDa}$ ) ano, ale reabsorbován
      - paraprotein ( $<70\text{kDa}$ ) ano
    - neg. náboj – heparansulfáty, kys. hyaluronová a sialová
      - albumin ( $\sim 67\text{kDa}$ ) z větší části ne/omezeně ano
- (3) viscerální epitel Bowmannova pouzdra = **podocyty**
  - prim., sec. a tert. foot proceses (pedikly)
  - slit diaphragm (cell-cell junction)
    - významně se podílí se na velikostní (i nábojové) separaci proteinů
- (4) mesangium
  - nepřímo ovlivňuje filtraci proteinů – při kontrakci zvyšuje filtrační tlak

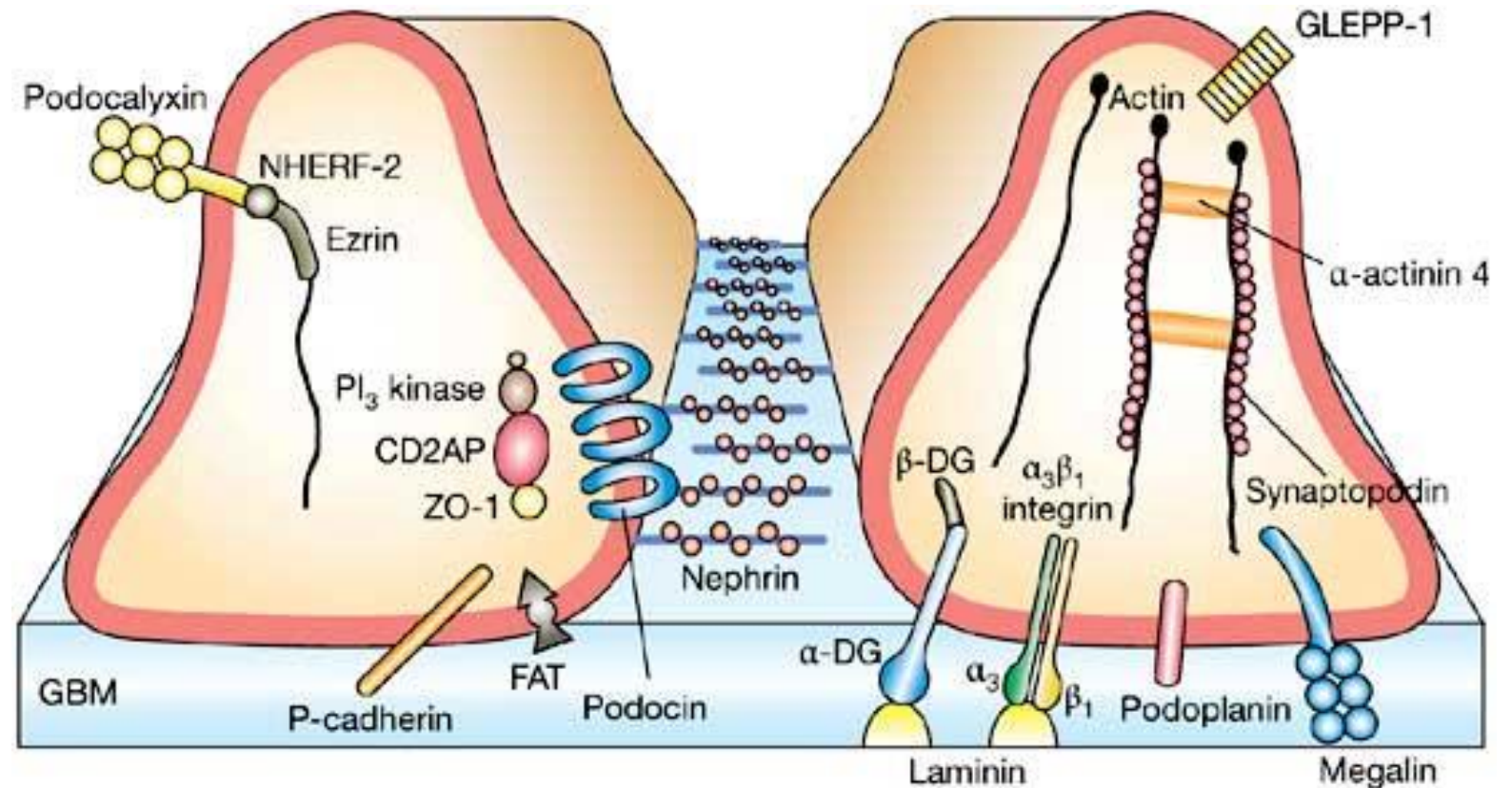


# Podocyty – štěrbinová membrána



Johnstone DB and Holzman LB (2006) Clinical impact of research on the podocyte slit diaphragm. *Nat Clin Pract Nephrol* 2: 271–282 doi:10.1038/ncpneph0180

# Proteiny štěrbinové membrány



- (1) bazální doména - ukotvení k GBM
  - integriny, DG = dystroglycan
- (2) cytoskelet - tvar
  - actin, myosin, synaptopodin, actinin
- (3) junkční doména – slit diaphragm
  - nephrin, Nep1, podocin, CD2AP = CD2-associated protein, ZO-1 = zona occludens-1 protein, densin, FAT = mammalian homolog of Drosophila fat protocadherin
- (4) apikální doména – neg. náboj
  - podocalyxin, podoplanin, podoendin, GLEPP-1 = glomerular epithelial protein-1, další proteiny a receptory (NHERF-2 = Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger regulatory factor-2, ...)

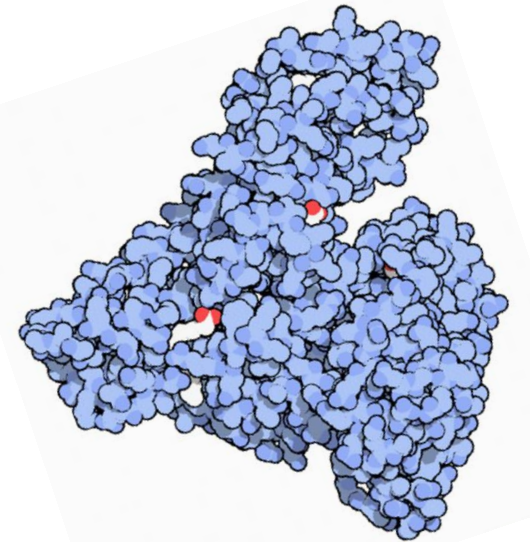
# Protein v moči (1) - norma

- fyziologicky přítomné proteiny v moči
  - tvořené tubulárními buňkami ledvin
    - Tamm-Horsfallův protein (= uromodulin)
      - glykoprotein produkovaný bb. asc. raménka Henleovy kličky
      - funkce nejasná (imunomodulace, ochrana před krystaly a infekcí?)
      - hl. součást hyalinních válců
    - uropontin
    - IgA imunoglobulin
    - nephrocalcin
  - filtrované, ale reabsorbované a degradované v tubulu
    - **albumin** (viz detailněji)
    - $\alpha$ 2- a  $\beta$ 2-mikroglobulin, enzymy, apoproteiny, peptidové hormony, ...
- citlivost běžných dg. metod je nastavena tak, aby nedetekovala tyto proteiny a fragmenty albuminu, ale odhalila klinicky závažnou proteinurii, při které se do moči dostává  $>0.5$  g proteinů



# Human serum albumin (HSA) paradox

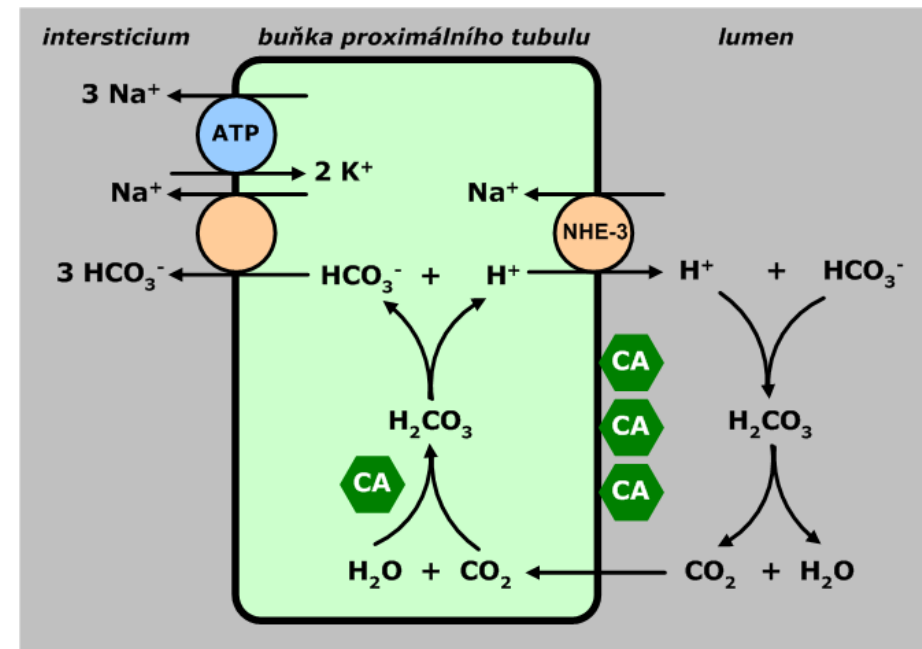
- HSA ~65kDa
- obsahuje ~ 185 nabitých reziduí (Asp, Glu, Lys)
  - jejich povrchová distribuce a výsledný náboj je variabilní vzhledem k mnohočetným funkcím, která albumin fyziologicky zastává
    - transport (FFA, bilirubin, Ca, Mg, hormony, léky, vitaminy, ...)
    - pufr / ABR
    - enzymová aktivita (antioxidační, esterázová)
    - onkotický tlak / TK
    - AK pool
- nakládání ledvin s albuminem
  - (1) omezená filtrace (?)
    - elektrostatická repulze albuminu nebyla vždy exp. prokázána
    - koncepce byla dominantně postavena na nepřítomnosti albuminu v moči – viz dále
  - (2) tubulární reabsorbce
    - endocytoza = degradace (→ AA)
  - (3) tubulární degradace



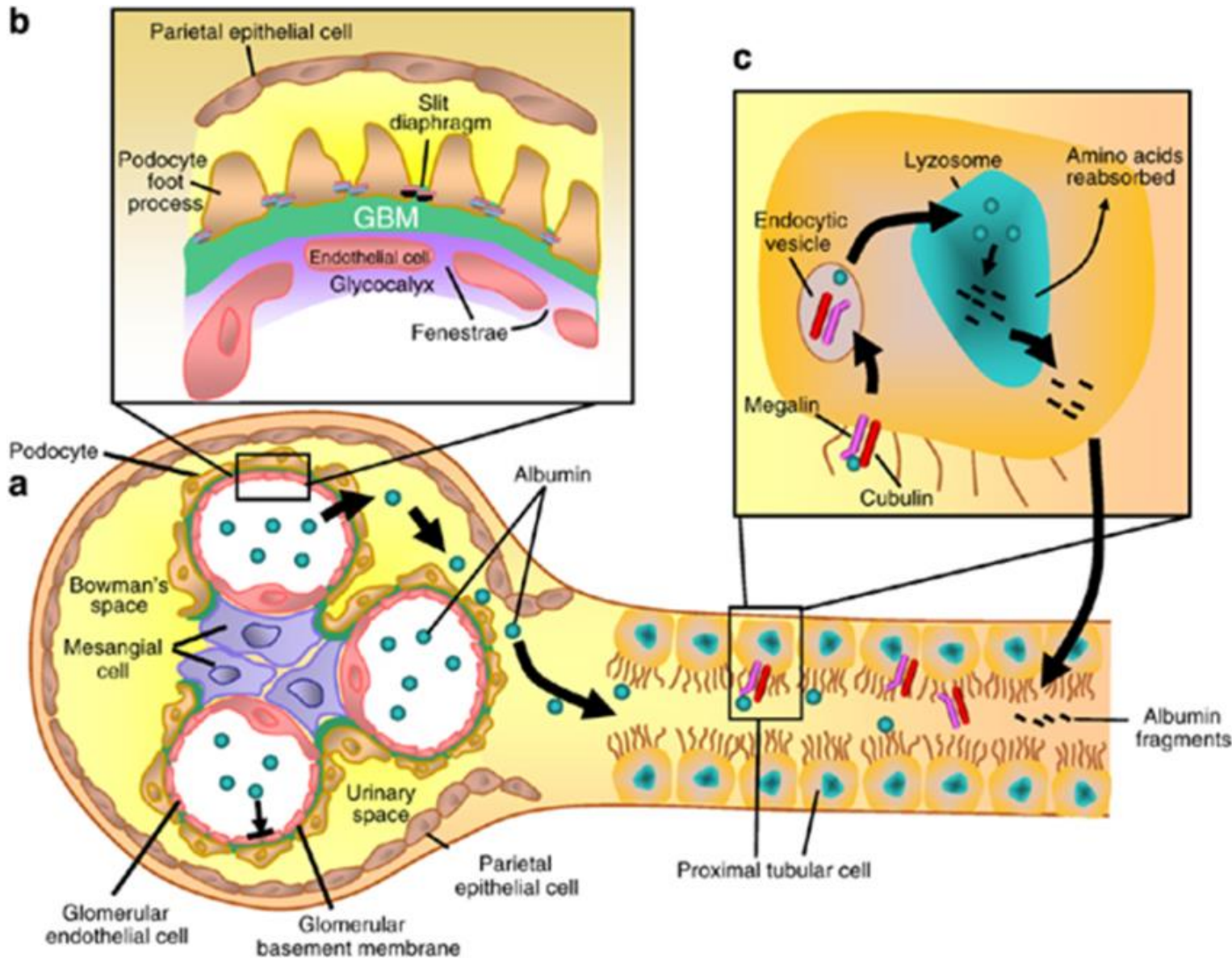


# Kinetika filtrace albuminu

- RPF ~ 700ml/min → GFR ~ 120ml/min = ~ 180l/den
  - krev, která proteče ledvinami za den obsahuje ~7.2kg albuminu
    - při ~ 40g/l v plazmě (70g/l CB)
  - denní ztráty močí ~25-40mg (tj. ~99.9% je zadrženo)
- původní představy o kinetice albuminu byly získány na základě clearance studií, mikropunkce glomerulů, imunodetekce látek aj.
  - pokroky v metodologii – celotělové kinetické studie s [<sup>3</sup>H] nebo [<sup>125</sup>I] albuminem naznačují, že množství vyloučeného albuminu je určeno kombinovaným efektem omezené filtrace, tubulární reabsorbce a tubulární degradace
    - filtrace albuminu asi o něco vyšší než se původně předpokládalo
- při normální GFR (~180l/d) a filtrační frakci (0.2) by mohlo být filtrováno a kompletně reabsorbováno až ~ 1.5kg NaCl/den
  - ~70% v prox. tubulu účinkem NHE-3 transportéru
    - SHR (spontánně hypertenzní krysy) mají 3× ↑ aktivitu
    - human EH (hypoteticky ↑ aktivita + efekt ATII)
      - odtud vztah hypertenze - albuminurie



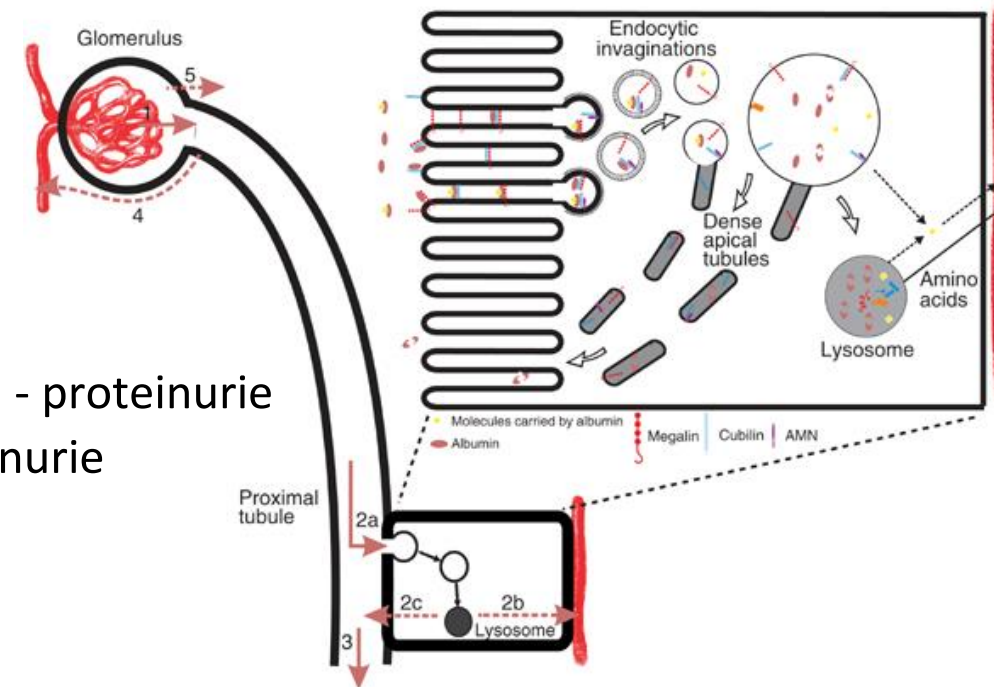
# Normal renal handling of albumin

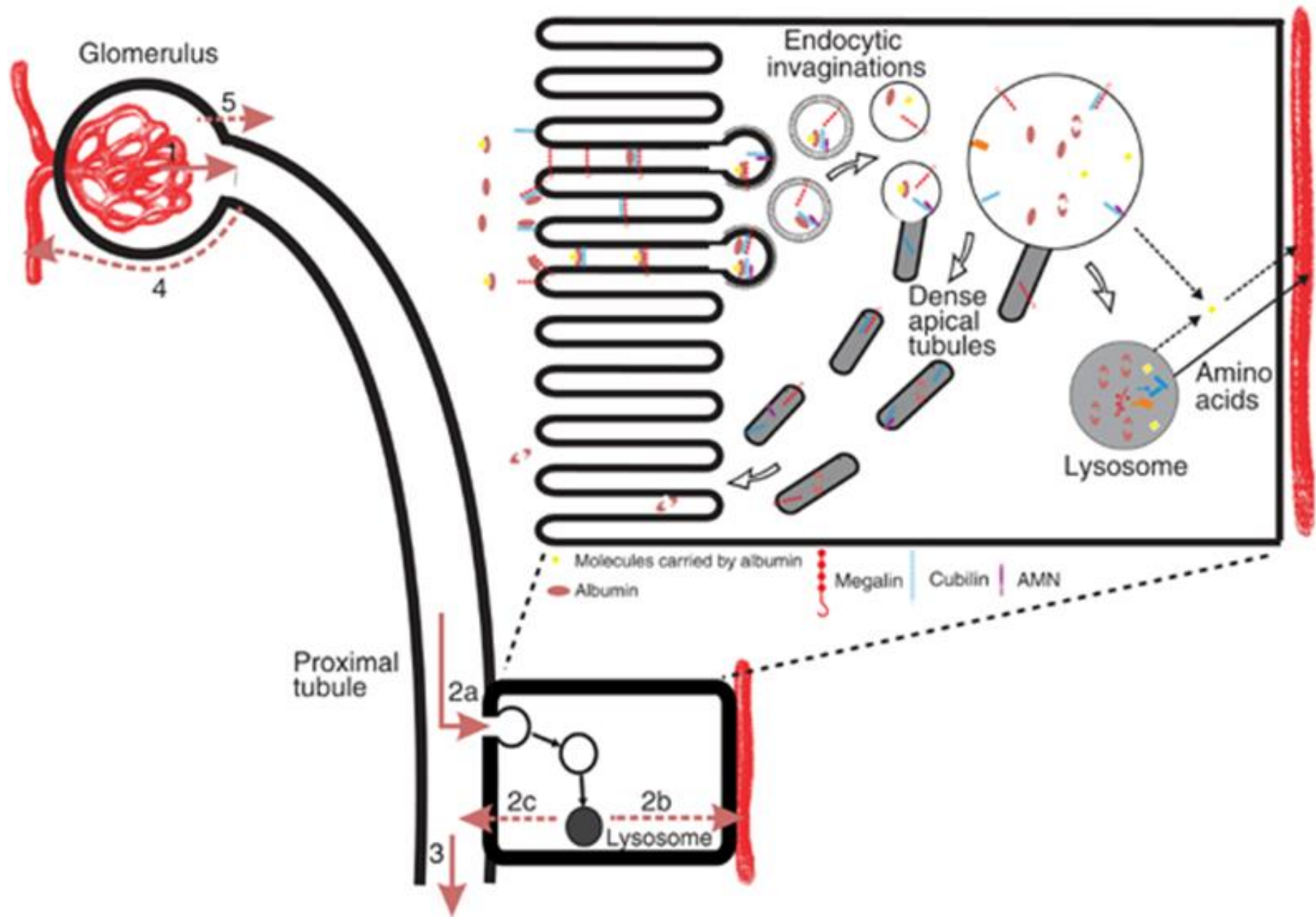


(a) Albumin (represented by green spheres) normally remains within the capillaries of the glomerular tuft, and does not escape into the urinary (Bowman's) space. (b) Fenestrae within specialized endothelial cells are covered by a negatively charged glycocalyx. Podocytes attach to the outermost aspect of the GBM by foot processes, between which are proteins comprising the size barrier slit diaphragm. (c) The albumin that is physiologically filtered at the level of glomerulus into the urinary space is taken up by the megalin/cubulin receptor lining the brush border of proximal tubular cells. Albumin is internalized by vesicles, and upon lysozyme action, the resultant fragments are either reabsorbed or secreted back into the tubular lumen as albumin fragments.

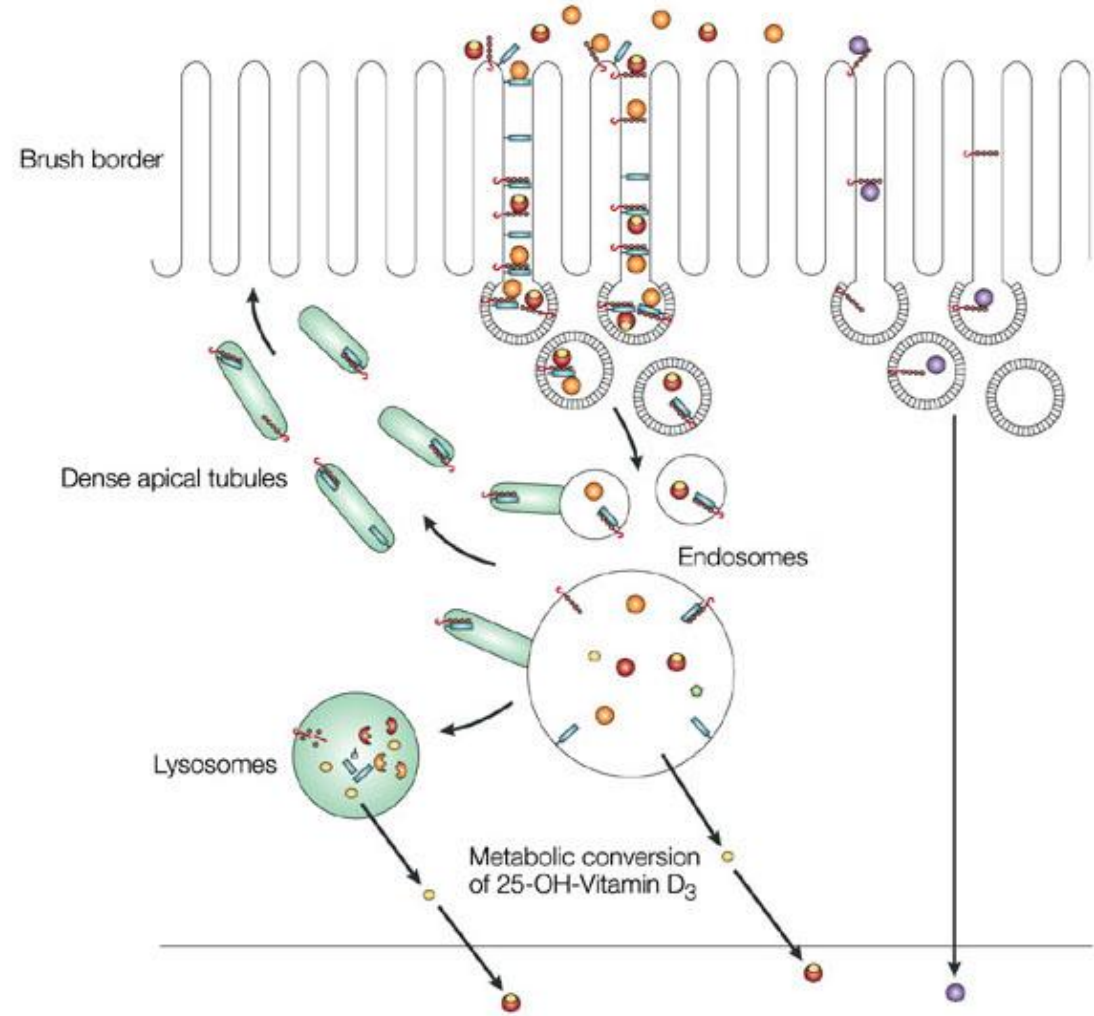
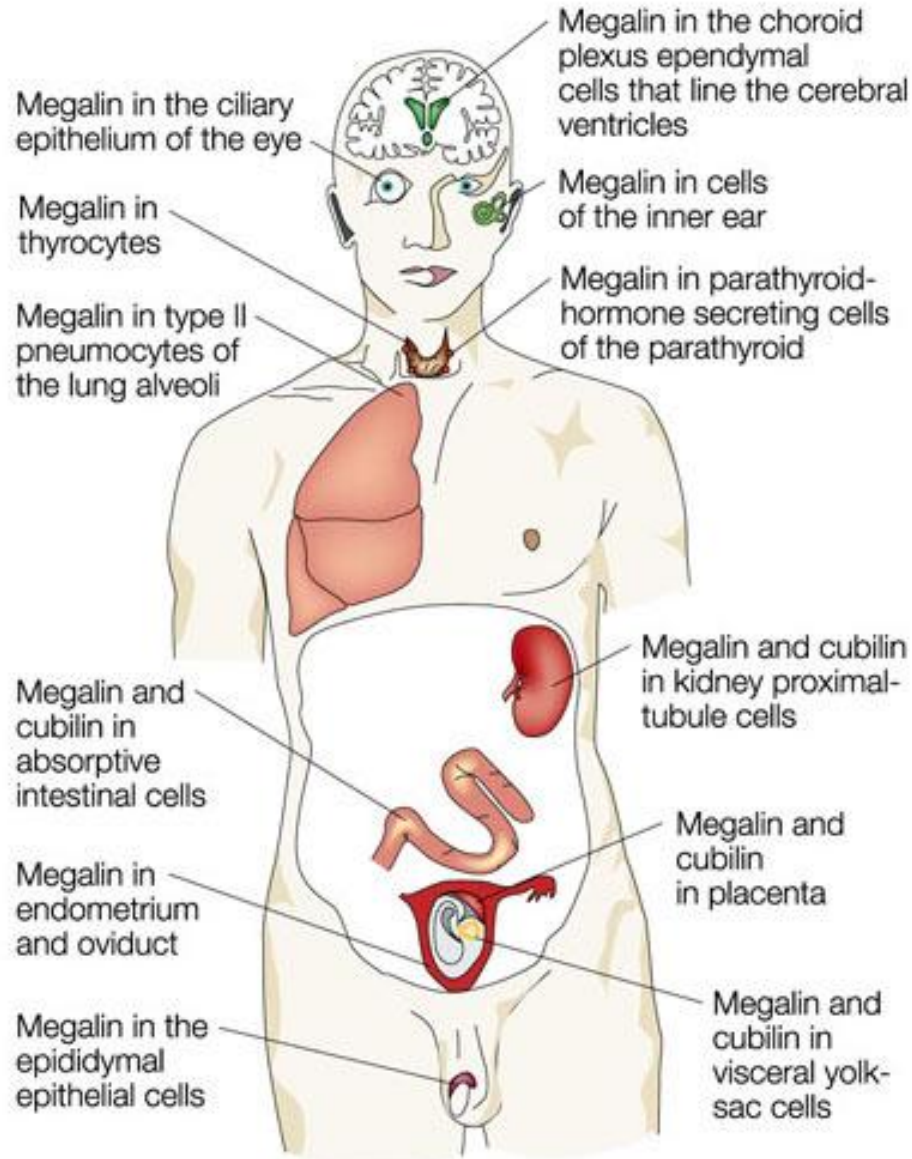
# Mechanismus proximálně tubulárního re-uptake albuminu

- receptor-mediated endocytosis
  - vysoká kapacita/nízká afinita
    - stejný mechanismus je využíván i jinde (např. při absorpci komplexu vit. B12/intrinsic faktor v ileu)
  - endocytický komplex
    - megalin/cubilin – vazba albuminu
      - Imlerslund-Graesbeck disease (mutace v genu pro cubilin) - proteinurie
      - Fanconiho syndrom (mutace v genu pro megalin) - proteinurie
    - NHE3 – nutný pro acidifikaci endosomu/lysozomu
      - NHE3 KO zvířata - proteinurie
    - ClC5 – interakce s cytoskeletem
      - Dent's disease (mutace v genu pro ClC5) - proteinurie
    - H-ATPase - nutný pro acidifikaci endosomu/lysozomu





# Megalin/cubilin



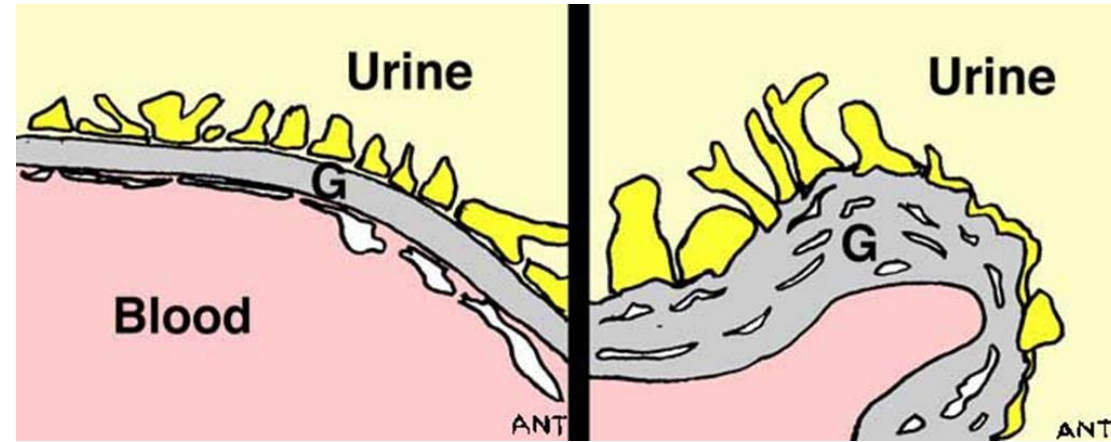
- ┃ Megalin
- ┃ Cubilin
- Nutrient (vitamin, iron)
- Carrier protein
- Lipoproteins, hormones, enzymes, drugs and others
- Thyroglobulin, RBP?

# Protein v moči (2) - proteinurie

- **(a) funkční proteinurie**
  - příčina není v poruše funkce glomerulární membrány, ale ve změněných hemodynamických poměrech v glomerulech (↑ hydrostat. tlak v kapilárách)
    - ortostatická, pochodová, při horečce, po větší fyzické námaze...
    - charakter neselektivní proteinurie
- **(b) glomerulární proteinurie** (obvykle >1g/den, často mnohem více)
  - prerenální - patologický nárůst “malých” proteinů, které mohou procházet do glomerulárního filtrátu
    - např. hemolýza ( $\alpha$ - $\beta$ -dimery globinu), rhabdomyolýza (myoglobin), paraprotein (lehké Ig řetězce  $\kappa$  a  $\lambda$  (tzv. Bence Jonesova bílkovina)
  - selektivní - intaktní lamina densa (ztráta glykokalyxu z povrchu endotelií a podocytů)
    - albuminurie, zadrženy větší proteiny než albumin
  - neselektivní - větší strukturní poškození včetně lamina densa a hlavně podocytů
- **(c) tubulární proteinurie** (obvykle <1g/den)
  - snížená zpětná resorpce malých plazmatických bílkovin (nejvyšší zastoupení albumin a  $\beta$ 2-mikroglobulin v moči)
    - kongenitální (např. Dent's disease (CLC5), Imerslund-Graesbeck disease (cubilin), Fanconi ho syndrom (megalin) aj.)
    - získané (např. hypertenze)

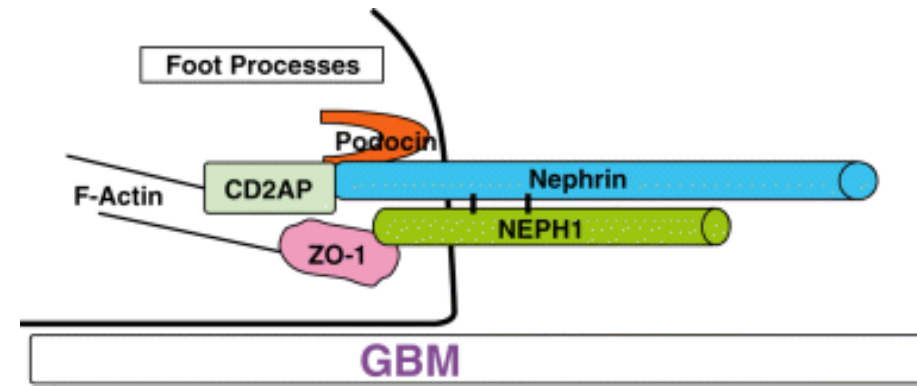
# Patogeneze glomerulární proteinurie

- kongenitální
  - postižení GBM
    - např. Alportův sy (mutace g. pro kolagen)
  - postižení podocytů (resp. slit diaphragm)
    - mutace v genech pro nephrin, podocin, ...
- získané - postihují jakoukoliv část glomerulu
  - imunitní mechanismy - typicky **glomerulonefritidy**
    - cirkulující nebo in situ imunokomplexy (90 %)
      - antigen: bakterie ( $\beta$ -hemolyt. Strepto-, Stafylo-, Pneumokoky), paraziti, viry, endotoxin, součásti buněk (u SLE), léky, ...
      - záleží na velikosti IK zda zůstanou v cirkulaci ( $\rightarrow$  vaskulitidy), budou vychytány fagocytujícími bb. nebo se dostanou (díky obrovskému průtoku a fenestrovanému endotelu) do ledvin
    - protilátky proti GBM, antineutrofilní nebo proti buňkám glomerulů (10 %)
  - neimunitní – ischemie, hyperfiltrace, toxiny, infekce, ...
    - např. diabetes, hypertenze, amyloidóza, HIV, ...



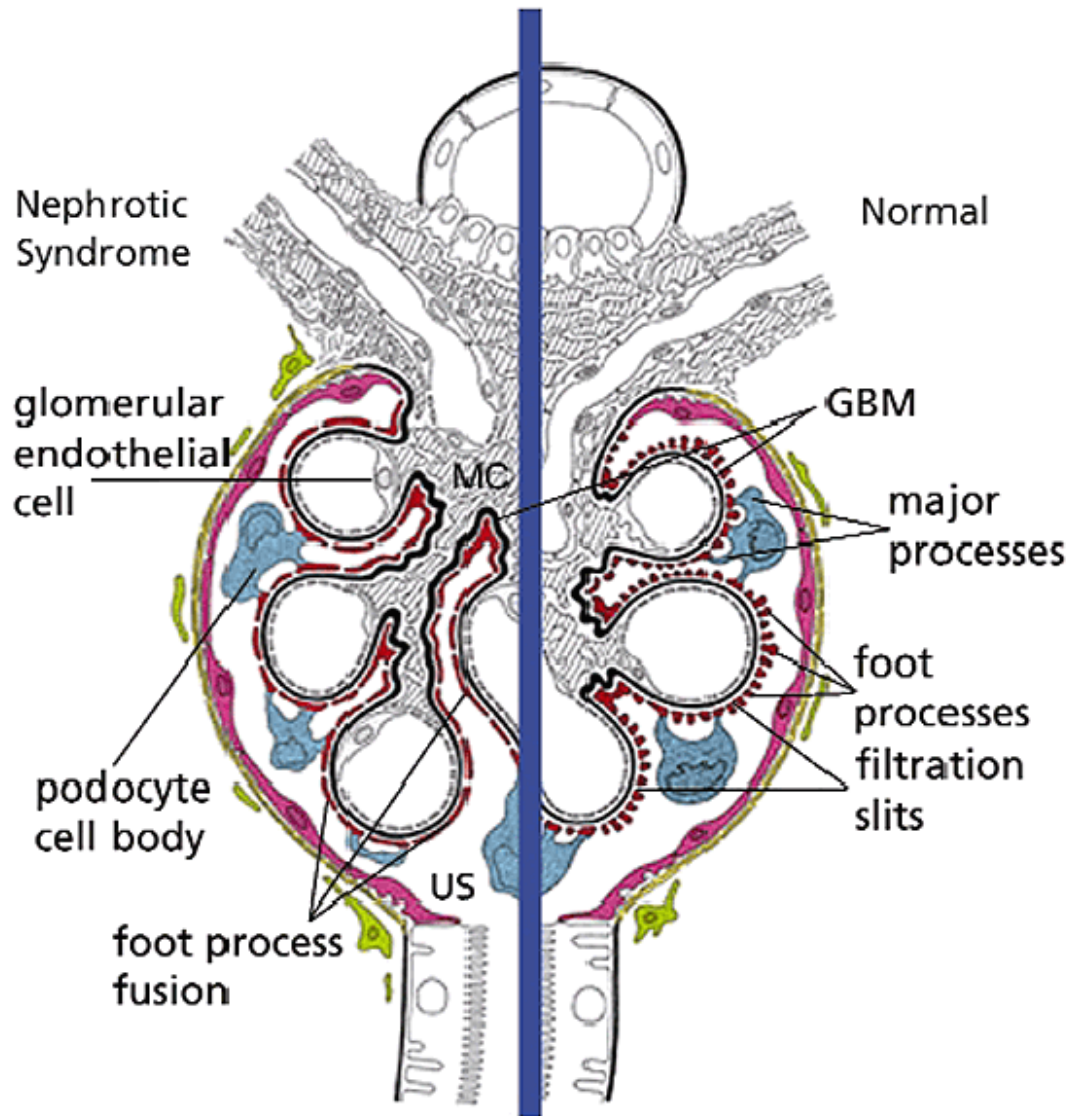
# Důležitost štěrbinové membrány podocytů

- (1) studium familiárních forem nefrotického syndromu vedlo k identifikaci většiny genů / proteinů štěrbinové membrány podocytů
  - **nephrin** (Finnish-type congenital nephrotic syndrome, NPHS1)
    - kongenit. defekt vývoje pediklů a tvorby štěrbinové membrány
    - masivní a potencionálně letální proteinurie počínaje fetálním obdobím
    - nutnost parenterální výživy a peritoneální dialýzy do doby transplantace
      - pro srovnání Alportův syndrom (mutace COL IV) vede k mírné proteinurii
      - delece heparansulfátu u myších modelů nevede k žádné proteinurii
  - **podocin** (familiar steroid-resistant nephrotic syndrome, NPHS2)
    - časně postnatální proteinurie
  - další syndromy se signifikantní proteinurií (CD2AP, NEPH1, FAT, TRPC6, ...)
- (2) experimentálně lze navodit nefrotický syndrom polyklonálními protilátkami proti štěrbinové membráně nebo monoklonálními protilátkami proti nephrinu, podocinu, ...
- (3) klinický význam
  - glomerulopatie jsou dominantní příčinou proteinurie
    - dosavadní klasifikace glomerulopatií založena na histopatologickém obraze (= nespecifický)
  - budoucí molekulárně-biologická klasifikace nosol. jednotek
    - diagnostika, prognóza, léčba (steroidy ano/ne), benefit transplantace (příbuzenská/dárce), ...





# Podocyty - foot-process effacement



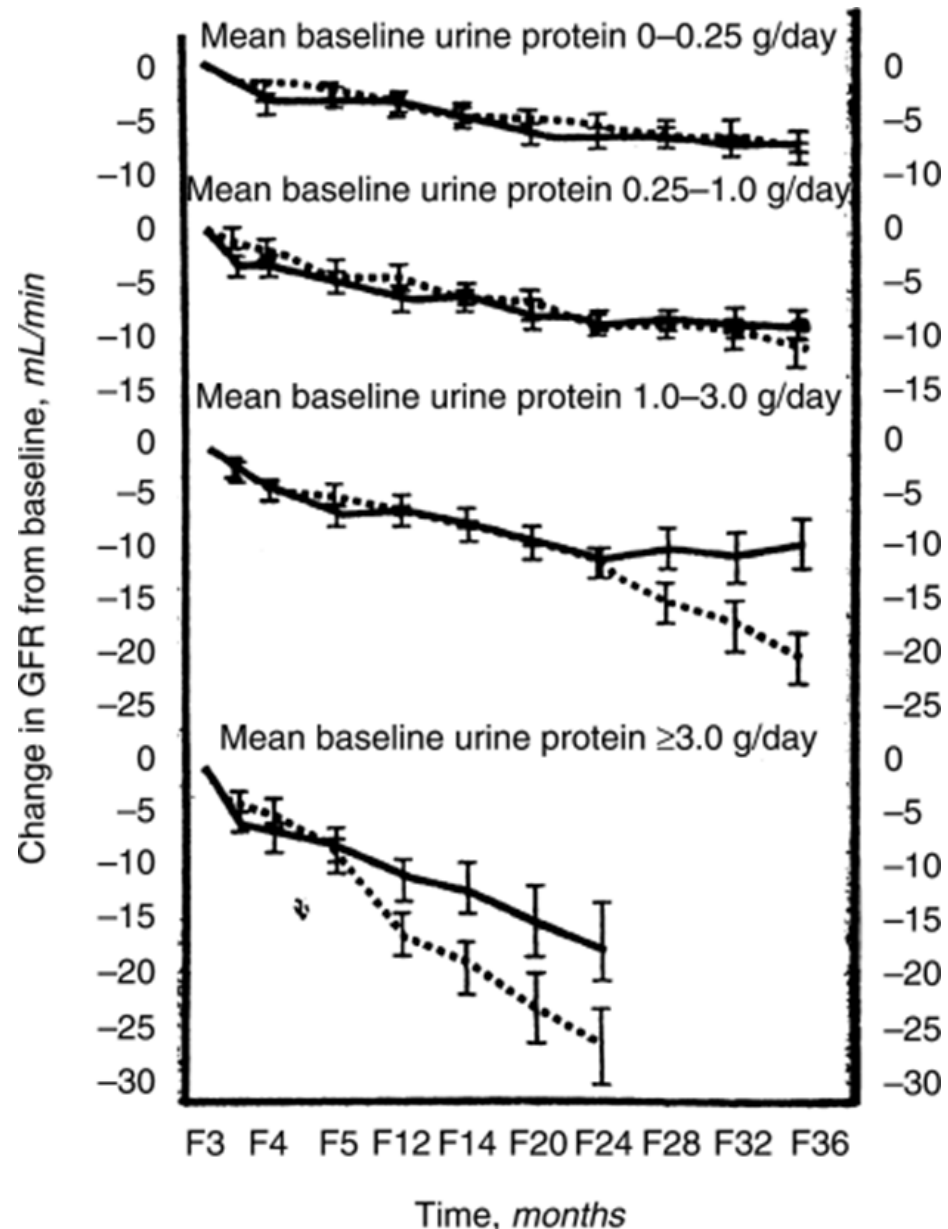
- = “vyhlazení” podocytů - univerzální známka poškození podocytů
- koreluje s velikostí proteinurie (“slepice či vejce”?)
- variabilní etiologie poškození podocytů
  - ROS (→ DNA poškození, apoptóza, peroxidace lipidů)
  - AT II (→ apoptóza, hypertrofie, ↑ TGF- $\beta$ , ↓ nefrin)
  - MMPs (→ ↓ GBM, ↓ nefrin-Neph komplex)
  - mechanický stress (→ apoptóza, hypertrofie)
  - růstové faktory (→ ↑ MMPs, GBM, ...)
  - hyperglykemie (→ ↓ neg. nabité apikální proteiny)
- **zánik podocytů ⇒ proteinurie ⇒ glomeruloskleróza**
  - synechie mezi obnaženou GBM a parietálním epitelem Bowmannova pouzdra → sklerotizace (FSGS)
  - **podocyty neregenerují**

# Důsledky glomerulopatie resp. proteinurie

- extrarenální
  - hemodynamika
    - ↓ onkotický tlak (edémy)
  - složení ECT
  - dyslipidemie
  - ztráty ost. látek vázaných na proteiny,
    - hypovitaminózy
  - nutrice
- intrarenální
  - albumin je v malé koncentraci nezbytný survival faktor pro tubulární bb.
  - přítomnost většího množství proteinů v tubulech vede k zánětu a intersticiální sklerotizaci
    - **perpetuace renálního poškození!!!**

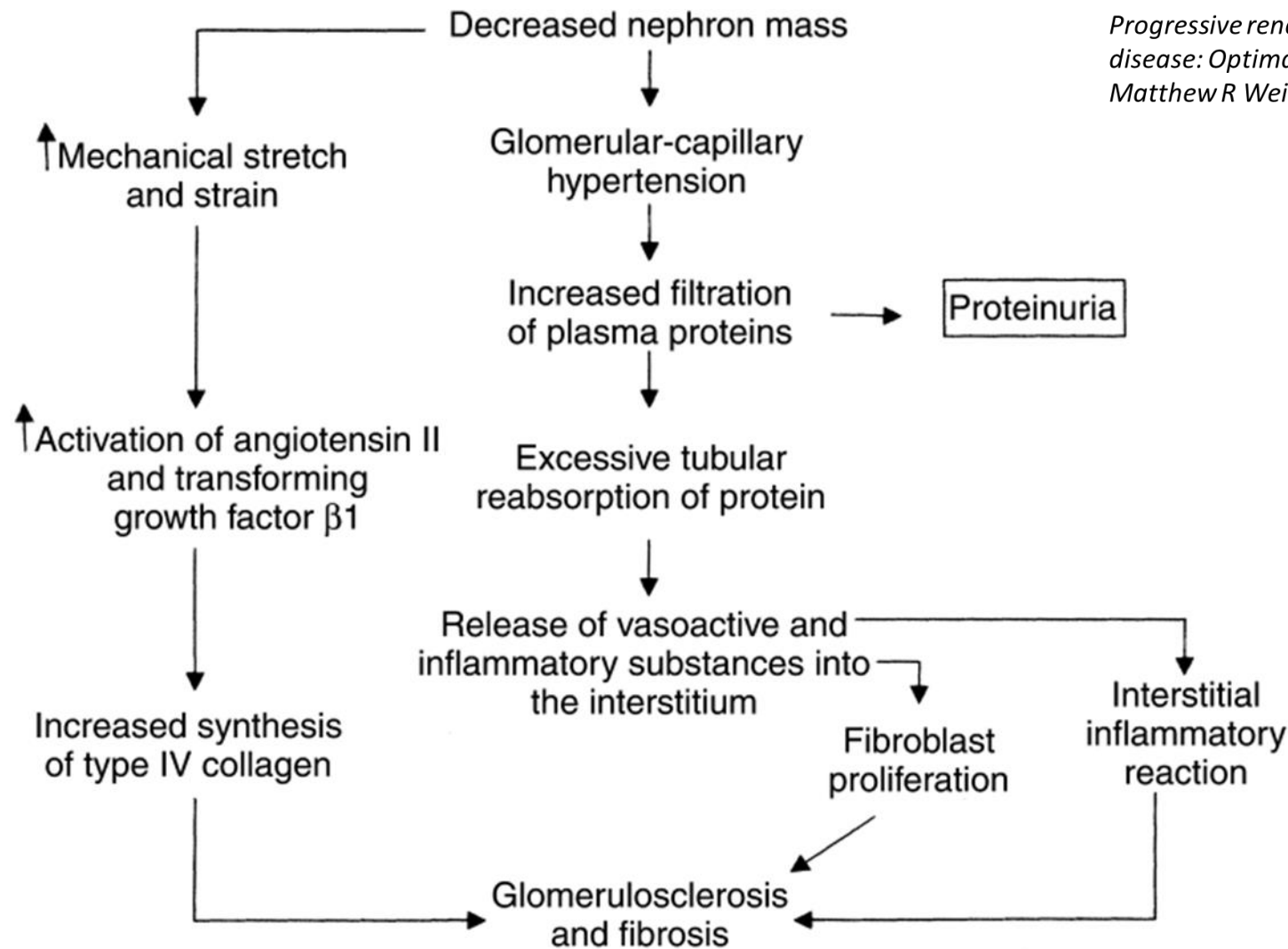


# Mean decline in GFR depends on proteinuria

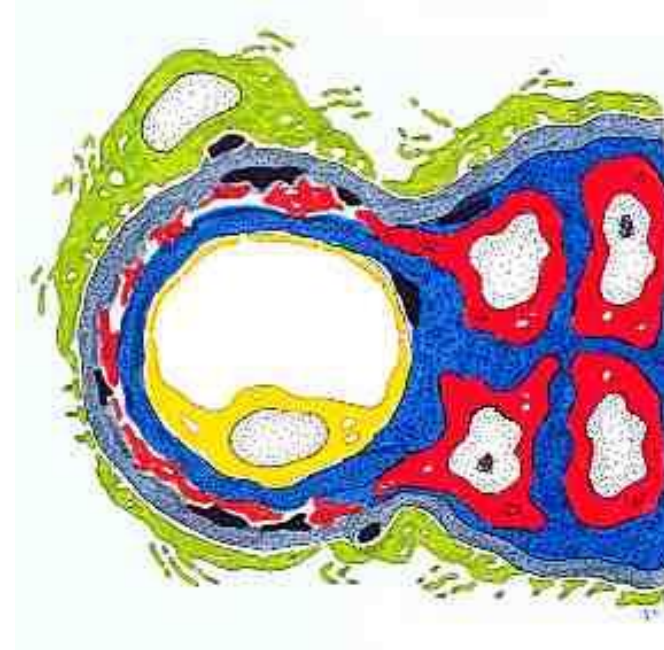


- mean decline in GFR (mL/min) over a 36-month period in groups with four different mean baseline 24-hour urine protein levels in non-diabetic patients with chronic renal failure in the MDRD study
  - compared in each of these four groups are the
    - normal blood pressure group (dashed line; 140/90 mm Hg; 102-107 mm Hg MAP)
    - intensive control group (solid line; 125/75 mm Hg; 92 mm Hg MAP)

# Proteinuria results in the development of glomerulosclerosis and fibrosis

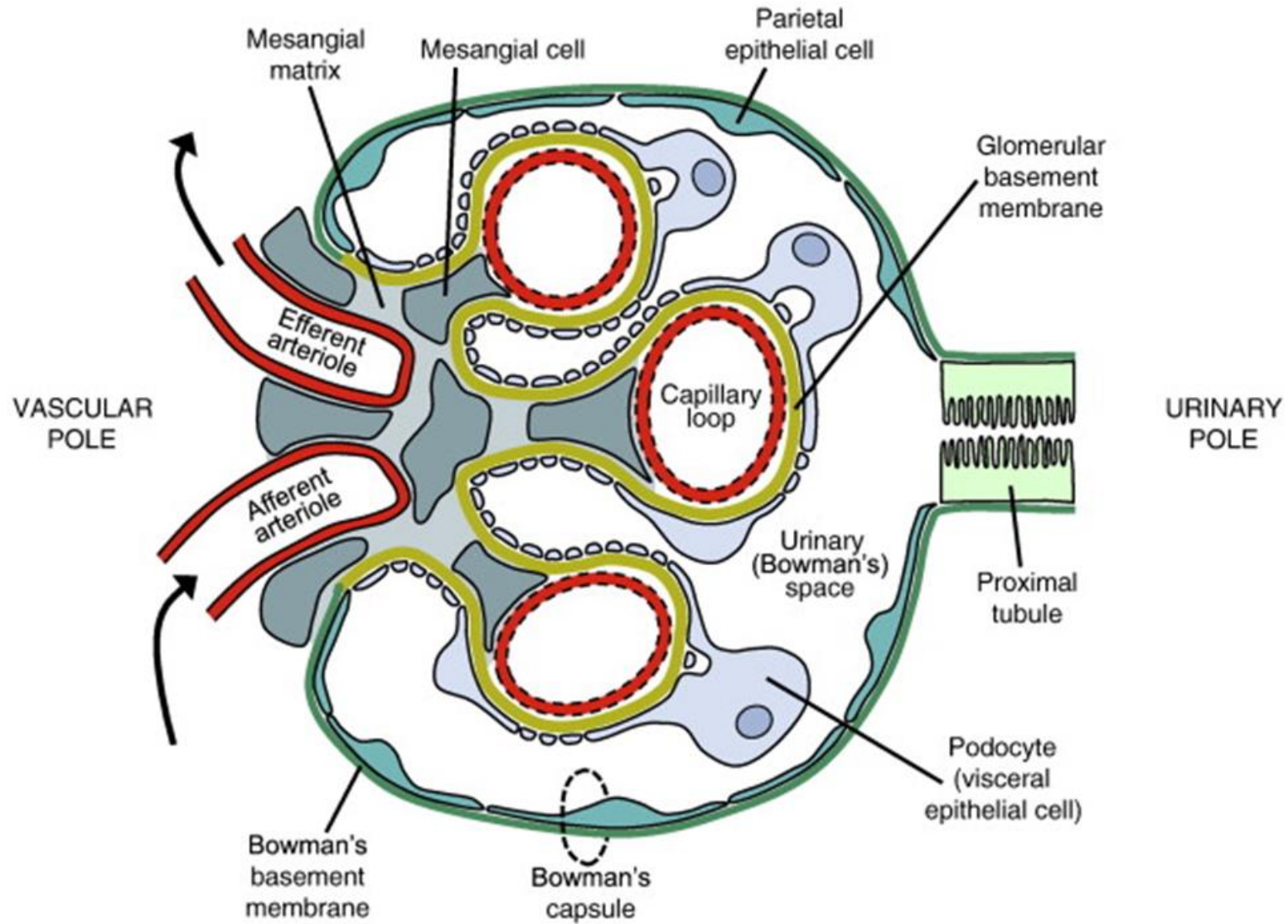


*Progressive renal and cardiovascular disease: Optimal treatment strategies*  
Matthew R Weir

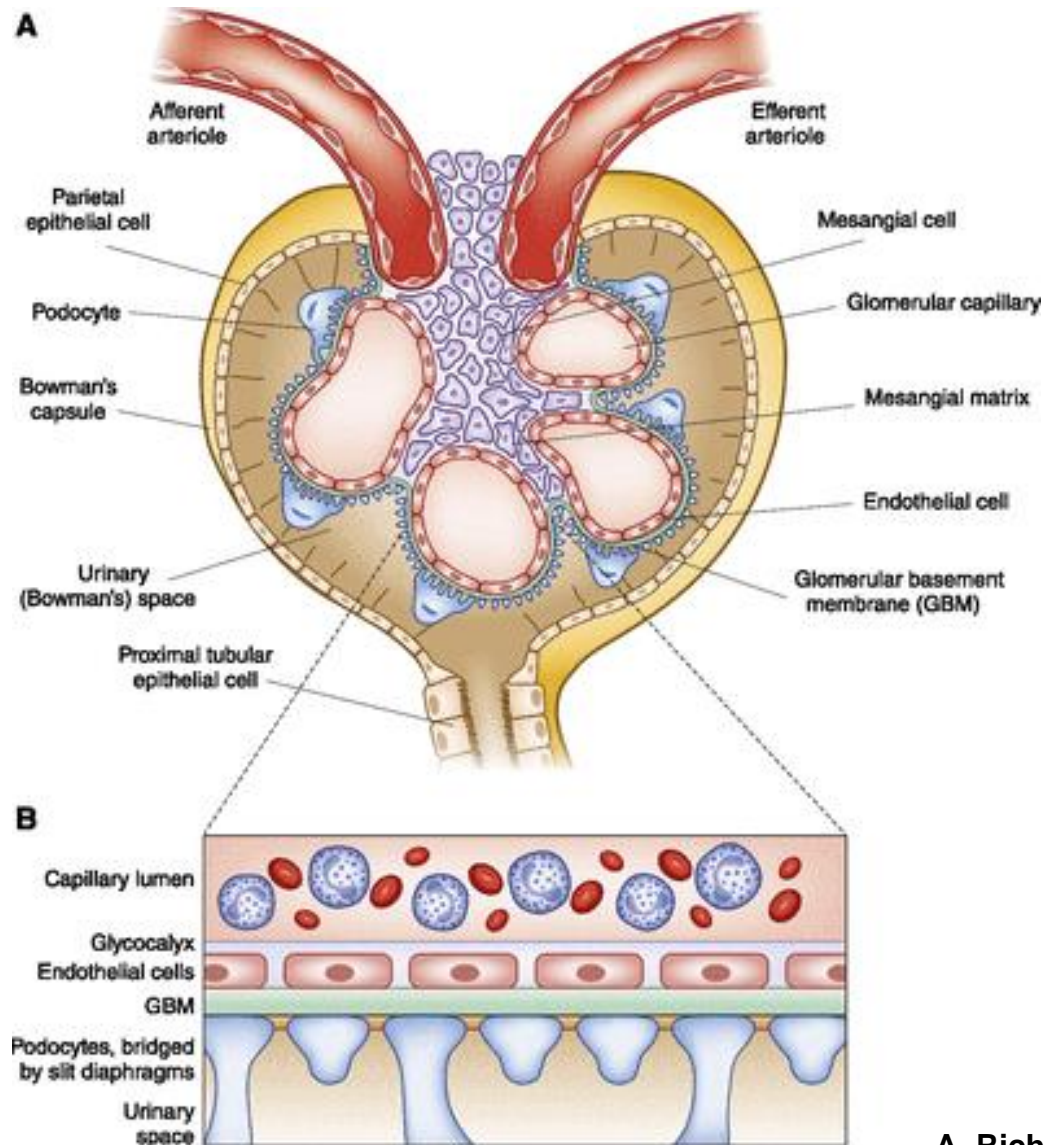


# GLOMERULOPATIE

# Glomerulus - buňky

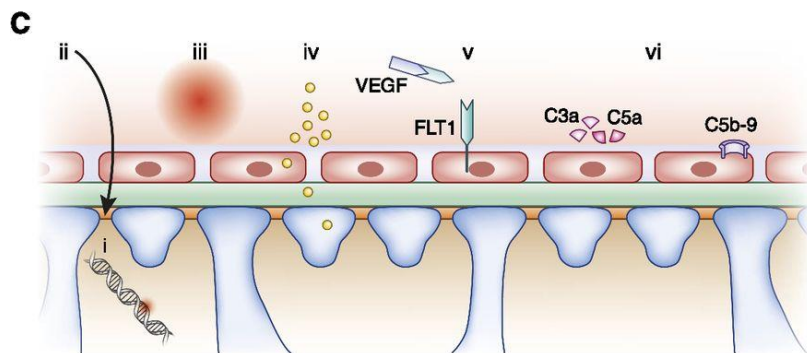
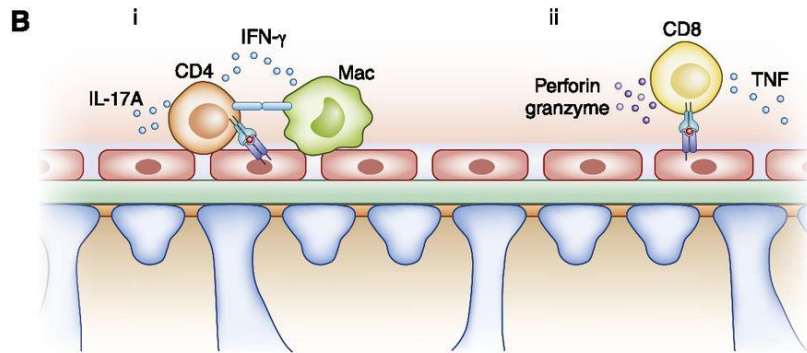
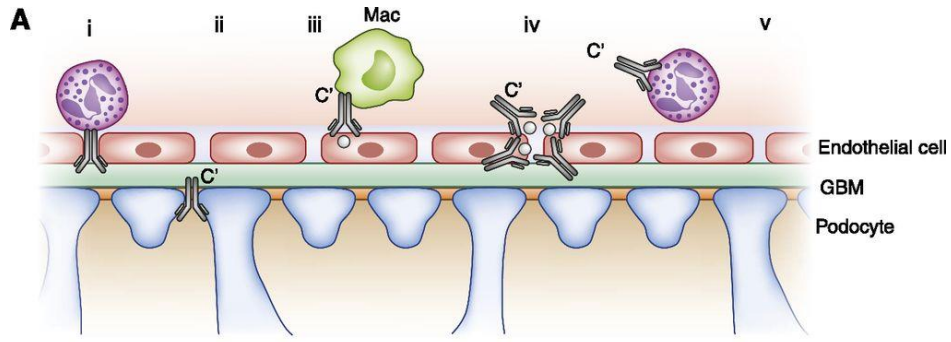


# The players: cells Involved in glomerular disease



- Basic structure of the glomerulus and the glomerular filtration barrier. (A) Each glomerulus is composed of an afferent arteriole, which supplies the glomerular capillaries, and an efferent arteriole, into which they drain. Mesangial cells and mesangial matrix provide structural support for the glomerular capillaries, lined by specialized fenestrated endothelium, and then the glomerular basement membrane. On the urinary side of the glomerular basement membrane are podocytes, with foot processes that wrap around the glomerular capillaries. The urinary space is lined by a cup-like layer of parietal epithelial cells which adhere to the basement membrane of Bowman's capsule. (B) The glomerular filtration barrier is a specialized molecular sieve, with properties that aid filtration of small solutes from the blood to the urine, while limiting the passage of macromolecules such as albumin.

# Simplified representation of mechanisms of glomerular injury



- (A) Antibody-mediated glomerular injury. From left to right, (i) neutrophils (shown) and macrophages induce injury after anti- $\alpha 3(\text{IV})\text{NC1}$  autoantibodies bind to the GBM in anti-GBM GN; (ii) in membranous glomerulopathy autoantibodies against PLA2R1 (and other antigens) on podocytes are deposited subepithelially, with the involvement of complement; (iii) antibodies can bind to antigens lodged in the glomerulus (grey dots) with recruitment of macrophages (shown) and neutrophils, and the activation of complement; (iv) circulating immune complexes can be deposited in glomeruli, activate complement, and recruit leukocytes; (v) ANCA, (with complement) activates neutrophils and enables their recruitment to the glomerulus. Not shown, but important, is IgA deposition in mesangial areas.
- (B) Cell-mediated immune mechanisms. (i) Effector CD4+ cells (often Th1 or Th17 type) recognize antigens that can be intrinsic to or planted in the glomeruli. This occurs via their T cell receptor recognizing MHC class II peptide complexes (several cell types could possibly be involved in this process). Activated T cells produce cytokines (IL-17A and IFN- $\gamma$  as examples) that have direct effects on intrinsic kidney cells and activate, together with costimulatory molecules (e.g., CD154/CD40), innate leukocytes such as macrophages. Not shown are interactions between intrinsic renal cells and T cells that include costimulation and cytokines. (ii) CD8+ cells can recognize antigenic peptides with MHC class I on intrinsic cells and secrete cytokines or induce cell death.
- (C) Metabolic, vascular, and other mechanisms of injury. Podocyte and foot process injury and dysfunction occurs due to (i) genetic abnormalities of slit diaphragm proteins and (ii) in minimal change disease and FSGS due to circulating permeability factors. Metabolic factors such as (iii) systemic and intraglomerular hypertension and (iv) hyperglycemia and its consequences are common, and affect both the cells and the structural components of the glomerulus. Both glomerular endothelial cell and podocyte injury are important consequences of preeclampsia, involved a number of mediators including soluble fms-like tyrosine kinase-1. C3 glomerulopathy, as well as some types of atypical hemolytic uremic syndrome (vi), can be induced by autoantibodies to, or genetic abnormalities in, complement regulatory proteins, resulting in complement activation.  $\alpha 3(\text{IV})\text{NC1}$ , the non-collagenous domain of the  $\alpha 3$  chain of type IV collagen;
- Abbreviations: FLT1, fms-like tyrosine kinase-1; GBM, glomerular basement membrane; Mac, macrophage; M-type PLA2R1, phospholipase A2 receptor 1; Th, T helper; VEGF, vascular endothelial growth factor.



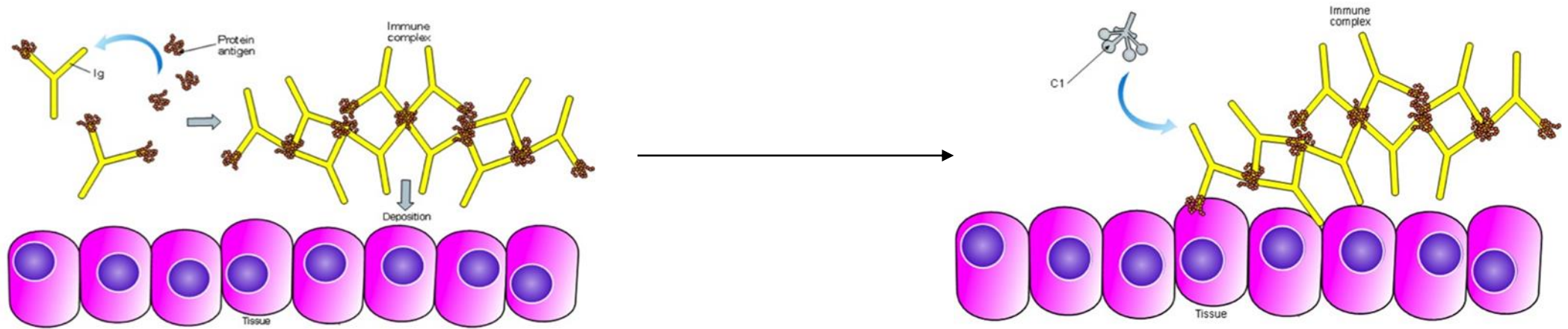
# Klasifikace onemocnění glomerulů

- skutečná příčina většiny onemocnění glomerulů není známa a proto neexistuje etiologická klasifikace, snad jen **klinicky** na
  - primární (postihují jen ledviny)
  - sekundární (projev systémového onemocnění)
    - autoimunitního (SLE, IgA nefropatie, m. Henoch-Schonlein, Goodpasturov syndrom aj.)
    - cévního (vaskulitidy)
    - metabolického (diabetes, amyloidóza)
    - nádorového (mnohočetný myelom)
    - genetického
- ale i to je sporné (imunopatologický proces zodpovědný za vznik většiny glomerulonefritid je často systémový)
- podle **průběhu** na
  - akutní
  - chronické

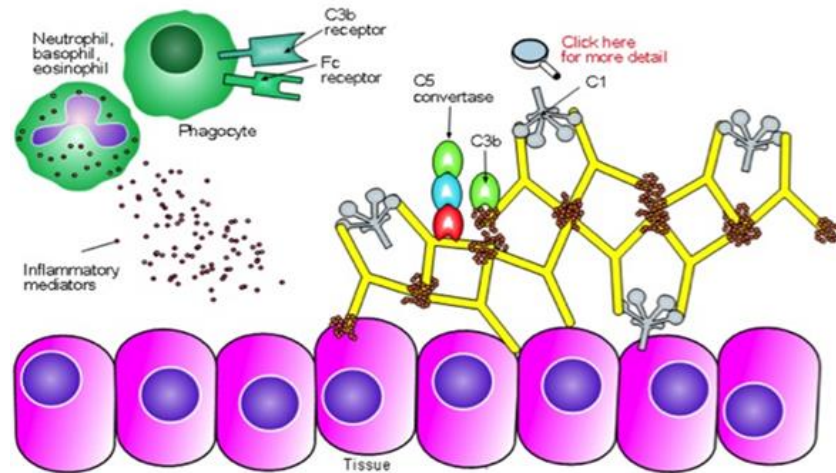


- do té doby se budou nemoci třídit podle klinicko-laboratorně-histologických charakteristik
  - **biopsie** ledvin je zásadní (→ mikroskopie světelná, imunoglorescenční, elektronová)
- pro **histologické** zařazení jednotlivých glomerulopatií je důležitý počet postižených glomerulů a to, která část glomerulu je patologicky změněna
  - fokální (postiženy jsou jenom některé glomeruly)
  - difusní (postiženo je více jak 80% glomerulů).
  - segmentální (jen některá struktura)
  - globální (všechny typy buněk)
- a také stupeň **buněčnosti**
  - neproliferativní
  - proliferativní

# Obecná patogeneze glomerulonefritid

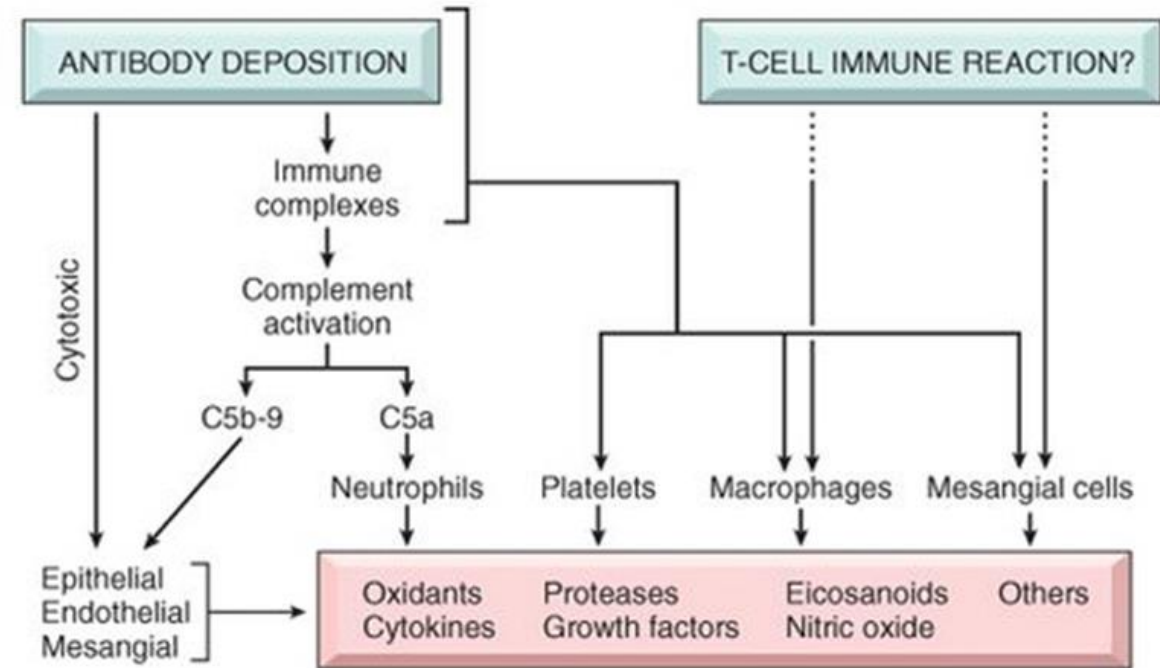


- tvorba imunokomplexů
  - v cirkulaci nebo in situ
- aktivace komplementu
  - tvorba opsoninů
  - chemotaxe
  - lýza buněk glomerulu
- infiltrace neutrofilů a makrofágů
  - proteázy – degradace buněk a ECM
- hojení
  - růstové faktory – proliferace buněk
  - vazivo (mesangium) – fibrotizace a sklerotizace



# Obecná patogeneze glomerulonefritid

- glomerulus má pouze omezené spektrum reakcí na poškození
  - zánět
    - proliferace bb. glomerulu
    - infiltrace dalším bb.
    - proteolytická destrukce filtrační membrány
      - **proteinurie**
  - depozice ECM
    - fibrotizace
    - zjizvení
    - sklerotizace
      - **pokles GFR**
  - histologický obraz se odvíjí od toho, která součást glomerulu je přednostně poškozena
    - proliferační – např. mesangium
    - membranózní – ztlustělá GBM
    - sklerotizující – kapiláry a synechie



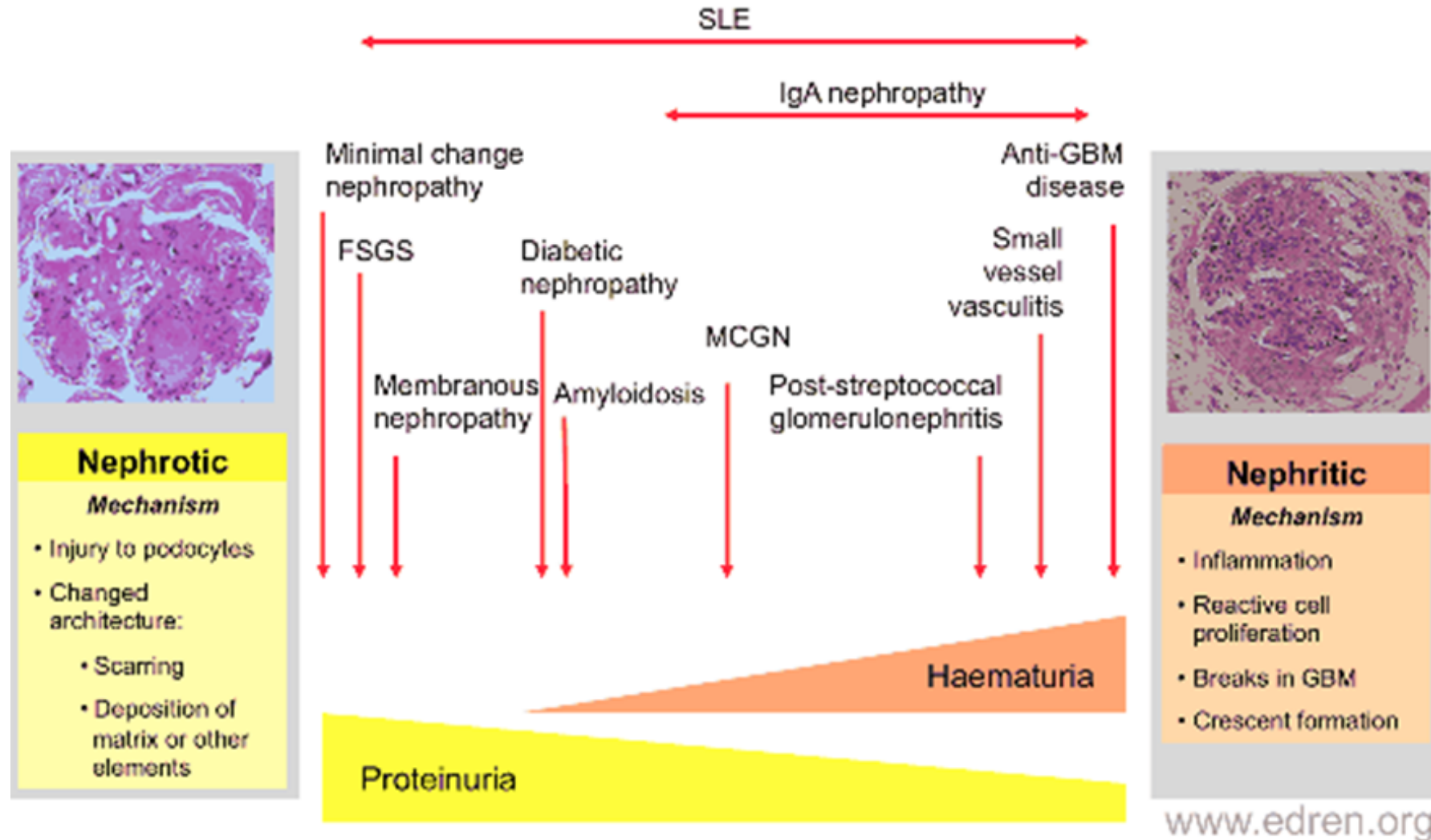
# Klinický obraz glomerulonefritid

- nefritický syndrom
  - značné narušení filtračních schopností ledvin (zejm. endotel a GBM) = **oligurie**
    - obvykle větší účast komplementu
  - narušení regulační funkce ledvin vede k **hypertenzi**
  - propouštění červených krvinek = glomerulární **hematurie**
    - diff. dg. postrenální!
    - makroskopická (viditelné pouhým okem)
    - mikroskopická (laboratorně zjištěná)
  - v moči **menší proteinurie**, která nedosahuje velikosti ztrát bílkovin u nefrotického syndromu
    - jen tolik bílkovin, kolik je v příměsi krevě
- nefrotický syndrom
  - narušení filtračních schopností ledvin (zejm. podocyty)
    - obvykle větší účast imunitních mechanismů
    - proto není tolik zvýšen tlak
  - dominuje **velká proteinurie**
    - obvykle ztráty bílkovin do moči >3g/den
  - v důsledku hypoalbuminémie / hypoproteinémie se snižuje onkotický tlak a vznikají
    - edémy
  - ztráty bílkovin kompenzují játra zvýšením proteosyntézy, což vede k
    - **dyslipidemie** (↑ cholesterol a TAG)
    - hyperkoagulačnímu stavu

# Klasifikace onemocnění glomerulů



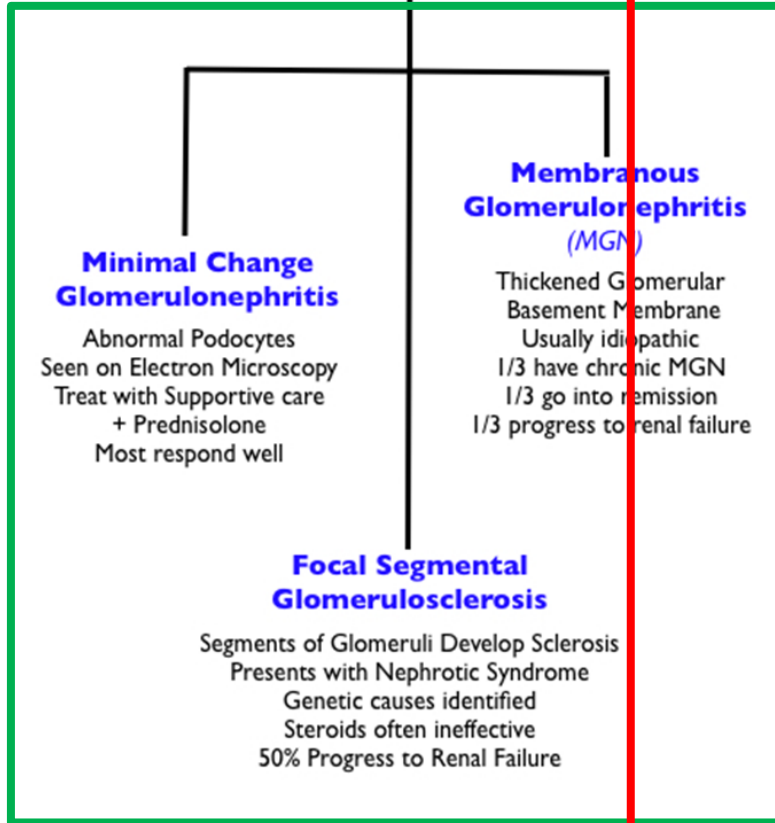
# The spectrum of glomerular diseases



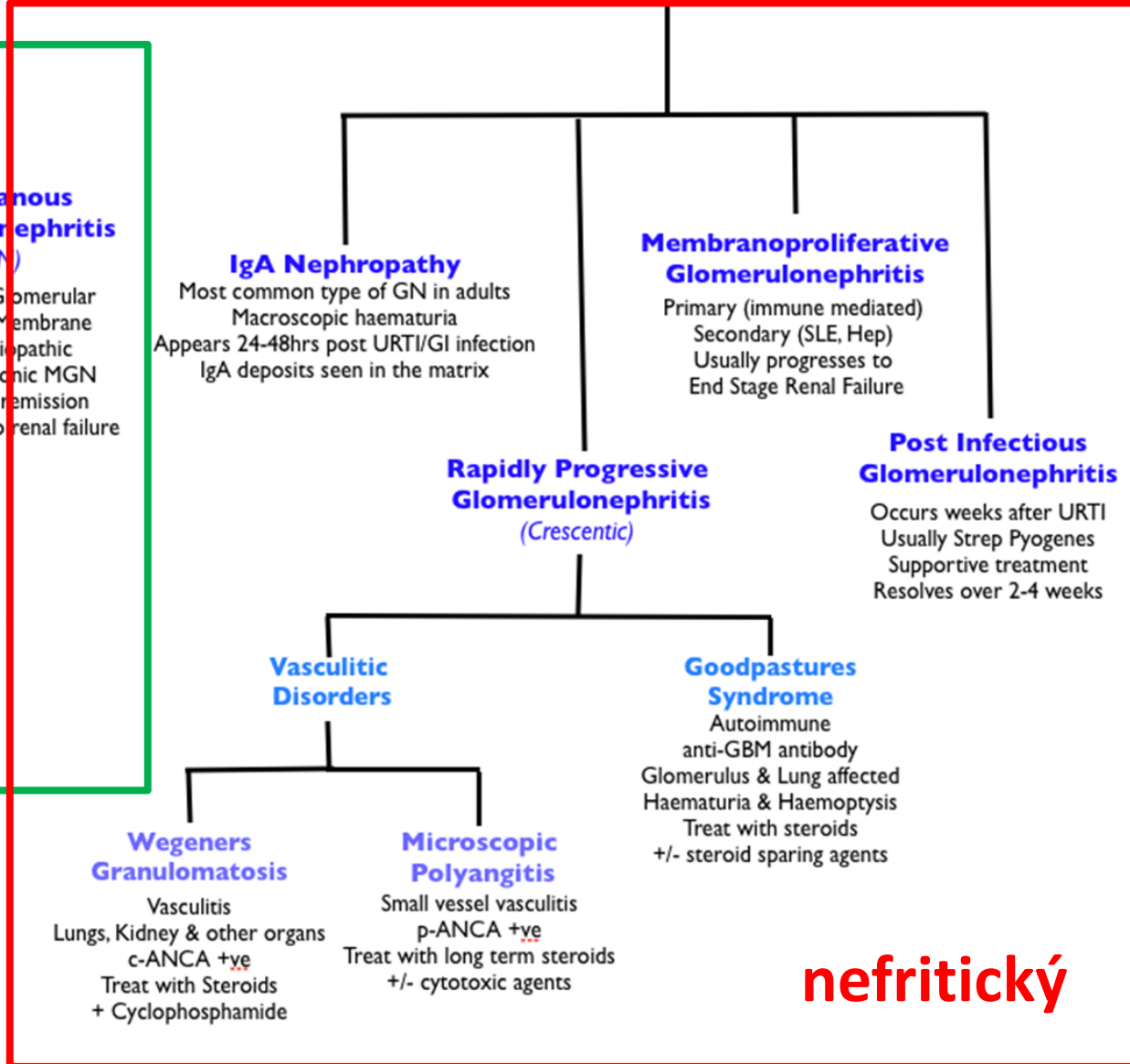
# Glomerulonephritis

## Non-Proliferative

## Proliferative



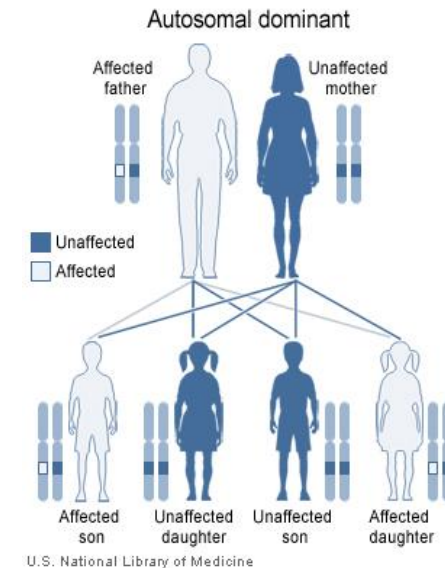
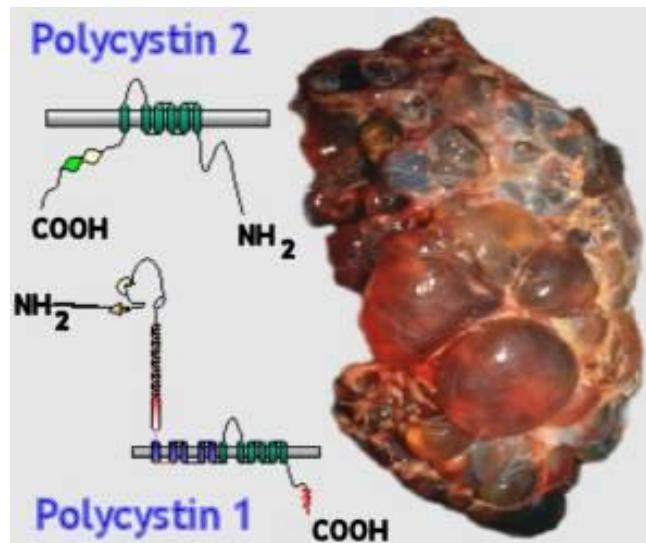
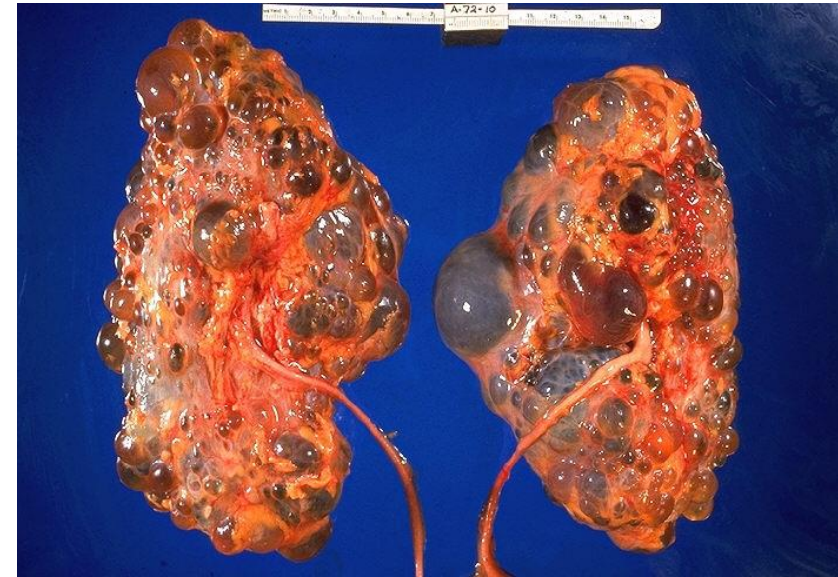
nefrotický



nefritický

# Vrozené choroby ledvin

- polycystická choroba ledvin (PKD)
  - autosomálně dominantní (ADPKD)
    - mutace v genu PKD1 (ch. 16) v 85%, v 15% případů PKD2
    - progresivně se rozvíjející mnohočetné cysty oboustranně v ledvinách
    - hypertenze
    - renální insuficience
    - ~50% případů ESRD
  - recesivní forma vzácná, závažnější







“The kidney shape was a cool idea.  
Reminds us what you sold to pay for it.”