

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
Katedra biochemických věd

**Vztah mezi stavem kompenzace a renálními funkcemi u pacientů
s diabetes mellitus II. typu**

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Specialista konzultant: MUDr. Pavel Pick

Mgr. Bc. Helena Vondráčková

Hradec Králové 2021

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato práce je mým autorským díle. Veškerá literatura a další zdroje z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji paní profesorce Ing. Barboře Szotákové, Ph.D. a MUDr. Pavlu Pickovi za odborné vedení, přínosné připomínky a pomoc při zpracování diplomové práce.

ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biochemických věd

Kandidát: Mgr. Bc. Helena Vondráčková

Školitelka: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Specialista konzultant: MUDr. Pavel Pick

Vztah mezi stavem kompenzace a renálními funkcemi u pacientů s diabetes mellitus II. typu

Diabetes mellitus je chronické onemocnění doprovázené řadou komplikací. Mezi nejčastější a současně nejzávažnější patří onemocnění ledvin, které ve svém důsledku často vede až k jejich selhání. Tito pacienti jsou pak odkázáni na doživotní dialyzační léčbu nebo případnou transplantaci ledviny. Účinnou kompenzací diabetes mellitus lze rozvoj komplikací snížit nebo alespoň oddálit. K posouzení stavu kompenzace slouží hladina glukózy v krvi měřená nalačno a po jídle a hladina glykovaného hemoglobinu. Funkce ledvin posuzujeme dle vyšetření albuminu a proteinů v moči, koncentrace kreatininu v séru a odhad glomerulární filtrace.

Cílem práce bylo zjistit, zda existuje vztah mezi úrovní kompenzace diabetes mellitus a funkcí ledvin. Byla vyhodnocena data od 70 pacientů s diagnózou diabetes mellitus II. typu pravidelně kontrolovaných v diabetologické poradně. Vzorke byly zpracovány na analyzátoch – G7 a BS 480 od firmy Medesa s.r.o. K vyhodnocení dat byla použita regresní analýza. Vztah mezi úrovní kompenzace diabetes mellitus a renálními funkcemi se nepodařilo ve výběrovém souboru pomocí zvolených parametrů prokázat. Byla ale prokázána statisticky významná závislost mezi renálními funkcemi a věkem pacienta a mezi glomerulární filtrací získanou výpočtovými metodami a koncentrací kreatininu v séru.

ABSTRACT

Charles University

Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biochemical Sciences

Candidate: Mgr. Bc. Helena Vondráčková

Supervisor: prof. Ing. Barbora Szotáková, Ph.D.

Specialist consultant: MUDr. Pavel Pick

Title of diploma thesis: Relationship between compensatory status and renal function in patients with diabetes mellitus type II

Diabetes mellitus is a chronic disease accompanied by a number of complications. Among the most common and at the same time the most serious are kidney diseases, which often lead to their failure. These patients then rely on lifelong dialysis treatment or a possible kidney transplant. By compensating for diabetes mellitus effectively, the development of complications can be reduced or at least delayed. Fasting and postprandial blood glucose level and glycated hemoglobin are used to assess the state of compensation. The renal function is assessed by the examination of albumin and proteins in urine, serum creatinine concentration and estimation of glomerular filtration.

The aim of the thesis was to determine whether there is a relation between the level of compensation for diabetes mellitus and the renal function. The data from 70 patients diagnosed with diabetes mellitus type II regularly checked in a diabetological clinic were evaluated. Samples were processed on analyzers - G7 and BS 480 from Medesa s.r.o. Regression analysis was used to evaluate the data. The relation between the level of compensation for diabetes mellitus and the renal function could not be proved in the sample using the selected parameters. However, a statistically significant relation between the renal function and the patient's age and between glomerular filtration obtained by computational methods and serum creatinine concentration was proved.

Obsah:

1 Úvod	8
2 Cíl práce	9
3 Teoretická část	10
3.1 Ledviny	10
3.1.1 Anatomie ledvin.....	10
3.1.1.1 Nefron.....	11
3.1.2 Fyziologie ledvin.....	13
3.1.2.1 Funkce nefronu	14
3.1.3 Cévní zásobení ledvin.....	15
3.2 Diabetes mellitus	16
3.2.1 Typy diabetes mellitus.....	16
3.2.1.1 Diabetes mellitus I. typu.....	16
3.2.1.2 Diabetes mellitus II. typu.....	17
3.2.1.3 Ostatní specifické typy diabetes mellitus.....	19
3.2.1.4 Gestační diabetes mellitus.....	19
3.2.2 Komplikace diabetes mellitus.....	20
3.2.3 Laboratorní parametry vyšetřované u diabetes mellitus.....	21
3.2.4 Laboratorní parametry kompenzace diabetes mellitus.....	22
3.2.4.1 Stanovení glukózy.....	23
3.2.4.2 Stanovení glykovaného hemoglobinu.....	23
3.3 Choroby ledvin u pacientů s diabetes mellitus II. typu	25
3.3.1 Diabetická nefropatie.....	26
3.3.1.1 Klinická charakteristika.....	27
3.3.1.2 Stádia diabetické nefropatie.....	27
3.3.2 Onemocnění ledvin nediabetické etiologie.....	29
3.3.3 Chronické onemocnění ledvin.....	29
3.3.3.1 Parametry poškození ledvin.....	30
3.3.3.2 Klasifikace chronického onemocnění ledvin.....	30
3.4 Laboratorní diagnostika onemocnění ledvin u diabetes mellitus	32
3.4.1 Stanovení albuminu v moči.....	32
3.4.2 Stanovení bílkovin v moči.....	33

3.4.3 Typy proteinurie.....	34
3.5 Vyšetření glomerulární filtrace.....	35
3.5.1 Metody měření glomerulární filtrace se sběrem moče.....	36
3.5.1.1 Renální clearance endogenního kreatininu.....	36
3.5.1.2 Clearance inulinu.....	37
3.5.2 Metody měření glomerulární filtrace bez sběru moče.....	37
3.5.2.1 Posouzení glomerulární filtrace na základě kreatininu v séru.....	37
3.5.3 Výpočtové metody odhadu glomerulární filtrace z kreatininu v séru...38	
3.5.3.1 Odhad clearance kreatininu dle Cockcrofta a Gaulta.....	38
3.5.3.2 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice Lund-Malmö.....	39
3.5.3.3 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice MDRD.....	39
3.5.3.4 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice CKD-EPI.....	40
3.5.4 Výpočtové metody odhadu glomerulární filtrace z cystatinu C v séru..41	
4 Praktická část.....	43
4.1 Popis metodiky práce.....	43
4.2 Matematické a statistické zpracování.....	43
4.3 Popis použitých analytických metod.....	44
4.3.1 Stanovení glukózy v krevním séru.....	44
4.3.2 Stanovení kreatininu.....	45
4.3.3 Stanovení glykovaného hemoglobinu.....	46
4.3.4 Vzorce použité k odhadu glomerulární filtrace	47
4.4 Popis použitých výpočtových metod.....	47
5 Výsledky.....	48
6 Diskuse.....	60
7 Závěr.....	63
Seznam zkratk.....	64
Seznam použité literatury a internetových zdrojů.....	65

1 Úvod

V současné době lidstvo trpí chorobami, které vznikají v důsledku nezdravého životního stylu, nedostatku pohybu a nadměrného příjmu kalorické stravy. K jejich rozvoji přispívá i nadužívání alkoholu, kouření cigaret a stres. Známe je pod pojmem civilizační choroby. Rozvíjejí se pozvolna, zůstávají dlouho nerozpoznány a ve svých důsledcích poškozují nejen srdce a cévy, ale i ledviny a další orgány. K civilizačním chorobám, které mají negativní vliv na funkci ledvin patří bezesporu diabetes mellitus.

Diabetes mellitus typu II. je chronické metabolické onemocnění, jehož prevalence se odhaduje v ČR na 8 až 9 % z celkové populace. Podle údajů Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR ve zprávě za rok 2016 jde o necelých 900 000 pacientů. Ročně přibývá okolo padesáti tisíc nových případů. Dle odhadů zůstává v populaci část pacientů s diabetem nediodagnostikována, předpokládá se, že více než 2 % obyvatel. Současně se stoupajícím počtem pacientů diabetiků stoupá i počet komplikací typických pro cukrovku.

U diabetické populace se setkáváme s poškozením ledvin, které přímo souvisí s cukrovkou, ale i dalšími chorobami (chronické zánětlivé nebo ischemické změny ledvin), pro které je sice diabetes rizikovým faktorem, ale které se běžně vyskytují i u nediabetických nemocných. Onemocněním ledvin v současné době v ČR trpí okolo 20 % diabetiků (Račická 2016, Karen a Svačina 2018). Vzhledem k faktu, že probíhají poměrně často alespoň zpočátku asymptomaticky, skutečný počet nemocných bude s největší pravděpodobností vyšší. Onemocnění ledvin je nejen zdravotním ale i ekonomickým problémem. K tomuto přispívá i skutečnost, že jsou diagnostikovány pozdě, což zhoršuje jejich průběh a snižuje šance pacienta na kvalitní život.

2 Cíl práce

Cílem teoretické části diplomové práce je podat ucelený přehled o anatomii a fyziologii ledvin a diabetu mellitu II. typu. Zaměřit se na choroby ledvin, které vznikají v souvislosti s diábetem. Představit základní laboratorní parametry užívané k diagnostice chorob ledvin. Cílem praktické části je shromáždit data od pacientů diabetiků II. typu na jejichž základě bude možné predikovat vztah mezi kompenzací choroby a stavem funkčnosti ledvin. V závěru práce pak data statisticky zpracovat a výsledky srovnat s výsledky již publikovanými.

Hypotézy:

H1: Funkce ledvin klesá v závislosti na stupni dekompenzace diabetes mellitus

H2: Funkce ledvin klesá v závislosti na věku pacienta

H3: Glomerulární filtrace klesá v závislosti na zvyšující se koncentraci kreatininu v séru

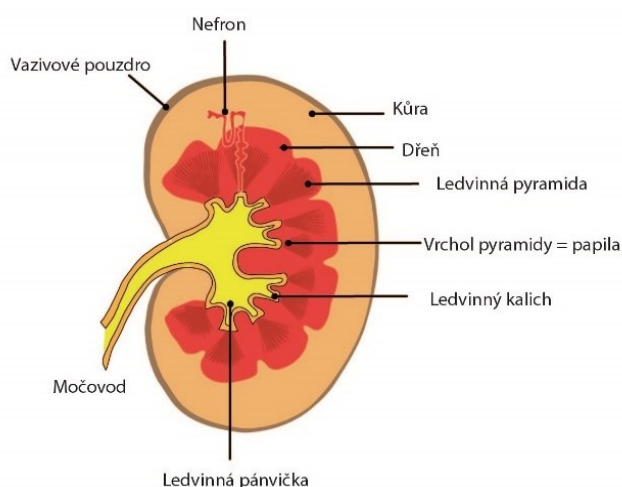
3 Teoretická část

3.1 Ledviny

3.1.1 Anatomie ledvin

Ledviny (ren, nefros) jsou párový orgán fazolovitého tvaru s typickým předozadním oploštěním uložené po obou stranách bederní páteře v tzv. retroperitoneálním prostoru. Velikost v průměru 12 cm na délku, 6 cm na šířku, 3 cm na výšku. Hmotnost okolo 150 g, u žen nižší než u mužů. Mechanickou a tepelnou ochranu ledvin zajišťuje tukový polštář, kterým jsou obaleny. Renálními tepnami se napojují na břišní aortu a renálními žilami na dolní dutou žílu. Cévy do ledvin vstupují a vystupují na mediální konkávní ploše nazývané hilus. V tomto místě ledviny opouštějí močovody. Na průřezu lze makroskopicky rozlišit tmavší, jemně zrnitou kůru a světlejší žíhanou dřev (Konrádová a kol. 2005).

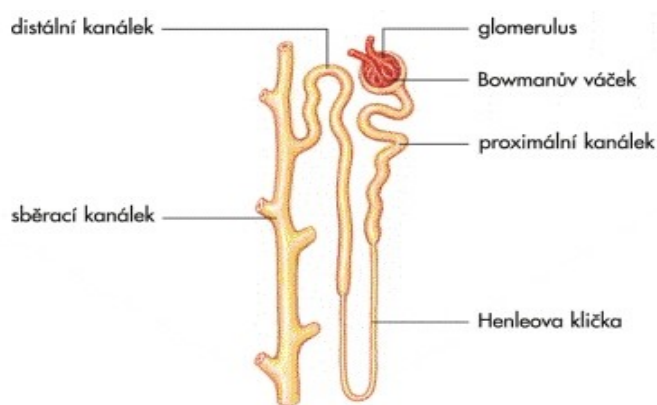
Kůra je na povrchu kryta pevným vazivovým pouzdrmem (capsula fibrosa), které zabraňuje výraznějším objemovým změnám a podílí se na stabilizaci renálního intersticiálního tlaku. Dřev je tvořena 10 až 18 ledvinovými pyramidami. Báze pyramid jsou obráceny k povrchu ledviny a tvoří hranici mezi kůrou a dřev. Vrcholky pyramid směřující k hilu ledviny, se nazývají ledvinné papily. Kůra ledviny proniká mezi pyramidami. Funkční parenchym tvoří vmezeřené vazivo – intersticiem, v němž jsou uloženy krevní a lymfatické cévy a nefrony (Konrádová a kol. 2005, Janíková 2017).



Obr. 1. Průřez ledvinou

3.1.1.1 Nefron

Základní stavební a funkční jednotkou ledvin je nefron, který se skládá z glomerulu a ledvinových kanálků (tubulů): proximálního tubulu (PT), Henleovy kličky (HK), distálního tubulu (DT) a sběracího kanálku (SK). Celkový počet nefronů v jedné ledvině se odhaduje asi na 1 milion. Dle uložení rozeznáváme nefrony korové (85 %) a juxtaglomerulární (15 %). Korové nefrony mají glomeruly uložené v kůře ledvin těsně pod povrchem a krátké HK. Juxtaglomerulární nefrony mají glomeruly uložené na rozhraní kůry a dřeně, HK zasahují hluboko, někdy až na vrcholky dřeňových pyramid. Tyto nefrony hrají důležitou roli ve schopnosti ledvin koncentrovat moč (Tesař a Viklický 2015, Trojan 2003).



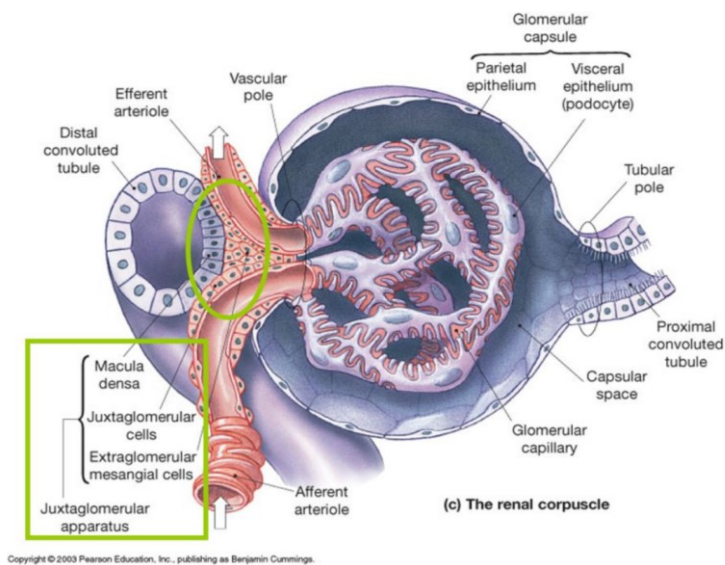
Obr. 2. Stavba nefronu

Glomerulus

Glomerulum je klubíčko krevních vlásečnic vmáčknutých do slepě začínajícího Bowmanova pouzdra. Glomerulum a Bowmanův váček společně tvoří ledvinové neboli Malpighiho tělísko a jsou počátečním oddílem nefronu. Vlastní glomerulus tvoří silnější přívodná tepénka (vas afferens), která přechází v preferenční kanál a dále pokračuje užší odvodnou tepénkou (vas efferens). Z preferenčního kanálu odstupuje 20 až 25 kapilárních kliček, kterými přednostně protéká krev s vyšším podílem plazmy. Preferenčním kanálem glomerulu naopak krev s vyšším podílem erytrocytů (Trojan 2003).

Bowmanovo pouzdro tvoří vnější a vnitřní list, mezi nimiž je štěrbina. Vnitřní vrstvu tvoří podocyty s množstvím pseudopodií nasedající na bazální membránu glomerulárních kapilár. Zevně ledvinové tělísko ohraničuje vnější parietální list. Mezi oběma listy je dutinka přecházející do lumen proximálního tubulu (Tesař a Viklický 2015).

Prostory mezi kapilárami glomerulů vyplňuje tzv. mezangium, tvořené mezenchymovými hvězdicovými buňkami, které vysílají výběžky mezi kapilární endotel a bazální membránu. Mesangium představuje výztuž stěny glomerulárních kapilár proti vysokému kapilárnímu tlaku. Juxtaglomerulární aparát tvoří tři skupiny buněk. Juxtaglomerulární buňky uložené ve stěně vas afferens před vstupem do glomerulu. Dále buňky uložené ve vidlici mezi vas afferens a vas efferens s názvem buňky macula densa a agranulární krajkové buňky extraglomerulárního mesangia (Trojan 2003, Rosypal 2003).



Obr. 3. Stavba a popis glomerulu

Proximální tubulus

PT se skládá ze dvou částí: části stočené (pars convoluta) a části přímé (pars recta). Vnitřní výstelku tvoří jednovrstevný dlaždicový epitel přecházející z parietálního listu Bowmanova pouzdra. Postupně však přechází v epitel jednovrstevný kubický nebo nízce cylindrický jehož buňky mají charakter buněk transportujících ionty a aktivně absorbujících. V okolí PT se nachází hustá kapilární síť. Fenestrovane kapiláry jsou větvemi vas efferens (Konrádová a kol. 2005, Trojan 2003).

Henleova klička

HK probíhá převážně dření ledviny. Tvarem připomíná písmeno U a tvoří ji sestupné a vzestupné raménko. Podle charakteru výstelky rozeznáváme úzký a široký segment HK. Úzký segment je vystlán jednovrstevným plochým epitelem, jehož buňky na

apikální straně mají ojedinělé nepravidelně uspořádané mikrokilky. Široký segment HK je vystlán jednovrstevným kubickým epitelem odpovídající se svou strukturou DT (Konrádová a kol. 2005).

Distální tubulus

DT nacházející se v kůře ledviny je tvořen stočenou částí, která je pokračováním tlusté části vzestupného raménka HK a spojovacím segmentem stavbou a funkcí podobný sběracímu kanálku. Lumen je vystlán kubickými buňkami s nepravidelně uspořádanými mikrokilky na apikální straně. V okolí nalézáme síť fenestrovaných kapilár vystupujících z vas efferens. Ve svém průběhu se DT vrací do blízkosti ledvinného tělíska. V oblasti vzájemného kontaktu těchto struktur se ve stěně vas afferens objevují modifikované svalové buňky – buňky juxtaglomerulární – produkující hormon renin (Mourek 2017, Trojan 2003).

Sběrací kanálek

SK navazuje na DT a ústí na papile ledvinové pyramidy. Kubické buňky postupně přecházejí v cylindrické. Apikální oblast vyklenující se do lumina kanálků je tvořena mikrokilky. Buňky jsou citlivé na působení antidiuretického hormonu (Konrádová a kol. 2005).

3.2.1 Fyziologie ledvin

Funkce ledvin je vylučovací, endokrinní, homeostatická a metabolická. Podílejí se na vylučování odpadních, nepotřebných, eventuálně toxických látek (např. močovina, kreatinin, kyselina močová, metabolity hormonů), které jsou eliminovány jako součást moče. Ledviny udržují stabilitu vnitřního prostředí, tedy osmotický tlak, koncentraci základních minerálních látek a vodíkových iontů (pH). Produkují hormony spojené s erytropoézou a metabolismem vápníku. Zaujímají současně významné postavení s glukoneogenezi (Stříteský 2001, Racek 2006).

3.1.2.1 Funkce nefronu

V nefronu probíhají tři základní děje: glomerulární filtrace, tubulární resorpce a tubulární sekrece. Výsledkem je vznik 1 až 1,5 litru definitivní moče.

Glomerulární filtrace

V glomerulu probíhá první a základní stupeň vylučovací funkce ledvin tzv. glomerulární filtrace (GF). Tímto procesem vzniká glomerulární filtrát, což je ultrafiltrát krevní plazmy bez bílkovin, někdy též nazývaný jako primární moč. GF je fyzikální proces, který závisí na filtračním tlaku, na propustnosti glomerulárního filtru a na ploše filtrace (počet funkčních glomerulů). Na filtračním tlaku se podílí krevní tlak v kapilárách, který směřuje ve směru filtrace a dva protitlaky (onkotický tlak plazmatických bílkovin a hydrostatický tlak Bowmanova pouzdra). Filtrační membránu, přes níž se filtruje primární moč do močového prostoru, tvoří endotelové buňky, komplex splynulých bazálních lamin a podocyty tvořící vnitřní list Bowmanova pouzdra (Mačák a kol. 2012, Mourek 2017).

Glomerulární filtr je fyziologicky nepropustný pro bílkoviny. Do ultrafiltrátu přejde asi 17 až 20 % objemu plazmy, tj. 170 – 180 l za den. Velikost GF lze měřit ideálně pomocí látky, která se zcela vyloučí do primární moče a již nepodléhá tubulární resorpci ani sekreci. Takovou látkou je polymer glukózy – inulin. Tato schopnost očištění od určité látky se nazývá clearance (Mourek 2017).

Tubulární resorpce

Resorpce je proces, při kterém dochází ke vstřebávání látek z primární moče tubulárními buňkami zpět do krve. Začíná v PT, kde dochází tzv. osmotickou resorpcí ke vstřebání 75 až 80 % glomerulárního filtrátu, a to bez ohledu na stupeň hydratace organismu. Zpětně se vstřebávají osmoticky aktivní látky (Na^+ , Cl^- , urea), podstatná část K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , kvantitativně se vstřebává glukóza a aminokyseliny. PT má hlavní podíl na udržování objemu extracelulární tekutiny v organismu.

Do sestupného raménka HK vstupuje z PT izotonická tubulární tekutina. HK má tvar vlásenky, její sestupné raménko je tenké a dobře propustné pro vodu a ionty. Vze-

stupné raménko s vyšším epitelem je pro vodu nepropustné, ale probíhá zde aktivní transport sodného kationtu a chloridového aniontu z tubulární tekutiny do intersticia, který není provázen přesunem vody. Tímto transportem dochází k hromadění osmoticky aktivních látek a vzniku hypertonického prostředí v intersticiu dřeně. Reabsorbovány jsou Na^+ , Cl^- , urea, K^+ , fosfáty a hydrogenuhličitany. Tento proces je závislý na stupni hydratace organismu a probíhá pod hormonální kontrolou aldosteronu, antidiuretického hormonu (ADH) a parathormonu. (Mourek 2017, Trojan 2003).

V DT se resorbuje asi 15 % glomerulárního filtrátu. Zbýlý objem tubulární tekutiny odtéká do SK k závěrečné úpravě za vzniku definitivní moče.

Po resorpci v DT stéká do SK okolo 10 litrů tubulární tekutiny, kterou čeká závěrečná kvantitativní i kvalitativní úprava za vzniku definitivní moče. Vstřebává se asi 85 % množství tubulární tekutiny přitékající z DT pod vlivem ADH a osmotického gradientu. ADH reguluje permeabilitu stěny SK a ovlivňuje objem vyloučené moče. Množství moče vytvořené za 24 hodin se pohybuje okolo 1,0 až 1,5 litru označovaného jako diuréza (D) (Mourek 2017, Trojan 2003).

Tubulární sekrece

Tubulární sekrece je aktivní transport látek z krve peritubulárního prostoru, skrz epiteliální membrány do lumen tubulů. Tímto způsobem jsou z těla odstraňovány některé látky ovlivňující pH, nebo například kreatinin či kyselina paraaminohippurová. Tubulární sekrece napomáhá rychlejšímu vyloučení látek, které se glomerulární filtrací nepřefiltrují úplně. Amonné ionty vylučované močí jsou produkovány buňkami PT z glutaminu a vylučovány do tubulární tekutiny (Trojan 2003).

3.1.3 Cévní zásobení ledvin

Ledvinami proteče okolo 1200 ml krve za minutu, což představuje asi 20 % klidového srdečního výdeje. Krev do ledviny přivádí renální tepna, která je hlavní větví odstupující z břišní aorty. Renální arterie se postupně větví až vniká aferentní arteriola (AA). Uvnitř Bowmanova pouzdra odstupují z AA kapilární kličky tvořící glomerulus. Kapilární kličky se spojují za vzniku eferentní arterioly (EA), které se po opuštění glomerulu rozpadají na peritubulární kapiláry obklopující kanálky ledvin. Venózní část řečiště vzniká spojením peritubulárních kapilár a opouští ledvinu v hilu (Olšovský 2018).

3.2 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM) je porucha intermediárního metabolismu, kterou Světová zdravotnická organizace definovala jako: Metabolické onemocnění mnohočetné etiologie, které je charakterizováno chronickou hyperglykemií a poruchou metabolismu cukrů, tuků a bílkovin jako následek defektu v inzulínové sekreci, inzulínovém působení nebo obojím. Jednodušší definici uvedla Americká diabetologická asociace v roce 2008 a to: Diabetes mellitus je skupina metabolických onemocnění charakterizovaných hyperglykemií vznikající v důsledku defektů sekrece, poruch účinku inzulínu v cílových tkáních nebo kombinací obojího (Karen a Svačina 2018, Rosolová 2013).

3.2.1 Typy diabetes mellitus

Současná klasifikace zahrnuje čtyři základní skupiny diabetu a dvě skupiny označované jako hraniční poruchy glukózové homeostázy, tzv. prediabetes (Rybka 2007). Typy diabetu včetně používaných zkratk jsou přehledně shrnuty v tabulce 1.

Tab. 1 Klasifikace Diabetes mellitus a poruch glukózové homeostázy

Diabetes mellitus	Obvyklá zkratka
Diabetes mellitus typ 1. A. Autoimunitně podmíněný B. Idiopatický	DM typ I.
Diabetes mellitus typ 2.	DM typ II.
Ostatní specifické typy diabetu	
Gestační diabetes mellitus	GDM
Hraniční poruchy glukózové homeostázy	
Zvýšená glykémie nalačno	IFG (Impaired Fasting Glucose)
Porušená glukózová tolerance	IGT (Impaired Glucose Tolerance)

3.2.1.1 Diabetes mellitus I. typu

DM I. typu se vyznačuje různě rychle probíhajícím zánikem β -buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu, který vede k absolutnímu nedostatku inzulínu. U DM I. typu A dochází k destrukci těchto buněk autoimunitním procesem u geneticky predisponovaných osob. V genezi onemocnění se uplatňuje i spouštěcí faktor prostředí. Onemocnění se projeví až po zániku asi 90 % β -buněk. Typická je hyperglykémie

doprovázená klasickými příznaky diabetu, ke kterým patří polyurie, polydipsie a vystupňovaná únava. Při zanedbání stavu může vyústit v hyperglykemické ketoacidotické kóma. Léčba spočívá v substituci inzulínu optimálně v režimu napodobujícím jeho fyziologickou sekreci. U většiny těchto pacientů lze alespoň v počátku choroby detekovat autoprotilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (anti GAD) a/nebo autoprotilátky proti tyrozinofosfatáze (anti IA2). Diabetes mellitus I. subtyp B byl popsán v africké a asijské populaci s dosud neznámou etiologií (Rybka 2007, Haluzík 2009).

DM I. typu se manifestuje nejčastěji v mladším věku, nezřídka u dětí. Výjimku tvoří tzv. LADA (z anglického Latent autoimmune diabetes of adults), který je řazen k DM I. typu. Tento pomalu rozvíjející se diabetes se objevuje ve vyšším věku, obvykle 35 let a více. Typický je mírný klinický obraz s částečně zachovalou sekrecí inzulínu a dobrou odpovědí na léčbu perorálními antidiabetiky. Proto někteří tito pacienti mohou být chybně považováni za diabetiky II. typu. Postupně však dochází ke zhoršování autoimunitního procesu až k absolutnímu nedostatku inzulínu, obvykle během 1 až 3 let od projevu choroby (Rybka 2007).

3.2.1.2 Diabetes mellitus II. typu

DM II. typu je nejčastější metabolickou poruchou způsobenou inzulínovou rezistencí (IR) a současně deficitem inzulínu. IR znamená poruchu účinku inzulínu k tzv. inzulín-dependentních tkáních (např. svalová tkáň). Pelikánová (2015) definuje IR jako stav, při němž normální hladiny inzulínu v plazmě vyvolávají nižší biologickou odpověď organismu. Míra IR je do jisté míry determinována geneticky, ale může se prohlubovat v souvislosti s nevhodnými stravovacími návyky a nedostatečnou pohybovou aktivitou. Dle Olšovského (2018) absence přiměřené pohybové aktivity prohlubuje IR významněji než obezita. Při přítomnosti IR se diabetes II. typu rozvíjí na základě relativně nedostačující sekrece inzulínu. Nejdříve dochází k poruše stimulované sekrece inzulínu, proto jsou zpočátku hyperglykémie pouze postprandiálně (po jídle). Dlouhodobá hyperglykémie negativně působí na β -buňky Langerhansových ostrůvků a po určité době trvání choroby se dostavuje i pokles bazální sekrece inzulínu, tedy zvýšená glykémie nalačno. V případě, že prvotní odchylkou od normy je hyperglykémie nalačno, nesouvisí to se syntézou inzulínu, ale příčinou je zvýšená tvorba glukózy játry. IR indukuje současně nadprodukcí volných mastných kyselin, ke glukózové toxicitě se přidružuje i

lipotoxicita. Pokud je laboratorně diagnostikována lačná hyperglykémie dříve než postprandiální, příčinou je s největší pravděpodobností zvýšená glukoneogeneze v játrech. Byly zaznamenány případy, kdy jako prvotní byla porucha sekrece inzulínu, nikoli IR (Olšovský 2018, Rybka 2007). Aby došlo k projevu choroby, je nezbytná přítomnost obou poruch, ale kvantitativní podíl může být rozdílný.

Na inzulinodeficienci i inzulinorezistenci se podílejí vlivy genetické (vnitřní) i zevní. Nejdůležitější vnější faktory jsou nadměrný příjem kalorické stravy společně s nevhodným složením stravy, nedostatečnou fyzickou aktivitou a obezitou a kouřením. Na základě poznatků z doby nedávné vyplývá, že na IR participuje též porucha v oblasti inkretinové funkce. DM II. typu je obvykle součástí tzv. metabolického syndromu, který se vyznačuje přítomností dalších abnormalit typu dyslipidémie, arteriální hypertenze, centrálního typu obezity, endoteliální dysfunkce a vyšší pohotovosti k tvorbě trombů. Kombinace těchto poruch velmi významně zvyšuje kardiovaskulární riziko diabetiků. (Silbernagl 2012, Haluzík 2009).

DM II. typu se manifestuje spíše ve středním nebo starším věku, nejčastěji po 40. roce věku. Typický klinický obraz rozvinuté choroby zahrnuje polydipsii (nadměrná žízeň) způsobenou osmotickou diurézou, polyurií (nadměrné močení, diuréza vyšší než 2,5 l za 24 hodin) spolu s nykturií (časté močení v noci) a vystupňovanou únavu. Nechutenství či hmotnostní úbytek nemusejí být přítomny. Na počátku však mohou příznaky chybět a choroba se projeví pouze laboratorně hyperglykemií. Olšovský upozorňuje na skutečnost, že pacient může být asymptomatický při hodnotách glykémie výrazně převyšujících 10,0 mmol/l (Olšovský 2018). V některých, dnes již spíše ojedinělých případech se diabetes může manifestovat až projevy diabetických komplikací, které jsou důsledkem dlouhodobé neléčené hyperglykémie. Mezi indicie upozorňující na možnou přítomnost diabetu patří opakované infekce (hnisavé kožní infekty, mykotické vulvovaginitidy), poruchy menstruačního cyklu, erektilní dysfunkce, přítomnost pruritu, poruchy zrakové ostrosti, noční bolesti dolních končetin při periferní neuropatii, poruchy vyprazdňování žaludku, průjemy, zácpa (Karen a Svačina 2018, Rybka 2007).

K DM II. typu je přiřazen zvláštní typ dědičného diabetu známého pod zkratkou MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), pro který jsou typické následující znaky: časná manifestace (okolo 20. roku věku), vysoká rodinná zátěž a malé riziko diabetických

komplikací. MODY je nescifickou monogenní formou diabetu, u níž na základě genetického pozadí dochází k defektům funkce beta buněk pankreatu (Rybka 2007).

3.2.1.3 Ostatní specifické typy diabetes mellitus

Mezi ostatní specifické typy diabetu patří dle Rybky (2007): geneticky podmíněný defekt funkce beta buněk Langerhansových ostrůvků, genetické defekty účinku inzulínu, onemocnění exokrinního pankreatu, endokrinopatie, chemicky a léky indukovaný diabetes, infekce, neobvyklé formy imunologicky podmíněného diabetu, genetické syndromy asociované s diabetem (Tesař a Viklický 2015).

3.2.1.4 Gestační diabetes mellitus

Gestační DM (GDM) je porucha metabolismu glukózy různého stupně, která se objeví v těhotenství a spontánně odezní v průběhu šestinedělí. Zvýšený výskyt je pozorován především u geneticky predisponovaných žen, které mají DM II. typu v rodinné anamnéze. Dále trvající hyperglykémie je rizikem pro matku i dítě. U dítěte se může rozvinout fetální hyperinzulinismus s následnou makrozomií plodu. Porodní váha často přesahuje 4 kg, orgány jsou však nedostatečně vyvinuté. U většiny matek dochází krátce po porodu k normalizaci hladin glukózy v krvi, ale přetrvává zvýšené riziko pozdější manifestace DM II. typu (Friedecký a kol. 2019, Rybka 2007).

3.2.2 Komplikace diabetes mellitus

Komplikace diabetu můžeme obecně rozdělit na akutní a chronické. Mezi akutní komplikace patří především stavy spojené s výraznou náhle vzniklou hypoglykemií nebo hyperglykemií. Hyperglykémie může vyústit až v ketoacidotické hyperglykemické kóma (vyskytuje se převážně u diabetiků I. typu), případně hyperosmolární hyperglykemické kóma nebo laktacidotické kóma (obojí u diabetiků II. typu). Chronické komplikace diabetu postihují pacienty s diabetem I. i II. typu. Jejich výskyt obvykle koreluje jednak s celkovou délkou trvání diabetu (s delším trváním diabetu počet komplikací vzrůstá), jednak se stupněm kompenzace (při neuspokojivé kompenzaci se komplikace rozvíjejí rychleji).

Podle typu postižení můžeme diabetické komplikace dělit na tzv. komplikace mikroangiopatické (mikrovaskulární), vznikající při postižení mikrovaskulatury a komplikace makroangiopatické (makrovaskulární), které jsou důsledkem postižení větších cév. V praxi se oba typy komplikací obvykle do značné míry kombinují (Karen a Svačina 2018).

Chronické makrovaskulární komplikace zahrnují ischemickou chorobu srdeční, cévní mozkovou příhodu a ischemickou chorobu dolních končetin. Jde o aterosklerotické projevy na velkých cévách diabetiků. Ischemické změny na dolních končetinách se zpočátku projevují poruchou trofiky (atrofie kožních adnex, ztrátou ochlupení, suchou kůží), při další progresi pacient udává bolesti při chůzi (klaudikační bolest). Při současném výskytu diabetické neuropatie mohou být bolesti oslabené nebo zcela chybět. Ischemická choroba dolních končetin zvyšuje riziko rozvoje syndromu diabetické nohy.

Mezi chronické mikrovaskulární komplikace je řazeno diabetické onemocnění ledvin (diabetická nefropatie), diabetická neuropatie a diabetická retinopatie. Vyskytují se většinou v pozdějších fázích DM a jsou víceméně obrazem dlouhodobé nedostatečné kompenzace této choroby (Karen a Svačina 2018).

Diabetická neuropatie (DN) je definována jako nezánettivé postižení nervového systému způsobené metabolickými vlivy a mikroangiopatií. Prevalence se zvyšuje s délkou trvání diabetu a mírou jeho kompenzace. Typicky se rozvíjí až po několika letech trvání diabetu. Symptomy somatické periferní formy jsou parestázie a bolesti akrálních

částí dolních končetin postupující proximálně nebo naopak ztráta schopnosti vnímat dotyk, bolest, teplo či chlad. Autonomní (viscerální) neuropatie postihuje vnitřní orgány a často vede k jejich dysfunkci, např. ortostatické hypotenzi, poruchám střevní motility či gastroparéze.

Diabetická retinopatie (DR) postihuje cévy v sítnici pacientů s diabetem. Na základě změn na sítnici jsou rozlišována následující stádia a formy DR: neproliferativní a proliferativní forma DR a diabetická makulopatie. Neproliferativní DR dále dle klinického stádia na počínající, středně pokročilou a pokročilou formu. Proliferativní DR na počínající a vysoce rizikovou. Diabetická makulopatie vzniká následkem zhroucení hematoikulární bariéry a vyžaduje urgentní léčbu (Karen a Svačina 2018, Sosna 2009).

U diabetické populace lze pozorovat statisticky významně vyšší výskyt infekčních chorob, a to v závislosti na míře kompenzace diabetu. Z respiračních infekcí je vyšší incidence pneumokokových infekcí způsobujících bronchopneumonie nebo recidivující pneumokokové infekce horních cest dýchacích. Z dalších infekčních komplikací je třeba zmínit infekce ledvin a vývodných cest močových, záněty parodontu, peritonitidy a rektální abscesy (Karen a Svačina 2018)

3.2.3 Laboratorní parametry vyšetřované u diabetes mellitus II. typu

Do laboratorního vyšetření pacienta s DM II. typu je zahrnuto vyšetření krve (glykémie nalačno a postprandiálně, glykovaný hemoglobin, lipidogram, iontogram, vyšetření urey, kreatininu, ledvinných funkcí, kyseliny močové, jaterních testů) a moče (chemické semikvantitativní vyšetření a vyšetření močového sedimentu, individuálně vyšetření bakteriologické). K ověření typu diabetu lze vyšetřit hladinu C-peptidu z krve. Při nejistotě lze zvolit vyšetření protilátek (anti-GAD, anti-IA2). Doporučený algoritmus laboratorních vyšetření je zpracován v tabulce 2 (Zima 2002, Olšovský 2018).

Tab. 2 Přehled analytů standardně vyšetřovaných u DM II. typu

Analyt	Frekvence	Charakteristika
Glykémie	při každém vyšetření	nalačno i postprandiálně
HbA _{1c}	1 krát ročně	u diabetiků léčených pouze dietou
	2 krát ročně	u diabetiků léčených perorálními antidiabetiky
	4 krát ročně	u diabetiků léčených inzulinem
Albuminurie	1 krát ročně	při nálezu mikroalbuminurie 3 krát opakovat
Proteinurie	1 krát ročně	
Cholesterol, HDL, LDL, TAG	1 krát ročně	při dyslipidémii či hyperlipoproteinémií podle terapie a závažnosti až 4 krát ročně
Ionty, urea, kreatinin, kyselina močová, celková bílkovina	1 krát ročně	při patologických hodnotách opakovat
Chemické vyšetření moče, vyšetření močového sedimentu	1 krát ročně	při patologických hodnotách opakovat

HDL – high density lipoprotein, LDL – Low density lipoprotein, TAG - Triacylglyceridy

Diabetik je kontrolován zpravidla jedenkrát za 3 měsíce. Frekvence kontrol i výše uvedený základní algoritmus laboratorního vyšetření se mění v případě neuspokojivé kompenzace nebo výskytu akutních či chronických komplikací (Zima 2002, Olšovský 2018)

3.2.4 Laboratorní parametry kompenzace diabetes mellitus

Kritéria kompenzace diabetu byla vypracována Českou diabetologickou společností (ČDS) na základě doporučení Americké diabetologické společnosti (ADA). Monitorování glykemického stavu je postaveno zvláště na stanovení glykémie nalačno, glykémie postprandiální (po jídle) a glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}). Doplňkovými vyšetřeními jsou vyšetření glukózy a ketolátek v moči. V širším pojetí je doporučeno posuzovat stav kompenzace komplexně na základě dalších vyšetření, např. lipidogramu (cholesterol, HDL, LDL, TAG), koncentraci kyseliny močové v krvi, albumin a proteiny v moči. Cílem léčby je dosáhnout optimální kompenzace choroby a oddálit tak vznik zejména pozdních komplikací diabetu (Kvapil 2009).

3.2.4.1 Stanovení glukózy

Glukóza je základní monosacharid a nejdůležitější zdroj energie pro buňky. Organismus glukózu přijímá jak součást potravy a částečně vytváří endogenně (Štern 2005). Koncentrace glukózy v krvi (glykémie) je fyziologicky udržována v úzkém rozmezí a to 3,9 – 5,6 mmol/l nalačno a méně než 10,0 mmol/l po jídle. Její hladina je regulována hormonálně, především inzulinem (snižuje glykémii) a jeho antagonisty (glukagon, katecholaminy, glukokortikoidy, růstový hormon), které glykémii naopak zvyšují. Důležitou roli v homeostáze glukózy hrají i játra. Hladina glykémie je značně proměnlivá. Zobrazuje aktuální stav a je ovlivněna např. současně probíhající infekcí či jiným akutním stavem.

U diabetiků se provádí kvantitativní stanovení glukózy v krvi po osmihodinovém lačnění s vyloučením větší fyzické aktivity a kouření cigaret den před odběrem, současně je doporučeno stanovit i glykémii po jídle (postprandiálně). Kritéria hodnocení kompenzace diabetu dle koncentrací glykémie je zpracováno v tabulce 3.

Tab. 3 Kritéria kompenzace diabetu II. typu (dle ČDS, 2007)

	Kompenzace diabetu		
	Výborná	Uspokojivá	Neuspokojivá
Glykémie nalačno (mmol/l)	4,0 – 6,0	6,0 – 7,0	>7,0
Glykémie po jídle (mmol/l)	5,0 – 7,5	7,5 – 9,0	>9,0
Glykémie stanovená v kapilární krvi po alespoň osmihodinovém lačnění			
Glykémie stanovená v kapilární krvi za 60 až 120 minut po jídle			

3.2.4.2 Stanovení glykovaného hemoglobinu

Hemoglobin (Hb) je u dospělého člověka tvořen asi z 97 % hemoglobinem A (HbA), z 2,5 % hemoglobinem A₂ a 0,5 % tvoří hemoglobin fetální (HbF). HbA podléhá v krvi glykaci, při které vznikají tři deriváty označované HbA_{1a}, HbA_{1b} a HbA_{1c}, které jsou souhrnně nazývány hemoglobin A₁ (HbA₁). Vlastním stabilním ketoaminem je frakce HbA_{1c}, která tvoří přibližně 80 % HbA₁. Glykovaný hemoglobin (HbA_{1c}) vzniká neenzymovou reakcí glukózo-6-fosfátu nebo glukózy s NH₂ skupinou terminálního valinu β-řetězce hemoglobinu (Beránek 2013, Průša 2012).

Množství HbA_{1c} je závislé na koncentraci glukózy v krvi a na životnosti erytrocytů (Průša 2012). V organismu se však při chronickém zvýšení koncentrace glukózy neglykuje pouze hemoglobin, ale i jiné bílkoviny. Tento pochod se dává do souvislosti s poškozením některých orgánů a tkání jako projev komplikace diabetu (glykace proteinů bazální membrány glomerulů, glykace kolagenu stěny cév nebo kloubů, glykace proteinů oční čočky).

Stanovení HbA_{1c} je považováno za rutinní a efektivní ukazatel úspěšnosti kompenzace diabetu. Vypovídá o průměrné glykémii za posledních 6 až 8 týdnů. Jeho fyziologické hodnoty podle IFCC se pohybují v rozmezí 2,5 – 4,5 %. Za výbornou kompenzací diabetu je považováno rozmezí do 4,5 %, do 6 % pak za kompenzací uspokojivou. Vysoké hodnoty signalizují opakované časté hyperglykémie, nízké naopak hypoglykémie. Podíl postprandiální glykémie na hodnotě HbA_{1c} se zvyšuje při jeho nižších hodnotách, zatímco glykémie nalačno se více podílí na hodnotě HbA_{1c} při jeho vyšších hodnotách. Zrádná může být i relativně uspokojivá hodnota HbA_{1c} k posouzení míry kompenzace diabetu u labilního (rozkolísaného) diabetu, kdy jsou hodnoty HbA_{1c} relativně uspokojivé. Proto je namístě brát na zřetel všechny metabolické parametry. HbA_{1c} je také ovlivněn hemoglobinopatiemi a uremií (u pacientů v renální insuficienci je pravidelně HbA_{1c} vyšší). Glykovaný hemoglobin je více ovlivněn i zhoršenou kompenzací v posledních třech týdnech před vyšetřením než hyperglykemií dřívější. Podle doporučení ČDS má být HbA_{1c} u diabetiků I. typu vyšetřeno minimálně 4 krát ročně, nevyžadují-li zdravotní stav a léčebná opatření jinak. U pacientů s DM II. typu léčených inzulinem 1 krát za 3 měsíce, u pacientů léčených perorálními antidiabetiky 1 krát za 3 až 6 měsíců, u ostatních pacientů s DM II. typu 1 x ročně (Rybka 2007, Zima 2002). Kritéria kompenzace diabetes mellitus II. uvádí tabulka 4.

Tab. 4 Kritéria kompenzace diabetu II. typu dle hladiny HbA_{1c}

	Kompenzace diabetu		
	Výborná	Uspokojivá	Neuspokojivá
Glykovaný hemoglobin [mmol/mol Hb]	< 4,5	4,5 – 6,0	> 6,0
Dle IFCC (%)	< 4,5	4,5 – 6,0	> 6,0

IFCC – Světová federace klinické chemie a laboratorní medicíny

Výše uvedená kritéria (jak hladinu glukózy, tak i hladinu HbA_{1c}) není možné u všech nemocných striktně dodržovat. Cíle léčby jdou vždy stanoveny individuálně u těch nemocných, kde těsná kontrola není z různých důvodů nutná. U některých starších pacientů nebo u nemocných s prognosticky závažnými chorobami se lze spokojit s méně přísnými cílovými hodnotami.

3.3 Choroby ledvin u pacientů s diabetes mellitus II. typu

U diabetické populace je postižení ledvin častým a velmi různorodým přidruženým onemocněním. V současné době nejsou názory na klasifikaci nefropatií vyskytujících se u diabetiků jednotné. V minulosti se příliš nepátralo po skutečné etiologii a jakékoli choroby ledvin u diabetiků byly označovány jako diabetická nefropatie. Pro onemocnění ledvin u diabetiků je v současné době doporučeno používat obecnější klinický termín, a to diabetické onemocnění ledvin (Diabetic Kidney Disease, DKD). Termín diabetická nefropatie se doporučuje používat výhradně u diabetické glomerulosklerózy (Račická 2016, Tesař a Viklický 2015).

Nefropatie vyskytující se u diabetického pacienta lze rozdělit do tří základních skupin. Do první skupiny patří nefropatie vzniklé v přímé souvislosti s diabetem, tedy klasická diabetická glomeruloskleróza. Do druhé skupiny jsou řazeny nediabetické nefropatie, které lze dále rozdělit na glomerulární a neglomerulární. Třetí skupina je tvořena chorobami ledvin iatrogenního původu. Klasifikace onemocnění ledvin u DM je zpracována v tabulce 5.

Tab. 5 Základní klasifikace postižení ledvin u diabetes mellitus

Diabetická nefropatie	Klasická Kimmelstiel – Wilsonova glomeruloskleróza jako projev diabetické mikroangiopatie
Nediabetická nefropatie	<p>Glomerulární:</p> <ul style="list-style-type: none"> - primární glomerulonefritidy - sekundární glomerulopatie <p>Neglomerulární onemocnění ledvin:</p> <ul style="list-style-type: none"> - renovaskulární onemocnění ledvin - ischemická choroba ledvin (aterosklerotické postižení periferního řečiště a cholesterolová embolizace) - stenóza renální arterie

	<ul style="list-style-type: none"> - nefroangioskleróza jako projev renálního poškození při hypertenzi (řadí se mezi sekundární glomerulopatie) - chronická tubulointersticiální nefritida (infekce močových cest) <p>Ostatní nefropatie:</p> <ul style="list-style-type: none"> - polycystická choroba ledvin - refluxní nefropatie
Iatrogenní poškození ledvin	Jako projev nefrotoxického efektu léků (kontrastní látky, antibiotika, chemoterapeutika)
Kombinace výše uvedených stavů	Vyskytuje se minimálně ve třetině případů

3.3.1 Diabetická nefropatie

DN ve smyslu diabetické glomerulosklerózy je definována jako klinický syndrom vznikající na podkladě specifických morfologických a funkčních změn ledvin u nemocných s diabetem 1. i 2. typu, případně s ostatními typy diabetu (Pelikánová a kol. 2018).

Morfologické změny v počátečních stádiích zahrnují ztlušťování bazální membrány glomerulů, akumulaci mezangiální matrix a expanzi mezangiálního prostoru. Patrné je poškození podocytů a jejich následný úbytek. Postupně dochází k útlaku glomerulárních kapilár, který vede k úbytku filtrační plochy, a nakonec k difúzní skleróze glomerulů, které v terminální fázi zanikají. Změny postihují kromě glomerulů i oblast tubulů. V tubulointersticiální oblasti dochází též ke ztlušťování bazální membrány, atrofii tubulů, fibróze intersticia a cévním změnám (Bouček 2008, Pelikánová a kol. 2018).

V etiopatogenezi choroby hrají roli faktory genetické, metabolické a hemodynamické. Za hlavní metabolický faktor je považována hyperglykémie, a to prostřednictvím oxidačního stresu, glykace proteinů a polyolové cesty metabolismu glukózy. Vznikají tzv. pokročilé produkty glykace. Dává se též do souvislosti s hyperfiltrací, hypertenzí a hypertrofií. Chronická hyperglykémie může stimulovat fibrózu intersticia ledvin např. prostřednictvím růstového faktoru TGF μ . Ústřední role v expanzi centrální, mezangiální oblasti glomerulu je přisuzována aktivaci některých růstových faktorů, především vaskulárním endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF) a již zmíněnému TGF μ . Tyto faktory mohou kromě akumulace mezangiální matrix a ztlušťování bazální membrány glomerulu způsobovat i poruchy funkce a zánik podocytů. Z hemodynamických faktorů stojí u zrodu a vývoje DKD zejména zvýšení

glomerulárního i systémového tlaku. Systémová a intraglomerulární hypertenze působí na lokální produkci cytokinů a růstových faktorů (Bouček 2008, Pelikánová a kol. 2018).

DN je ve svém vývoji téměř vždy provázena DR, DN a zvýšeným výskytem aterosklerotických komplikací. Pokud se vyskytnou atypické anamnestické (např. absence DN nebo DR) či klinicko-laboratorní údaje, je nutné zvážit možnost i nediatetického postižení ledvin, případně kombinace DKD s jiným renálním onemocněním (Račická 2016).

3.3.1.1 Klinická charakteristika

Pro DN je charakteristické vylučování bílkovin porušenou glomerulární membránou do moči, postupný zánik glomerulů, snižování GF až do stádia renálního selhání. Tesař (2008) definuje DN jako „klinický syndrom charakterizovaný perzistentní albuminurií (> 300 mg/ 24 hod nebo > 200 µg/min) prokázanou při alespoň 2 stanoveních mezi kterými uplynulo 3 až 6 měsíců“. Odhaduje se, že DN trpí asi 4 – 8 % pacientů navštěvujících diabetologické poradny (Tesař 2008).

3.3.1.2 Stádia diabetické nefropatie

V počátečních stádiích diabetu se glomeruly i tubulární tkáň zvětšují a s nárůstem filtrační plochy dochází i GF. Později v závislosti na míře zesílení BM a útlaku glomerulů vlivem rozšíření mezangia lze pozorovat úbytek filtrační plochy, sklerózu glomerulů a jejich postupný zánik. Průběh DN je ovlivněn průběžnými událostmi např. dehydratací při akutní metabolické dekompenzaci DM, akutní pyelonefritis, nefrotoxickým účinkem některých antibiotik nebo jodové kontrastní látky (Bouček 2012, Pelikánová a kol. 2018).

Vývoj DN lze u diabetu I. typu rozdělit do 5 stádií, u diabetu II. typu jsou klinická stádia hůře definována. Hlavní příčinou je fakt, že DM II. typu je často diagnostikován později, buď zcela náhodně nebo až na základě přidružených komplikací. V praxi to

znamená, že v době stanovení diagnózy DM II. typu se pacient často nachází již v incipientním stádiu, tedy 3 stádiu DN (Tesař 2002).

Stádium 1 (Hyperfiltračně hypertrofické) je charakterizováno albuminurií, hyperfiltrací a renální hypertrofií. Vyskytuje se zejména u pacientů s nově diagnostikovaným DM I. typu, zahájení léčby inzulinem vede k poklesu albuminurie a GF.

Stádium 2 (Latentní) je klinicky bezpříznakové, albuminurie i KT jsou ve fyziologickém rozmezí, GF však zůstává zvýšená. V této fázi dochází k postupnému rozvoji histologických změn v ledvinách. S tímto se ztotožňuje MUDr. Mottl (2001), který toto stádium nazývá stádiem mikroskopických změn.

Stádium 3 (Incipientní) je charakterizované přítomností albuminu v moči v rozmezí 20 – 200 $\mu\text{g}/\text{minutu}$ (30 – 300 $\text{mg}/24$ hodin), často provázená vzestupem krevního tlaku a postupným poklesem zpočátku někdy zvýšené GF. Hypertenze může být pouze relativní a stále se udržovat na horní hranici fyziologického rozmezí. Mikroalbuminurie se vyskytuje u 5 až 20 % diabetiků II. typu již v době diagnózy diabetu. Histologické změny v ledvinách progredují a dochází k postupné redukci filtrační plochy. Dle Mottla je pro další vývoj choroby klíčové včasné odhalení tohoto stádia DN. Incipientní stádium mikroalbuminurie považuje při adekvátní terapii za reverzibilní, které nemusí nutně progredovat do trvalého renálního poškození s rozvojem renální insuficience (Mottl 2001).

Stádium 4 (Manifestní) je charakterizováno albuminurií vyšší než 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ (300 $\text{mg}/24$ hodin), což odpovídá proteinurii vyšší než 500 $\text{mg}/24$ hodin. Proteinurie v této fázi roste v průměru o 5 až 40 % ročně. GF klesá rychlostí asi 10 $\text{ml}/\text{min}/\text{rok}$, tj. asi 0,17 $\text{ml}/\text{s}/\text{rok}$. Většina nemocných trpí hypertenzí a rychlost poklesu GF těsně koreluje s výší krevního tlaku (KT). Na péči o diabetika v této fázi onemocnění ledvin by měl participovat spolu s diabetologem i nefrolog s cílem oddálit stádium chronického selhání ledvin.

Stádium 5 (Chronické selhání ledvin) vyžaduje spolupráci s nefrologickým pracovištěm zejména z důvodu včasné přípravy a následně zahájení náhrady funkce ledvin (hemodialýza nebo peritoneální dialýza). Toto stádium se vyvíjí v průměru po 7 letech od objevení proteinurie (Mottl 2001, Tesař 2002, Tesař 2008).

3.3.2 Onemocnění ledvin nediabetické etiologie

Nediabetické nefropatie jsou poruchy funkce ledvin při jiných chorobách (např. zánětech), které se u populace diabetiků vyskytují častěji než u populace nediabetiků. Toto potvrzuje i informace, že klasické průvodní jevy DN (albuminurie a retinopatie) nejsou přítomny až u 30 % nemocných diabetem II. typu a nedostatečností ledvin. Za hlavní příčinu postupného selhávání ledvin jsou zodpovědné různé typy vaskulárních nefropatií, jejichž vznik významným způsobem ovlivňuje hypertenze. Ledviny mohou být poškozeny i iatrogeně v souvislosti s užíváním některých léků (Bouček 2008, Račická 2016).

3.3.3 Chronické onemocnění ledvin

Definice chronického onemocnění ledvin (CKD) dle České nefrologické společnosti a České společnosti klinické biochemie zní: Chronické onemocnění ledvin (CKD) je definováno jako funkční nebo strukturální abnormalita ledvin, která trvá déle než 3 měsíce a má dopad na zdraví nositele (Viklický 2014). Kritéria pro diagnostiku tvoří přítomnost poškození ledvin a/nebo pokles funkce ledvin pod $1,0 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$.

CKD se vyvíjí zpravidla postupně po dobu několika let s typickými laboratorními změnami. V úvodu CKD dochází k poškození tkáně ledvin základním onemocněním. V průběhu nemoci dochází k postupnému zániku funkčních nefronů. Nefrony zprvu procházejí adaptačními změnami (hypertrofie, dilatace aferentní arterioly, zvýšený průtok plazmy, hyperfiltrace). Po poškození 75 až 85 % nefronů jsou nefrony vystaveny nadměrné metabolické zátěži, nastávají strukturální a metabolické změny vedoucí k rozvoji glomerulosklerózy a fibrotizaci v tubulointersticiu. Patrný je postupný rozvoj oligurie až anurie, vzestup koncentrace kreatininu a močoviny v plazmě. Rozvíjí se těžká porucha vnitřního prostředí (hyperhydratace, hyperkalémie, hyperfosfatémie a metabolická acidóza). U některých pacientů je přítomna těžká normocytární normochromní anémie a ultrasonograficky lze prokázat malé svrašťelé ledviny na rozdíl od akutního selhání ledvin. Toto ale neplatí vždy, pacienti s polycystickými ledvinami nebo DN mohou mít ledviny fyziologické velikosti nebo dokonce zvětšené, a to i v terminální fázi chronické renální insuficience (Zima 2002).

Příčin CKD je velké množství a často se i kombinují. Nejčastěji jde o důsledky jiných onemocnění, zejména diabetu mellitu, arteriální hypertenze nebo glomerulonefritidy. Dalšími příčinami mohou být dědičná onemocnění ledvin např. polycystické onemocnění ledvin, tuberózní skleróza, dále tubulointersticiální nefritidy, hydronefoza a jiné. Za hlavní příčinu chronického selhání ledvin ve vyspělých zemích je v současné době považována diabetická nefropatie (Pelikánová 2018). Z tohoto důvodu je doporučeno klasifikovat onemocnění ledvin u diabetiků dle níže uvedených parametrů (Zima 2014).

3.3.3.1 Parametry poškození ledvin

- 1) Albuminurie (albumin v moči) $\geq 30,0$ mg/24 hodin nebo poměr albumin/kreatinin $\geq 3,0$ mg/mmol
- 2) Nález v močovém sedimentu (přítomnost válců erytrocytárních, leukocytárních, granulovaných)
- 3) Nález signalizující renální tubulární poruchy (elektrolytové a jiné poruchy vnitřního prostředí způsobené poruchami funkce tubulů, např. renální tubulární acidóza, renální tubulární proteinurie)
- 4) Histologický nález při biopsii
- 5) Nález zjištěný zobrazovacími metodami, např. polycystické ledviny, hydronefrozou na podkladě obstrukce
- 6) Anamnéza transplantace ledvin

3.3.3.2 Klasifikace chronického onemocnění ledvin

CKD lze klasifikovat dle příčiny (diabetické CKD, CKD způsobené amyloidózou), kategorie GF a kategorie albuminurie. Klasifikace CKD dle úrovně GF je přehledně zpracována v tabulce 6., klasifikaci CKD dle albuminurie předkládá tabulka 7 (Viklický 2014).

Tab. 6 Kategorie CKD podle GF

Kategorie	Popis	GF [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$]
G1	Normální nebo vysoká	$\geq 1,50$
G2	Mírně snižená	1,0 – 1,49
G3a	Mírně až středně snižená	0,79 – 0,99
G3b	Středně až těžce snižená	0,5 – 0,74
G4	Těžce snižená	0,25 – 0,49
G5	Selhání ledvin	$< 0,25$

Pokud není přítomno poškození ledvin, kategorie G1 a G2 nesplňují kritéria CKD

Tab. 7 Kategorie CKD podle albuminurie

Kategorie	Popis	Albuminurie [mg/24 hodin]	ACR [mg/mmol kreatininu]
A1	Normální až lehce snižená	< 30	< 3
A2	Středně zvýšená	30 – 300	3 – 30
A3	Těžce zvýšená	> 300	> 30

ACR – poměr koncentrace albuminu a kreatininu v moči

Tab. 8 Kategorie CKD podle GF a ACR sdružené do skupin se srovnatelnou prognózou

Prognóza CKD podle kategorií GF a albuminurie: KDIGO 2012				Kategorie setrvalé albuminurie		
				Popis a rozmezí		
				A1	A2	A3
				Normální až lehce zvýšená $< 3 \text{ g/mol}$	Středně zvýšená 3-30 g/mol	Těžce zvýšená $> 30 \text{ g/mol}$
Kategorie GF ($\text{ml}/\text{s}/1,73\text{m}^2$) Popis a rozmezí	G1	Normální nebo vysoká	$\geq 1,5$			
	G2	Mírně snižená	1-1,49			
	G3a	Mírně až středně snižená	0,75-0,99			
	G3b	Středně až těžce snižená	0,5-0,74			
	G4	Těžce snižená	0,25-0,49			
	G5	Selhání ledvin	$< 0,25$			

Zelená = nízké riziko (nebo bez CKD – nemá-li jiné známky poškození ledvin), žlutá = středně zvýšené riziko, oranžová = vysoké riziko, červená = velmi vysoké riziko.

Tabulka 8 zobrazuje orientační souhrnné riziko celkové mortality, kardiovaskulární mortality a prognózy CKD. Riziko stoupá kontinuálně s klesající GF a stoupající albuminurií. Při odhadu rizika jednotlivého pacienta je zásadní brát v úvahu (kromě GF a albuminurie) také příčinu CKD a další komorbidity (Zima 2014).

3.4 Laboratorní diagnostika onemocnění ledvin u diabetes mellitus

Nemoci ledvin probíhají alespoň zpočátku velmi často asymptomaticky. Diagnostika je z velké části závislá na pomocných vyšetřovacích metodách. Pro screeningová vyšetření se používá chemické vyšetření moče, mikroskopické vyšetření močového sedimentu a orientační odhad GF dle hodnoty kreatininu v séru. Další podrobnější vyšetření jsou zpravidla indikována jen u pacientů s abnormálním močovým nálezem nebo zvýšeným sérovým kreatininem. Při pozitivním nálezu bílkovin v moči diagnostickým papírkem je indikováno kvantitativní vyšetření proteinurie a/nebo vyšetření GF pomocí clearance endogenního kreatininu (Tesař a Viklický 2015).

3.4.1 Stanovení albuminu v moči

Albumin je bílkovina krevní plazmy syntetizovaná játry. Tvoří obvykle 55 až 65 procent všech plazmatických bílkovin. Ovlivňuje osmotický tlak, váže a transportuje řadu krevních složek (nekonjugovaný bilirubin, hormony štítné žlázy), je zásobárnou aminokyselin pro tvorbu bílkovin a hlavním antioxidantem krevní plazmy. Katabolizován je v tkáních endoteliálními buňkami kapilár. V moči zdravých jedinců je koncentrace albuminu velmi nízká, stoupá při změnách GF (Kopáč 2004).

Kvantitativní stanovení albuminu v moči (albuminurie) patří mezi základní metody predikující rozvoj diabetického onemocnění ledvin a současně udává míru kardiovaskulárního rizika. Výdej 20 až 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ nebo 30 – 300 mg/den albuminu močí je některými autory označován jako mikroalbuminurie, přičemž hodnoty nižší než 100 $\mu\text{g}/\text{min}$ jsou reverzibilní a tudíž ovlivnitelné terapeuticky kompenzací krevního tlaku. Přítomnost mikroalbuminurie u diabetiků je výrazem nejen počínající nefropatie, ale i globální vaskulární poruchy. Mikroalbuminurie je dle Friedeckého (2019) zvýšené

vylučování albuminu močí, které předpovídá stav postižení ledvin, ale které není detekovatelné kvalitativními metodami realizovanými běžnými testovacími proužky pro průkaz proteinů v moči či jinými metodami kvalitativními analýzy. Hodnoty přesahující 200 $\mu\text{g}/\text{min}$ signalizují již stádium klinické nefropatie.

Albuminurii lze stanovit metodou radioimunoanalýzy nebo nefelometricky z jednorázového vzorku moče, eventuálně z moče sbírané. U sbírané moče je vyžadován nejen přesný sběr, ale i udání časového intervalu, po který je moč sbírána. V praxi se dává přednost stanovení albuminu v jednorázovém vzorku moči, výsledek se vztahuje na koncentraci kreatininu v moči jako poměr ACR (mg albuminu/mmol kreatininu). Vzhledem k vysoké intraindividuální variabilitě (až 30%) by pro diagnózu albuminurie měly být pozitivní alespoň 2 ze 3 po sobě následujících vzorků moči analyzovaných v intervalu 3 až 6 měsíců. Vyšetření by nemělo být prováděno při současné infekci močových cest, po zvýšené fyzické námaze a při menses (Friedecký 2019, Zima 2002).

3.4.2 Stanovení bílkovin v moči

Stěna glomerulu, zvláště glomerulární bazální membrána je jen velmi málo propustná pro látky bílkovinné povahy. Proteiny jsou filtrovány v závislosti na jejich molekulové hmotnosti (velikosti), náboji a tvaru. Albumin s molekulovou hmotností 69 kDa fyziologicky proniká do moče velmi omezeně. V bazální membráně glomerulů jsou přítomny proteoglykany (zejména heparansulfát), které fungují jako polyanionty. Do primární moče snadněji pronikají bílkoviny s převahou bazických aminokyselin (AMK) než bílkoviny s převahou kyselých AMK ve své molekule chovající se jako polyanionty. Současně je značná část profiltrovaných nízkomolekulárních bílkovin téměř kompletně reabsorbována epitelem PT a degradována na peptidy a AMK (Zima 2002, Žabka 2008).

Odpad proteinu v definitivní moči zdravého člověka v průměru kolísá mezi 40 až 80 mg za den. Za fyziologickou je považována ztráta proteinu do 150 mg/den, nejvýznamnější součástí této fyziologické proteinurie je mukoprotein uromodulin secernovaný buňkami tlusté části HK. Proteinurie je ztráta bílkoviny močí přesahující 150 mg/den. V počátečních stádiích onemocnění ledvin bývá ztráta bílkovin močí menší a

bývá tvořena převážně albuminem. Fyziologicky se močí ztrácí méně než 30 mg albuminu za 24 hodin což odpovídá 20 $\mu\text{g}/\text{min}$ (Žabka 2008).

Výsledky celkové proteinurie je doporučeno uvádět ve vztahu ke koncentraci kreatininu ve vzorku ranní moče jako PCR (g/mmol), eventuálně jako koncentrace proteinu ve vzorku ranní moči (g/l). U nemocných s nefrotickým syndromem a dobrou spoluprací stále vyšetřujeme kvantitativní proteinurii za 24 hodin (g/den). V současné době se preferují vyšetření jednorázového vzorku ranní moče, protože sběry moče jsou zatíženy velkými chybami na straně pacienta (Zima 2002, Žabka 2008).

3.4.3 Typy proteinurie

- 1) glomerulární proteinurie je výrazem zvýšeného prostupu makromolekul (zejména albuminu) přes glomerulokapilární stěnu, je považována za senzitivní ukazatel poškození glomerulů
- 2) tubulární proteinurie je důsledkem nedostatečné resorpce nízkomolekulárních proteinů v PT. Bývá považována za projev tubulointersticiálního poškození, dle některých autorů i výrazem zahlcení transportních mechanismů při proteinurii/albuminurii glomerulárního původu
- 3) preglomerulární („overflow“) proteinurie bývá nejčastěji výrazem nadprodukce lehkých řetězců imunoglobulinů u mnohočetného myelomu (Žabka 2008)

3.5 Vyšetření glomerulární filtrace

Vyšetření renálních funkcí umožňuje posoudit, zda je funkce ledvin fyziologická či snižená a určit stupeň tohoto snížení. K základním metodám patří vyšetření GF, kdy stupeň snížení filtrační schopnosti ledvin slouží jako ukazatel stupně závažnosti jejich poškození. GF patří spolu s tubulární resorpcí a tubulární sekrecí k základním mechanismům zajišťujícím udržení homeostázy vnitřního prostředí. Faktory ovlivňující filtraci v kapilárách glomerulů jsou velikost filtrační plochy, permeabilita (propustnost) kapilár a gradienty hydrostatických a onkotických tlaků přes kapilární stěnu.

V současné době měříme GF pomocí clearance endogenního nebo exogenního markeru filtrace. Metody lze rozdělit do dvou základních skupin, a to na metody měření GF se sběrem moče a metody měření GF bez sběru moče. K měření GF se sběrem moče lze využít kreatinin nebo inulin. Metody jsou přehledně zpracovány v tabulce 9 (Pelikánová a kol. 2018).

Tab. 9 Přehled metod vyšetření glomerulární filtrace

Metody měření GF se sběrem moči
1) Renální clearance endogenního kreatininu
2) Clearance inulinu
Metody měření GF bez sběru moče
1) Koncentrace kreatininu v séru
2) Výpočtové metody odhadu GF na podkladě sérového kreatininu (eGF) Odhad clearance kreatininu dle Cockcrofta a Gaulta Odhad GF pomocí vzorce Lund-Malmö Odhad GF pomocí vzorce MDRD Odhad GF pomocí vzorce CKD-EPI
3) Výpočtové metody odhadu GF na podkladě stanovení koncentrace cystatinu C v séru

MDRD - Modification of Diet in Renal Disease – zkratka pro výpočet eGF

3.5.1 Metody měření glomerulární filtrace se sběrem moče

Clearance vyjadřuje množství krve, které je za jednotku času očištěno od určité látky. Pro stanovení hodnoty clearance je nutný přesný sběr moči, což bývá v běžné praxi problém a chyby v neúplném sběru znemožňují správně posoudit úroveň GF. Z tohoto důvodu se preferuje odhad GF na podkladě hodnocení koncentrace kreatininu v séru (S_{kr}) nebo se volí výpočtové metody (Zima a kol. 2014).

3.5.1.1 Renální clearance endogenního kreatininu

Ke stanovení míry GF je možné využít vyšetření clearance kreatininu. Fyziologicky u dospělého člověka clearance kreatininu (C_{kr}) přesahuje GF jen asi o 10 až 20 % v důsledku sekrece kreatininu v PT. U osob s chronickým onemocněním ledvin (CKD 4 až 5) se tubulární sekrece vzhledem k výrazně snížené GF relativně zvyšuje. V konečných stádiích CKD může C_{kr} přesahovat GF o 100 i více procent. Renální clearance kreatininu je určována na podkladě měření vylučování kreatininu močí ve sledovaném období (nejčastěji za 24 hodin) a S_{kr} (Racek 2006, Zima a kol. 2014).

$$\text{Výpočet dle vzorce: } C_{kr} = \frac{U_{kr} \cdot V}{S_{kr}}$$

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

V ... objem moči vyloučený za jednotku času [ml/s]

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

Hodnota C_{kr} poskytuje přesnější informace o GF než odhad pouze na základě znalosti S_{kr} , protože tato veličina není ovlivněna extrarenálními faktory ovlivňujícími hladinu kreatininu v séru. Jde zejména o vylučování kreatininu střevem u pacientů v pokročilém stádiu CKD a rozdíly v objemu svalové hmoty. Hodnoty C_{kr} se přepočítávají na ideální povrch těla ($1,73 \text{ m}^2$) aby se vyloučil vliv nesterétné tělesné konstituce u pacientů.

3.5.1.2 Clearance inulinu

Inulin je polysacharid exogenního původu o molekulové hmotnosti 5,2 kDa. Vzhledem k fyzikálním vlastnostem volně prochází glomerulárním filtrem a současně nepodléhá tubulární resorpci ani sekreci. Poskytuje nej přesnější údaje o velikosti GF. V praxi se vzhledem k metodicky náročnému laboratornímu vyšetření běžně nestanovuje (Zima a kol. 2014)

3.5.2 Metody měření glomerulární filtrace bez sběru moče

GF lze posoudit na základě přímého měření koncentrace S_{kr} nebo z rovnic, které vycházejí z S_{kr} popřípadě cystatinu C v séru. U těchto metod není nutný sběr moče, který představuje největší zdroj chyb.

3.5.2.1 Posouzení glomerulární filtrace na základě kreatininu v séru

Kreatinin vzniká v játrech neenzymatickou ireverzibilní dehydratací svalového kreatinu. Při jeho zmnožení (zmnožení svalové hmoty a jejího metabolismu, zvýšený příjem bílkovin) se jeho koncentrace zvyšuje. Při ustáleném metabolismu je hladina při dobré funkci ledvin konstantní. Vylučuje se GF, nepodléhá TR a sekrece v tubulech činí pouze okolo 10 až 20 procent. V praxi to znamená, že určitá část pacientů s poruchou GF ještě vykazuje sérový kreatinin v referenčním rozmezí. U katabolických stavů může dojít k disociaci mezi koncentrací kreatininu a urey (urea je zvýšena při nezvýšeném kreatininu). Hodnoty jsou zvýšené zejména u akutního i chronického selhání ledvin, DM, po některých léčivech. Snížené hodnoty pozorujeme u myopatií, svalové dystrofie, myastenia gravis, po amputacích končetin, po glukokortikoidech, jaterních chorobách, poklesu svalové hmoty a u deficitu vitamínu E (Kopáč 2004).

Na základě znalosti koncentrace kreatininu v séru lze posoudit úroveň GF. Toto vychází ze zjištění, že mezi GF a S_{kr} je významná hyperbolická závislost (s klesající GF stoupá S_k), znamená to, že vzestup S_k při poklesu GF z hodnot fyziologických k hodnotám středně sníženým je relativně malý. Proto i výrazný pokles GF může uniknout rozpoznání

na základě sledování S_k . Viklický (2014) upozorňuje na fakt, že koncentrace kreatininu v séru výrazněji stoupá až při poklesu GF o 50 %. Důvod spatřuje v tom, že u pokročilého renálního selhání je kreatinin ve zvýšené míře vylučován tlustým střevem.

Hodnota S_k není tedy vhodná pro odhad GF (zvláště u drobných osob, žen a pacientů se svalovou atrofií), ale slouží k základnímu nefrologickému vyšetření. Vysoké koncentrace kreatininu jsou zásadním ukazatelem pro posouzení zahájení dialyzační léčby. K hodnocení GF je doporučeno využít výpočtových metod (Kopáč 2004, Zima a kol. 2014)

3.5.3 Výpočtové metody odhadu glomerulární filtrace z kreatininu v séru

Výpočet odhadu GF (eGFR, estimated glomerular filtration rate) je jedním ze základních postupů pro konverzi laboratorní veličiny (obvykle kreatininu v séru/plazmě) na klinickou veličinu (standardizovaný údaj o hodnotě GF). Výpočtové metody vycházející z koncentrace kreatininu je možné použít pouze za podmínek stabilizované plazmatické koncentrace kreatininu. Při náhlých změnách renální funkce, např. při akutních stavech, nejsou použitelné (Zima T. a kol. 2014).

3.5.3.1 Odhad clearance kreatininu dle Cockcrofta a Gaulta

Clearance endogenního kreatininu lze odhadnout na základě koncentrace kreatininu v séru/plazmě výpočtem pomocí vzorce – Cockcroft a Gault, který zahrnuje faktory ovlivňující GF jako věk, pohlaví a tělesná hmotnost pacienta. Tělesná hmotnost je považována za nepřímý ukazatel množství svalové hmoty. Tento odhad je v současné době považován za obsolentní a není doporučeno ho používat (Racek 2006, Zima 2002).

$$C_{kr} = \frac{(140 - \text{věk}) \cdot \text{tělesná hmotnost} \cdot 0,85 \text{ (ženy)}}{48,8 \cdot S_{kr}}$$

Věk – roky, tělesná hmotnost v kg

S_{kr} – koncentrace kreatinu v séru [$\mu\text{mol/l}$]

C_{kr} – clearance kreatininu [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1} \cdot 1,73\text{m}^{-2}$]

3.5.3.2 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice Lund-Malmö

Rovnice označovaná jako Lund-Malmö publikována Björkem v roce 2007 bývá považována za přednostní. Důvodem je jednak výborná korelace se standardní metodou stanovení koncentrace kreatininu, jednak odvození na evropské populaci. Dále možnost jejího využití pro obě pohlaví a široké pásmo koncentrace kreatininu. Výpočet je dnes považován z praktického hlediska za ideální, rovnice jsou ověřeny pro věkový rozsah 1 až 85 let v pásmu koncentrace kreatininu 45 až 545 $\mu\text{mol/l}$. Podmínky použití rovnice dle Lund-Malmö shrnuje tabulka 10, vzorce pro výpočet eGF tabulka 11 (Zima a kol. 2012).

Tab. 10 Podmínky použití rovnice Lund-Malmö k výpočtu eGF

Proměnná	Jednotka	Povolený rozsah
Věk	roky	1 – 85
Hmotnost	kg	8 – 111
Výška	cm	67 – 189
Sérový kreatinin (S_{kr})	$\mu\text{mol/l}$	45 – 545
Pohlaví	-	muži = 0, ženy = 1

Tab. 11 Rovnice pro výpočet eGF dle Lund-Malmö

Pohlaví	S_{kr} [μmol]	Vzorec pro výpočet eGF [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$]
Muži	< 150	$0,016667 * e^{((4,62-0,0112*S_{krea})-0,0124*v\check{e}k+0,339*(\ln(v\check{e}k)))}$
	≥ 150	$0,016667 * e^{((8,17+0,0005*S_{krea}-1,07*\ln(S_{krea}))-0,0124*v\check{e}k+0,339*(\ln(v\check{e}k)))}$
Ženy	< 150	$0,016667 * e^{((4,62-0,0112*S_{krea})-0,0124*v\check{e}k+0,339*(\ln(v\check{e}k))-0,226)}$
	≥ 150	$0,016667 * e^{((8,17+0,0005*S_{krea}-1,07*\ln(S_{krea}))-0,0124*v\check{e}k+0,339*(\ln(v\check{e}k))-0,226)}$

3.5.3.3 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice MDRD

Rovnice pro odhad GF, označovaná jako MDRD, byla převzata z multicentrické studie zabývající se vlivem nízkoproteinové diety na rychlost progresu chronických onemocnění ledvin (Modification of Diet in Renal Disease – MDRD). V této studii autoři navrhli vzorec pro predikci glomerulární filtrace vyplývající z multivariantní regresní analýzy na podkladě sérové koncentrace kreatininu, močoviny, albuminu a základních demografických veličin (Zima a kol. 2014). Zjednodušené varianty rovnice vynechávají albumin a ureu (Tab. 12 a 13).

Tab. 12 Rovnice pro odhad eGF dle MDRD pro bílou populaci

Pohlaví	Vzorec pro výpočet
Muži	$547,1535 \cdot S_{kr}^{-1,154} \cdot věk^{-0,203}$
Ženy	$547,1535 \cdot S_{kr}^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot 0,742$

Tab. 3 Rovnice pro odhad eGF dle MDRD pro černou populaci

Pohlaví	Vzorec pro výpočet
Muži	$547,1535 \cdot S_{kr}^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot 1,21$
Ženy	$547,1535 \cdot S_{kr}^{-1,154} \cdot věk^{-0,203} \cdot 0,742 \cdot 1,21$

Věk – roky, S_{kr} – koncentrace kreatininu v séru [$\mu\text{mol/l}$]

V případě, že hodnoty eGF převyšují $1,5 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ se doporučuje uvádět hodnotu $\geq 1,5 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ vzhledem k nepřesnosti rovnice v této oblasti. Hodnoty $1,0$ až $1,5 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ je nutno hodnotit individuálně ve vztahu ke klinickému obrazu. Hodnota eGF dle MDRD nižší než $1,0 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$ je považována za hodnotu patologickou (Zima a kol. 2014).

3.5.3.4 Odhad glomerulární filtrace pomocí rovnice CKD-EPI

Předchozí rovnice MDRD zahrnovala pouze pacienty s chronickým onemocněním ledvin, což sám autor Andrew Levey považoval za zásadní nevýhodu. Proto v roce 2009 publikoval nové matematické vztahy použitelné i pro zdravou populaci. Rovnice označil jako CKD-EPI a jsou vždy pro dvě pásma sérové koncentrace kreatininu pro ženy a dvě pásma pro muže. Je určena k odhadu eGF s využitím 4 proměnných (koncentrace kreatininu v séru, věk, pohlaví a rasová příslušnost. Výsledek je přepočítán na standardní povrch těla ($1,73\text{m}^2$). Rovnice pro eGF dle CKD-Epi uvádí tabulky 14 a 15.

Tab. 14 Rovnice pro výpočet eGF dle CKD-EPI z roku 2009 pro bílou populaci

Pohlaví	S_{kr} [μmol]	Vzorec pro výpočet eGF [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$]
Muži	≤ 80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,411} \cdot 0,993^{věk}$
	> 80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-1,209} \cdot 0,993^{věk}$
Ženy	≤ 62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,329} \cdot 0,993^{věk}$
	> 62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-1,209} \cdot 0,993^{věk}$

Tab. 15 Rovnice pro výpočet eGF dle CKD-EPI z roku 2009 pro černou populaci

Pohlaví	S_{kr} [μmol]	Vzorec pro výpočet eGF [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$]
Muži	≤ 80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-0,411} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$
	> 80	$2,35 \cdot (S_{kr}/79,6)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$
Ženy	≤ 62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-0,329} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$
	> 62	$2,4 \cdot (S_{kr}/61,9)^{-1,209} \cdot 0,993^{\text{věk}} \cdot 1,159$

3.5.4 Výpočtové metody odhadu glomerulární filtrace z cystatinu C v séru

Cystatin C je syntetizován všemi jadernými buňkami a patří do skupiny inhibitorů cysteinových proteáz. Tento mikroprotein o molekulové hmotnosti 13,5 kDa volně prochází glomerulární membránou a následně je zachycen tubulárními buňkami. Molekuly cystatinu C, které pronikly do tubulárních buněk jsou v jejich nitru metabolizovány, takže do peritubulární tekutiny žádný cystatin nepřechází. Očišťování extracelulární tekutiny od cystatinu je přímo úměrné GF (Zima a kol. 2014). Rovnice pro výpočet eGF dle CKD-EPI z koncentrace cystatinu C uvádí tabulka 16.

Tab. 16 Rovnice pro výpočet eGF dle CKD-EPI pro cystatin C

Pohlaví	S_{cyst} [mg/l]	Vzorec pro výpočet eGF [$\text{ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$]
Muži	$\leq 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,499} \cdot 0,996^{\text{věk}}$
	$> 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-1,328} \cdot 0,996^{\text{věk}}$
Ženy	$\leq 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-0,499} \cdot 0,996^{\text{věk}} \cdot 0,932$
	$> 0,8$	$2,217 \cdot (S_{cyst}/0,8)^{-1,328} \cdot 0,996^{\text{věk}} \cdot 0,932$

S_{cyst} - koncentrace cystatinu C v séru

Výpočet GF z koncentrace cystatinu C by měl být upřednostněn zejména u pacientů se ztrátou svalové hmoty z důvodu vysokého věku, dlouhodobé imobilizaci, svalové dystrofii, malnutrici či ztráty končetiny. Dále u stavů, které významně ovlivňují S_{kr} jako je gravidita či generalizované otoky. Výpočet GF pomocí koncentrace cystatinu C v séru

naopak nelze použít při léčbě glukokortikoidy (zvyšují koncentraci cystatinu C v závislosti na dávce) (Zima a kol. 2014).

4 Praktická část

4.1 Popis metodiky práce

Výzkumný vzorek tvořilo 70 pacientů s diagnózou DM II. typu, kteří se ambulantně léčí v diabetologické ordinaci v Městské nemocnici v Městci Králové. Jednalo se o 24 žen a 46 mužů. Nejmladší pacientce s diagnózou DM II. typu bylo v době sběru dat 33 let. Horní věkovou hranici jsem zvolila 70 let. Starší pacienti velmi často trpí dalšími přidruženými chorobami, proto pro ně platí odlišné (zpravidla mírnější) cílové hodnoty pro posouzení stavu kompenzace diabetu. Výběrový soubor tvořili pacienti, kteří v době sběru dat nevykazovali známky akutního zánětu (hodnoceno dle koncentrace C-reaktivního proteinu), protože akutní stav zhoršuje kompenzaci DM.

Analýza vzorků výběrového souboru byla provedena na Oddělení klinické biochemie a hematologie v Městské nemocnici v Městci Králové. Laboratorní informační systém poskytl základní parametry (koncentraci glykémie v séru nalačno, hladinu HbA_{1c}, koncentraci kreatininu a eGF vypočtenou dle vzorce CKD-EPI výšku a hmotnost každého pacienta). Odhady GF pomocí rovnice Lund-Mamö byly u pacientů následně dopočítány. Index tělesné hmotnosti (BMI) byl též dopočítán z údajů v laboratorním informačním systému.

4.2. Matematické a statistické zpracování

Ke statistickému zpracování a vyhodnocení dat byl použit program Microsoft Office Excel 2007. Statistická charakteristika je uvedena v tabulkách. Ke statistickému zpracování a hodnocení významnosti dat byla v návaznosti na charakter proměnných použita regresní analýza dat. Pro testování byla stanovena hladina významnosti $\alpha = 0,05$.

4.3 Popis použitých analytických metod

4.3.1 Stanovení glukózy

Měření glukózy v krevním séru (glykémie) bylo prováděno metodou GOD-POD na přístroji MINDRAY BS-480, dodavatel firma Medesa. Principem metody je oxidace glukózy v přítomnosti enzymu glukózaoxidáza (GOD) za vzniku peroxidu vodíku. Ten následnou reakcí s aminoantipyrinem a sodnou solí kyseliny hydroxybenzoové za přítomnosti enzymu peroxidázy (POD) vytváří barevný komplex chinoniminu. Změna absorbance je přímo úměrná koncentraci glukózy ve vzorku (Medesa.cz).

Biologický materiál: Krevní sérum získané centrifugací plné krve odebrané do zkumavky bez protisrážlivého činidla se separačním gelem.

Reagencie: Pro stanovení byla použita diagnostická souprava GOD-POD Method (Medesa s.r.o). Složení reagentů a postup stanovení shrnuje tabulka 17 a 18 (Medesa.cz).

Tab. 17 Složení reagentů (set GOD-POD Method), dodavatel Medesa s.r.o

Roztok	Název	Koncentrace
R1	Fosfátový pufr	100 mmol/l
	Askorbát oxidáza	4700 U/l
	Glukózaoxidáza (GOD)	4000 U/l
R2	Fosfátový pufr	100 mmol/l
	Peroxidáza (POD)	6700 U/l
	4-aminoantipyrin	0,7 mmol/l
	Sodná sůl kyseliny hydroxybenzoové	1,3 mmol/l

Tab. 18 Postup stanovení koncentrace glukózy v krevním séru

	Blank	Vzorek
R1	240 μ l	240 μ l
Destilovaná voda	3 μ l	---
Vzorek	---	3 μ l
Promíchat, inkubovat 5 minut při 37°C, odečítat absorbanci		
R2	60 μ l	60 μ l
Promíchat, inkubovat 10 minut při 37°C, odečítat absorbanci		

Kalibrace a kontroly kvality

Vnitřní kontrola kvality se provádí každý den před zahájením rutinního provozu pomocí kontrolních přípravků Multi séra control 1 a Multi séra kontrol 2 dodávaných firmou Medesa. Kalibrace je prováděna přípravkem MultiCal, který též dodává firma Medesa.

Referenční hodnoty glykémie v séru: 3,6 – 5,6 mmol/l nalačno

Linearita v rozmezí 0,3 – 25 mmol/l

Mez detekce 0,3 mmol/l s 99,7 % spolehlivosti

4.3.2 Stanovení kreatininu

Stanovení koncentrace kreatininu v séru bylo provedeno modifikovanou Jaffého reakcí na analyzátoru MINDRAY BS-480 dodaným firmou Medesa. Principem metody je reakce kreatininu v alkalickém prostředí (NaOH) s kyselinou pikrovou za vzniku žlutooranžového komplexu. Zvýšení absorbance je přímo úměrné koncentraci kreatininu ve vzorku (Medesa.cz)

Biologický materiál: Krevní sérum získané centrifugací plné krve odebrané do zkumavky bez protisrážlivého činidla se separačním gelem.

Reagencie: Pro stanovení byla použita diagnostická souprava Creatinine Kit (Medesa s.r.o). Složení reagensů a postup stanovení shrnuje tabulka 19 a 20.

Tab. 19 Složení reagensí Creatinine Kit (Modified Jaffé Method)

Roztok	Složení	Koncentrace
R1	Hydroxid sodný	0,38 mol/l
R2	Kyselina pikrová	15,0 mmol/l

Tab. 20 Postup stanovení kreatininu v krevním séru

	Blank	Vzorek
R1	180 μ l	180 μ l
Destilovaná voda	18 μ l	---
Vzorek	---	18 μ l
Promíchat, inkubovat 1 minutu při 37°C, poté přidat:		
R2	180 μ l	180 μ l
Promíchat při 37°C, odečítat absorbanci po 30 vteřinách a poté po 2 minutách.		

Kalibrace a kontroly kvality

Vnitřní kontrola kvality se provádí každý den před zahájením rutinního provozu pomocí kontrolních přípravků Multi séra control 1 a Multi séra kontrol 2 dodávaných firmou Medesa. Kalibrace je prováděna přípravkem MultiCal, který též dodává firma Medesa.

Referenční hodnoty kreatininu v séru: ženy 44 – 104 μ mol/l, muži 44 – 109 μ mol/l

Linearita: 9 – 2420 μ mol/l

Mez detekce: 9 μ mol/l s 99,7 % spolehlivostí

4.3.3 Stanovení glykovaného hemoglobinu

Glykovaný Hb byl stanoven metodou HPLC na přístroji TOSOH HPLC-723 G7, dodaný firmou Medesa.

Princip: Jednotlivé složky hemoglobinu jsou eluovány třemi pufrů s odlišnou koncentrací solí a rozdílným pH podle rozdílů v elektrickém náboji N-konce globinových jednotek a

separovány do 6 frakcí v pořadí: A1a, A1b, F, L-A1c⁺, A1c (S-A1c) a A0. Každý eluční pufr je po odplynění hnán pomocí čerpadla přes injekční ventil a filtr na kolonu. Přibližně 3 µl vzorku plné krve je z primární zkumavky nataženo do trysky a ředěno hemolyzačním a promývacím roztokem v ředícím portu. Naředený roztok je dodán na ionexovou kolonu TSKgel G7 HSi. Jednotlivé frakce procházejí fotometrickým detektorem, který měří jejich absorbance při vlnové délce 415 nm. Separace probíhá při 37°C. Výsledky jsou vydávány v procentech celkového Hb. Měření jednoho vzorku trvá asi 2,2 minuty (Medesa.cz)

Biologický materiál: plná krev odebraná do zkumavky s antikoagulačním činidlem (K₃ EDTA)

4.4 Popis použitých výpočtových metod

Rovnice použité pro výpočty eGF dle Lund-Malmö a dle CKD-EPI uvádí tabulky 21 a 22 (Zima 2014).

Tab. 21 Rovnice pro eGF dle Lund-Malmö

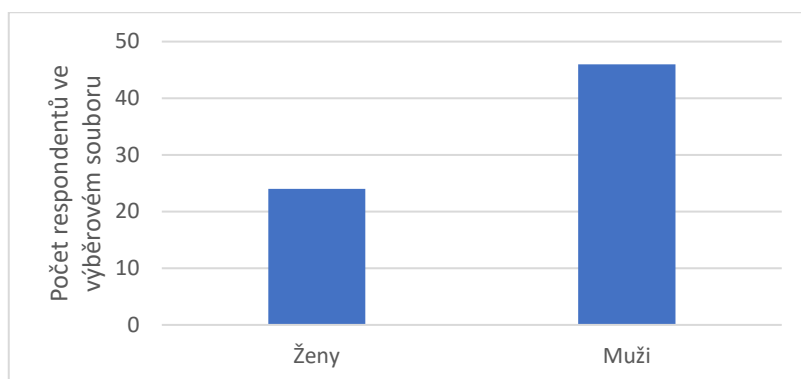
Pohlaví	S _{kr} [µmol]	Vzorec pro výpočet eGF [ml.s ⁻¹ .1,73m ⁻²]
Muži	< 150	$0,016667 * e^{((4,62-0,0112*Skrea)-0,0124*věk+0,339*(\ln(věk)))}$
	≥ 150	$0,016667 * e^{((8,17+0,0005*Skrea-1,07*\ln(SKrea))-0,0124*věk+0,339*(\ln(věk)))}$
Ženy	< 150	$0,016667 * e^{((4,62-0,0112*Skrea)-0,0124*věk+0,339*(\ln(věk)))-0,226}$
	≥ 150	$0,016667 * e^{((8,17+0,0005*Skrea-1,07*\ln(SKrea))-0,0124*věk+0,339*(\ln(věk)))-0,226}$

Tab. 22 Rovnice pro eGF dle CKD-EPI

Pohlaví	S _{kr} [µmol]	Vzorec pro výpočet eGF [ml.s ⁻¹ .1,73m ⁻²]
Muži	≤ 80	$2,35 * (Sk_r/79,6)^{-0,411} * 0,993^{věk}$
	> 80	$2,35 * (Sk_r/79,6)^{-1,209} * 0,993^{věk}$
Ženy	≤ 62	$2,4 * (Sk_r/61,9)^{-0,329} * 0,993^{věk}$
	> 62	$2,4 * (Sk_r/61,9)^{-1,209} * 0,993^{věk}$

5 Výsledky

Výzkumu se zúčastnilo celkem 70 pacientů s diabetes mellitus II. typu, kteří se ambulantně léčí v Městské nemocnici v Městci Králové. Výběrový soubor tvořilo 24 žen (34,3 %) a 46 mužů (65,7 %). Respondenti byli ve věkovém rozmezí od 33 let do 70 let. Rozdělení respondentů dle pohlaví uvádí obr. 4, rozdělení dle věku tab. 23.



Obr. 4. Rozdělení respondentů dle pohlaví

Tab. 23 Věková skladba výběrového souboru

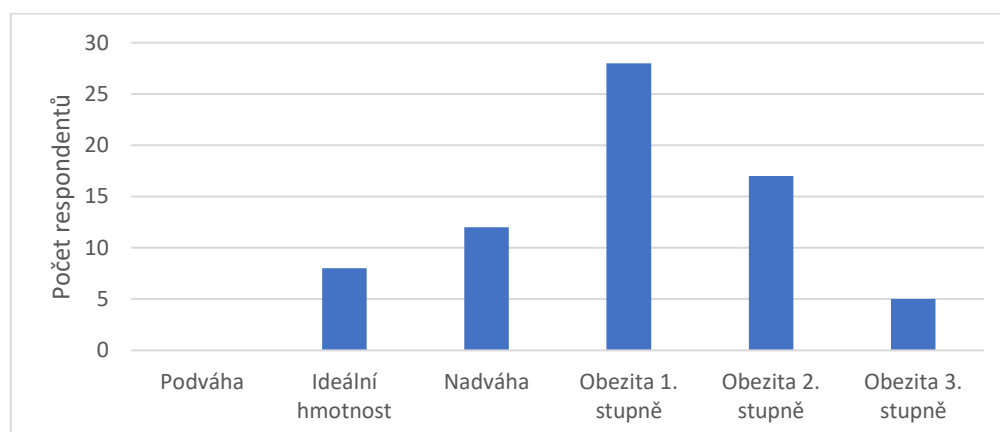
Věk	Počet respondentů	Věk	Počet respondentů	Věk	Počet respondentů
33	1	46	0	59	1
34	0	47	2	60	4
35	0	48	3	61	0
36	0	49	5	62	3
37	0	50	2	63	0
38	0	51	4	64	5
39	0	52	4	65	2
40	0	53	3	66	2
41	1	54	3	67	3
42	0	55	1	68	3
43	0	56	3	69	6
44	0	57	3	70	4
45	2	58	0		Celkem: 70 osob

Diabetem mellitem II. typu častěji trpí lidé s nadváhou nebo obezitou. Sledovaným parametrem byla hmotnost respondentů hodnocená dle Indexu tělesné hmotnosti (BMI, Body Mass Index). Do kategorie fyziologické hmotnosti spadalo 8 osob (11,4 %), nadváha byla zjištěna u 12 osob (17,2 %) a obezita různého stupně u 50 osob (71,4 %). Rozdělení pacientů dle BMI uvádí tabulka 24, stejná data jsou z důvodu lepší přehlednosti zpracována v grafu (Obr. 5). Průměrná hodnota BMI byla 32,4 kg/m².

Tab. 24 Rozdělení respondentů do skupin dle BMI

	Rozmezí BMI [kg/m²]	Počet respondentů	Relativní zastoupení v %
Podváha	16,5 – 18,4	0	0
Fyziologická hmotnost	18,5 – 25,0	8	11,4
Nadváha	25,1 – 29,9	12	17,2
Obezita 1. stupně	30,0 – 34,9	28	40,0
Obezita 2. stupně	35,0 – 39,9	17	24,3
Obezita 3. stupně	40,0 a více	5	7,1
Celkem		70	100

BMI – Body mass index



Obr. 5. Rozdělení respondentů dle BMI [kg/m²]

Dalším sledovaným parametrem byla úroveň kompenzace DM posuzovaná dle hladiny glykémie měřené nalačno v krevním séru. Ve zkoumaném souboru bylo zaznamenáno 41 osob, tj. 58,6 % diabetiků s neuspokojivou úrovní kompenzace diabetu. S uspokojivou mírou kompenzace 11 osob (15,7 %) a výbornou 18 osob, tj. 25,7 % (Tab. 25).

Tab. 25 Úroveň kompenzace DM dle hladiny glykémie v krevním séru měřené nalačno

Kompenzace DM	Hodnoty glykémie nalačno [mmol/l]	Počet respondentů	Relativní zastoupení v %
Výborná	4,0 – 6,0	18	25,7
Uspokojivá	6,1 – 7,0	11	15,7
Neuspokojivá	> 7,0	41	58,6
Celkem		70	100

Vhodnějším ukazatelem kompenzace diabetu mellitu je hladina HbA_{1c}. Naměřené hodnoty tohoto parametru se ve výběrovém souboru pohybovaly v rozmezí od 40,0 do 99,0 mmol/mol Hb. Průměrná hodnota činila 64,4 mmol/mol. Do kategorie výborné kompenzace spadali 4 pacienti (5,7 %), do kategorie uspokojivé kompenzace 18 diabetiků (25,7 %) a 48 pacientů s diabetem II. typu vykazovalo dle naměřených laboratorních hodnot neuspokojivý stav kompenzace choroby, tj. 68,6 % (Tab. 26).

Tab. 26 Úroveň kompenzace DM dle hladiny HbA_{1c}

Kompenzace DM	Hodnoty HbA_{1c} [mmol/mol]	Počet respondentů	Relativní zastoupení v %
Výborná	< 45	4	5,7
Uspokojivá	45 – 60	18	25,7
Neuspokojivá	> 60	48	68,6
Celkem		70	100

Hladina kreatininu v séru slouží k posouzení úrovně GF buď samostatně nebo jako parametr nutný pro výpočtové metody eGF. Průměrná naměřená koncentrace kreatininu v séru u sledovaných pacientů činila 80,6 $\mu\text{mol/l}$. Nejnižší naměřená hodnota 49,2 $\mu\text{mol/l}$ a nejvyšší hodnota 142,4 $\mu\text{mol/l}$. Fyziologické rozmezí u žen se pohybuje v rozmezí hodnot 44 – 104 $\mu\text{mol/l}$, u mužů 44 – 110 $\mu\text{mol/l}$. Uvedené hodnoty platí pro věkové rozmezí 15 až 110 let. Patologicky zvýšenou hodnotu jsem zaznamenala u 6 diabetiků (Tab. 27).

Tab. 27 Rozdělení pacientů dle hladiny kreatininu v séru a pohlaví

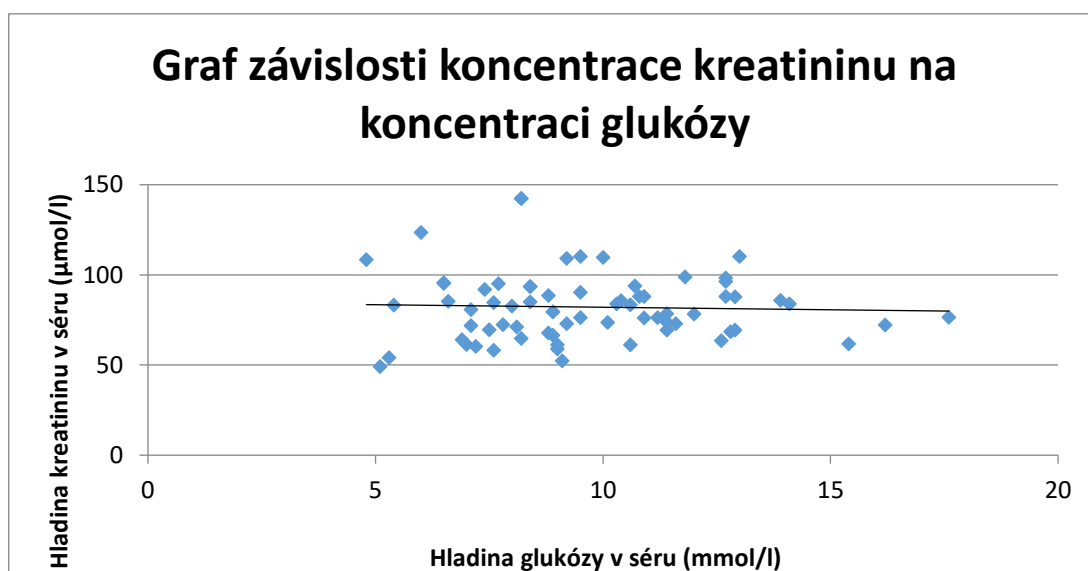
Pohlaví	FH kreatininu v séru	Zvýšená koncentrace S_{kr}	Celkem
Ženy	21	3	24
Muži	43	3	46
Celkem	64	6	70

Při monitorování stavu renálních funkcí se v současné době preferují výpočtové metody eGF. V tabulce 28 jsou pacienti rozděleni do kategorií CKD na základě eGF. Normální nebo vysokou úroveň GF vykazovalo 47,1 % respondentů (33 osob) a sníženou funkci ledvin různého stupně posuzovanou dle eGF 52,9 % (37 osob). Těžké snížení GF či selhání ledvin nebylo ve sledovaném souboru zaznamenáno (Tab. 28). Důvodem je, dle mého názoru, skutečnost, že pacienti s takto závažnou renální poruchou jsou buď hospitalizováni nebo podstupují dialyzační léčbu.

Tab. 28 Rozdělení pacientů do kategorií dle eGFR

	Kategorie CKD	eGF [ml.s⁻¹.1,73 m⁻²]	Počet respondentů	Relativní zastoupení v %
G1	Normální nebo vysoká	≥ 1,50	33	47,1
G2	Mírně snížená	1,00 – 1,49	31	44,3
G3a	Mírně až středně snížená	0,79 – 0,99	4	5,7
G3b	Středně až těžce snížená	0,50 – 0,74	2	2,9
G4	Těžce snížená	0,25 – 0,49	0	0
G5	Selhání ledvin	< 0,25	0	0
Celkem			70	100

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zda existuje vztah mezi úrovní kompenzace a renálními funkcemi u pacientů s DM II. typu. Při ověřování hypotéz jsem se nejprve zaměřila na posouzení závislosti koncentrace kreatininu na koncentraci glukózy v séru a poté na závislost koncentrace kreatininu v séru na koncentraci HbA_{1c} (Obr. 6 a 7).



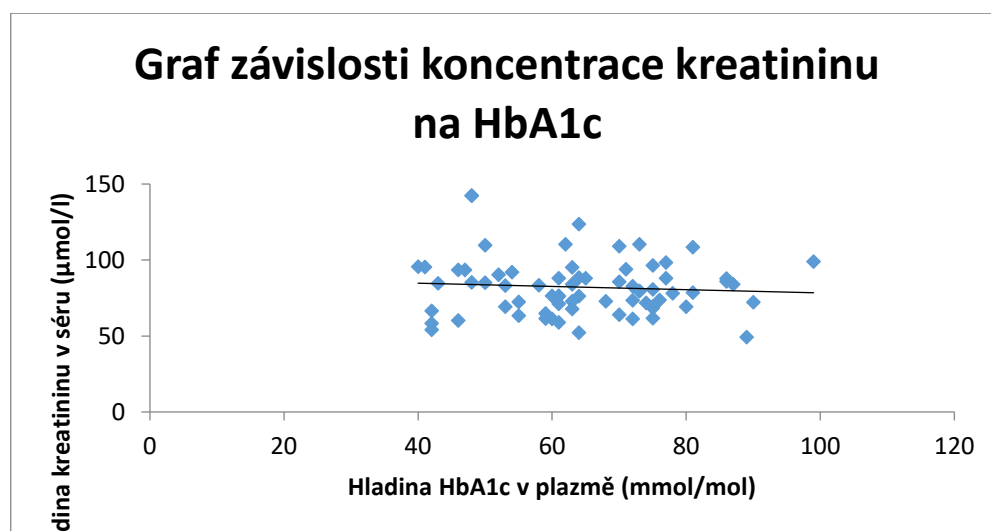
Obr. 6. Závislost mezi koncentrací glukózy a kreatininu v séru

H_0 : Mezi koncentrací kreatininu a glukózy v séru neexistuje statisticky významná závislost

H_A : Mezi koncentrací kreatininu a glukózy v séru existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 84,85725 - 0,28085x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,74003$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto zamítám H_A (nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi koncentrací glukózy a kreatininu v séru).



Obr. 7. Závislost mezi hladinou HbA_{1c} a koncentrací kreatininu v séru

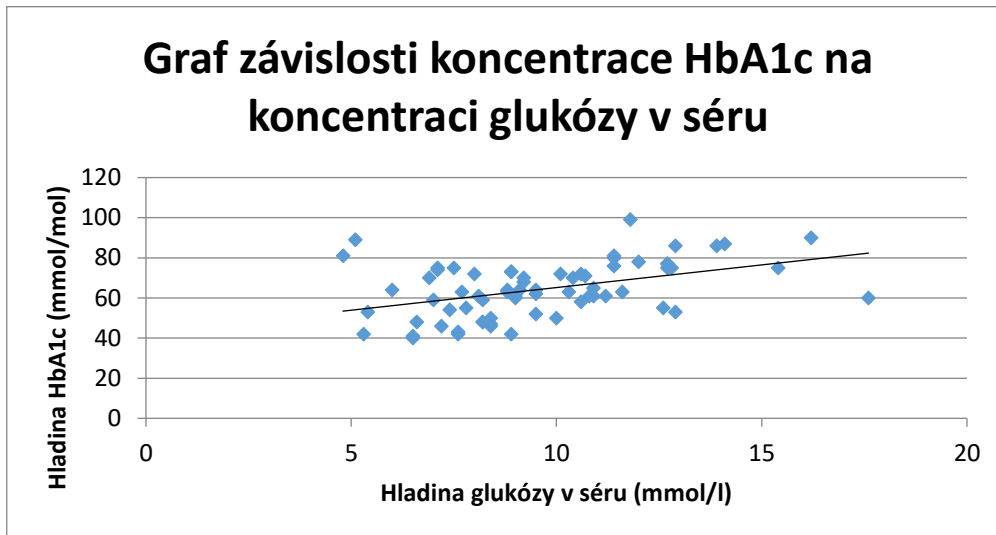
H_0 : Mezi koncentrací kreatininu v séru a hladinou HbA_{1c} neexistuje statisticky významná závislost

H_A : Mezi koncentrací kreatininu v séru a hladinou HbA_{1c} existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 89,00301 - 0,10648x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,522126$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto zamítám H_A . Nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi hladinou kreatininu v séru a HbA_{1c}.

Jednorázově stanovená glykémie udává aktuální koncentraci glukózy v krvi, zatímco HbA_{1c} průměrných glykemiích v uplynulých 6 až 8 týdnech. Obr. 8 zobrazuje závislost hladiny HbA_{1c} na aktuální glykémii.



Obr. 8. Závislost mezi koncentrací HbA_{1c} a glukózy v séru nalačno

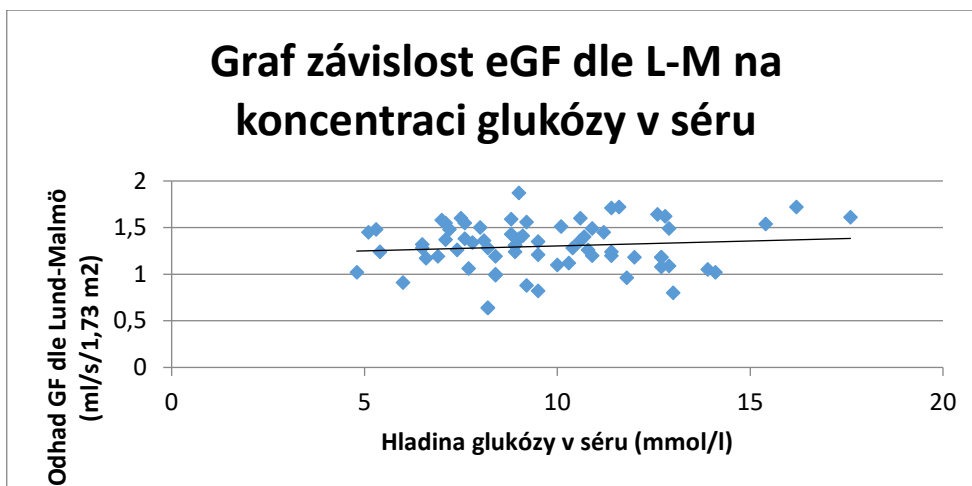
H₀: Mezi koncentrací glukózy v séru a hladinou HbA_{1c} neexistuje statisticky významná závislost

H_A: Mezi koncentrací glukózy v séru a hladinou HbA_{1c} existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 42,58509 + 2,258817x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,000151$, která je menší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto přijímám H_A. Lze prokázat statisticky významnou závislost mezi koncentrací glukózy nalačno a hladinou HbA_{1c}.

Hladina kreatininu je značně ovlivněna množstvím svalové hmoty, věkem a fyzickou aktivitou. Pro posuzování renálních funkcí je proto vhodnější použít výpočtové metody eGF. Obr. 9 znázorňuje vztah mezi eGF vypočtené dle rovnice Lund-Malmö a koncentrací glukózy v séru obr. 10 předkládá vztah mezi eGF vypočtené dle rovnice CDK-EPI a koncentrací glukózy v séru.



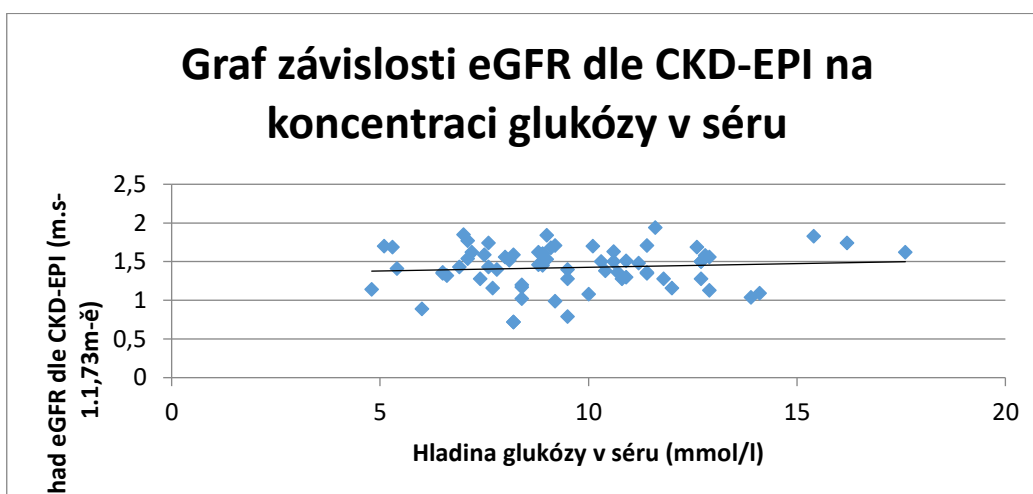
Obr. 9. Závislost mezi koncentrací glukózy v séru a eGF dle Lund-Malmö

H_0 : Mezi eGF dle Lund-Malmö a koncentrací glukózy v séru neexistuje statisticky významná závislost

H_A : Mezi eGF dle Lund-Malmö a koncentrací glukózy v séru existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 1,197373 + 0,010598x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,367648$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto zamítáme H_A . Nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi hladinou glukózy v séru a funkcí ledvin získanou na základě eGF dle Lund-Malmö.



Obr. 10. Závislost mezi koncentrací glukózy a eGFR dle vzorce CKD-EPI

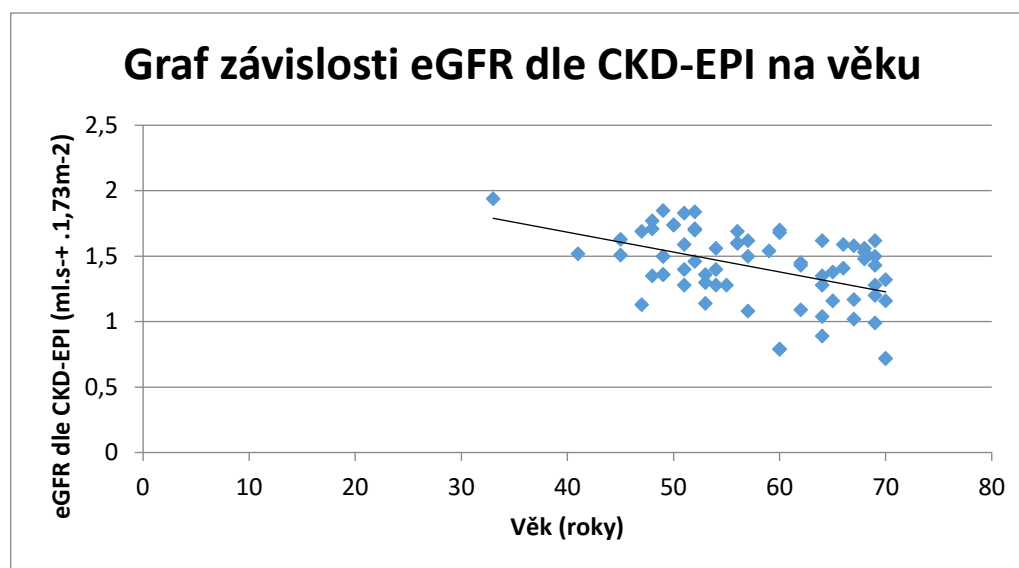
H_0 : Mezi eGF dle CKD-EPI a koncentrací glukózy v séru neexistuje statisticky významná závislost

H_A : Mezi eGF dle CKD-EPI a koncentrací glukózy v séru existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 1,331355 + 0,009544x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,444452$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto zamítám H_A . Nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi hladinou glukózy v séru a funkcí ledvin získanou na základě eGF dle CKD-EPI.

V úvodu diplomové práce byly stanoveny 3 hypotézy. Hypotéza č.2 zněla: Funkce ledvin klesá v závislosti na věku pacienta. Vztah mezi funkcí ledvin posuzovanou dle eGF vypočtené pomocí rovnice CKD-EPI zobrazuje obr. 11.



Obr. 11.

Obr. 11. Závislost eGF dle CKD-EPI na věku

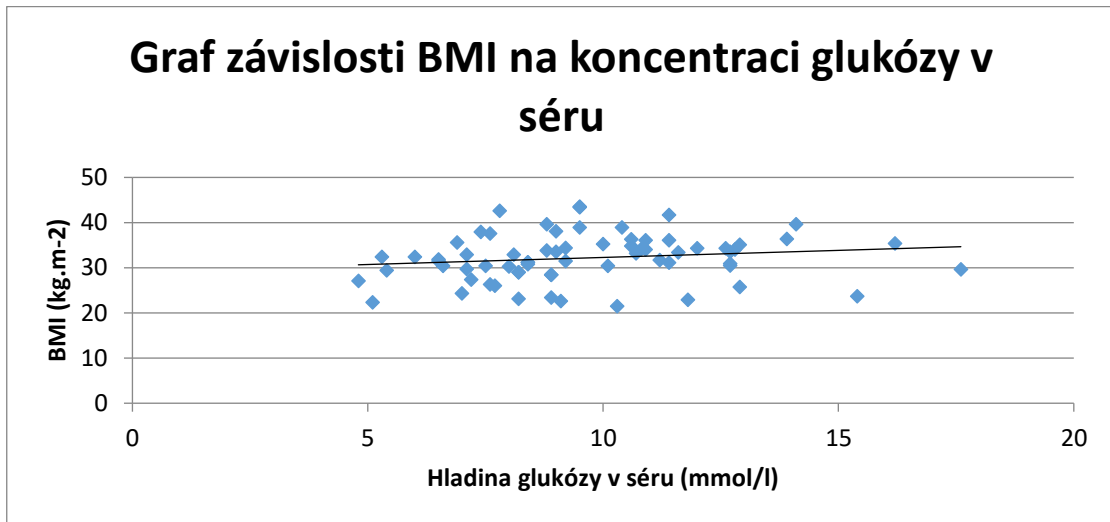
H_0 : Mezi eGF dle CKD-EPI a věkem pacienta neexistuje statisticky významná závislost

H_A : Mezi eGF dle CKD-EPI a věkem pacienta existuje statisticky významná závislost

Lineární regresní přímka: $y = 2,290589 - 0,01519x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 4,55E-05$, která je nižší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto přijímám H_A . Lze prokázat statisticky významnou závislost mezi eGF dle CKD-EPI a věkem pacienta. S přibývajícím věkem dochází k poklesu GF.

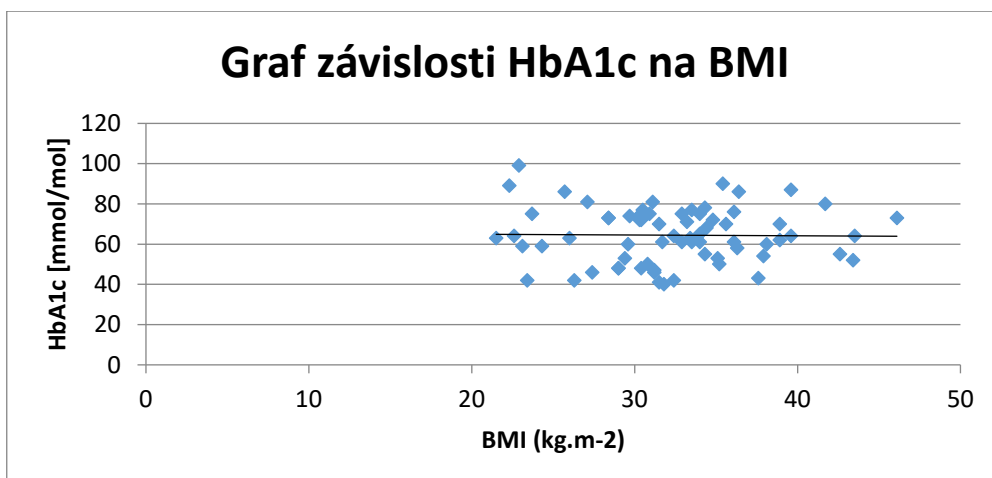
Nadváha nebo obezita patří mezi rizikové faktory, které ovlivňují rozvoj i průběh DM II. typu. Redukce hmotnosti patří mezi nefarmakologické metody léčby diabetu. Opakující se hyperglykémie patří mezi faktory, které přispívají k rozvoji obezity. Na obr. 12 vyjadřuje vztah mezi BMI a koncentrací glukózy v séru, obr. 13 vyjadřuje vztah mezi BMI a HbA_{1c}.



Obr. 12. Závislost eGF dle CKD-EPI na věku

Lineární regresní přímka: $y = 29,15306 + 0,312907x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,188067$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto nezamítáme H_0 o statistické nevýznamnosti regresního parametru. Nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi BMI a hladinou glukózy v séru nalačno.

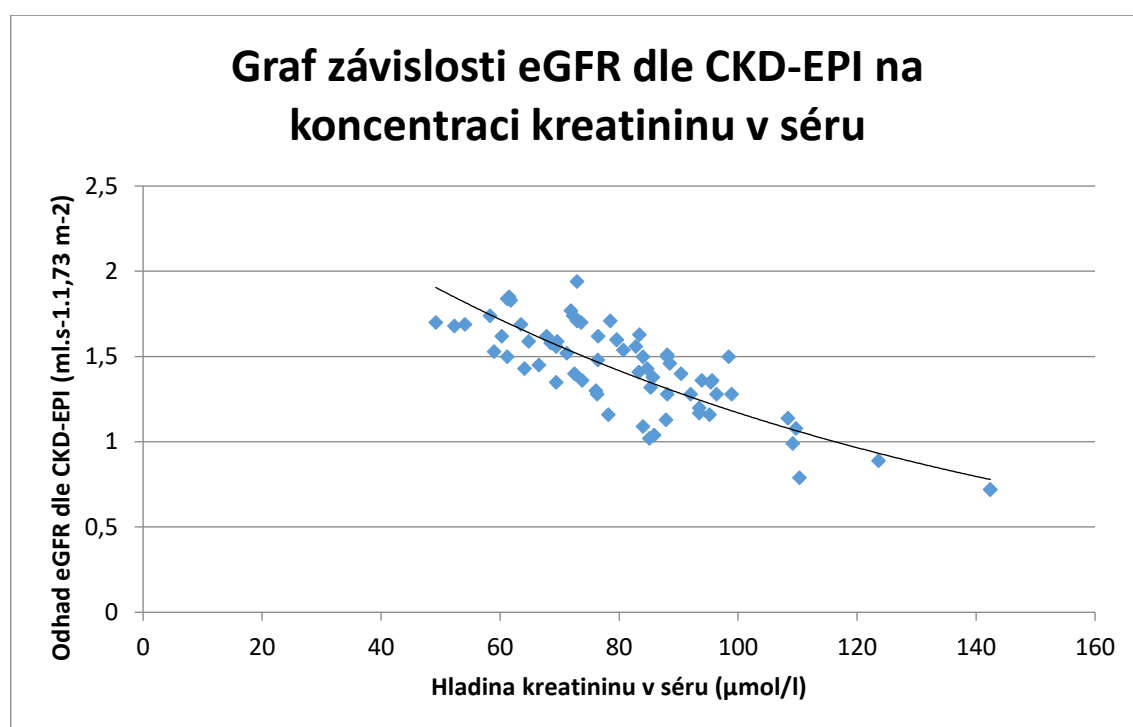


Obr. 13. Závislost eGF dle CKD-EPI na věku

Lineární regresní přímka: $y = 65,6886 - 0,03849x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 0,89963$, která je větší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto nezamítáme H_0 o statistické nevýznamnosti regresního parametru. Nelze prokázat statisticky významnou závislost mezi hladinou glykovaného hemoglobinu a BMI.

Koncentrace kreatininu v séru slouží k odhadu GF nebo jako parametr nutný k výpočtovým metodám eGF pomocí rovnic dle Lund-Malmö nebo CKD-EPI. Na základě studia odborných knih a článků zabývajících se onemocněním ledvin u diabetiků jsem stanovila následující hypotézu: Glomerulární filtrace klesá v závislosti na zvyšující se koncentraci kreatininu v séru. Vzájemná závislost eGF dle CKD-EPI a S_{kr} je znázorněno na obr. 14.



Obr. 14. Závislost eGF dle CKD-EPI na koncentraci kreatininu v séru

Lineární regresní přímka: $y = 2,393592 - 0,01187x$

Na základě statistického testu o regresním parametru získáváme hodnotu $p = 7,45E-17$, která je menší než zvolená hladina významnosti 0,05. Proto zamítáme H_0 o statistické nevýznamnosti regresního parametru. Lze prokázat statisticky významnou závislost mezi hladinou kreatininu v séru a odhadu GF dle rovnice CKD-EPI.

DISKUSE

Diplomová práce je zaměřena na souvislosti mezi funkcemi ledvin a diabetem mellitem. Onemocnění ledvin je nejčastější komplikací u pacientů-diabetiků. Jedním ze základních předpokladů účinné prevence, popřípadě zmírnění následků onemocnění ledvin je optimální kompenzace diabetu mellitu.

Ve výběrovém souboru 70 pacientů (24 žen, 46 mužů) s diabetes mellitus II. typu byly sledovány hodnoty glykémie nalačno a glykovaného hemoglobinu, které jsou považovány za ukazatele kompenzace diabetu. Dále laboratorní parametry, které signalizují možné poškození ledvin (koncentrace kreatininu v séru a odhady glomerulární filtrace vypočtené pomocí rovnic Lund-Malmö a CKD-EPI). Pacienti v době sběru dat nebyli hospitalizováni z důvodu jiného závažného onemocnění, které by ovlivnilo výsledky výzkumu. Horní věková hranice pro zařazení do výzkumu byla zvolena 70 let s ohledem na skutečnost, že pro starší pacienty platí mírnější požadavky na míru kompenzace DM (Svačina 2013).

Z laboratorního informačního systému jsem získala informace o hmotnosti a výšce každého pacienta, vypočítala index tělesné hmotnosti a následně rozdělila pacienty do skupin. Nadváha nebo obezita různého stupně byla zjištěna u 62 diabetiků (tj. u 88,6 %) a fyziologická hmotnost pouze 8 diabetiků (tj. 11,4 %).

Úroveň kompenzace DM byla hodnocena na základě koncentrace glukózy v séru a hladiny glykovaného hemoglobinu. Výborná kompenzace s koncentrací glukózy v séru nalačno v rozmezí 4,0 až 6,0 mmol/l byla zjištěna u 18 osob (25,7 %), uspokojivou kompenzace (6,1 – 7,0 mmol/l) vykazovalo 11 osob (15,7 %). Hodnota glykémie nalačno vyšší než 7,0 mmol/l (neuspokojivá kompenzace DM) byla naměřena u 41 osob (58,6 %). Výbornou kompenzací DM hodnocenou dle hladiny HbA_{1c} vykazovali pouze 4 pacienti (5,7 %), uspokojivou míru kompenzace 18 respondentů (25,7 %) a neuspokojivou míru kompenzace 48 respondentů (68,6 %). Vysoký počet osob s neuspokojivou úrovní kompenzace diabetu hodnocené dle HbA_{1c} může být způsoben přítomností dalších přidružených onemocnění. U polymorbidních pacientů platí méně přísná kritéria hodnocení úrovně kompenzace DM. V případě striktního dodržování přísnějších kritérií, mohou být tito pacienti ohroženi akutní hypoglykemií (Svačina 2013).

Koncentrace kreatininu v séru lze využít k posouzení glomerulární filtrace nebo jako parametr potřebný pro výpočtové metody sloužící k odhadu glomerulární filtrace (Zima 2014). Pacienti byli rozděleni do čtyř skupin: dle pohlaví a fyziologické hodnoty kreatininu v séru. Zvýšená koncentrace kreatininu byla pozorována pouze u 3 žen a 3 mužů. Výsledky odpovídají tvrzení, že koncentrace kreatininu stoupá nad fyziologickou mez až při výraznějším poklesu GF. Hodnocení funkce ledvin pouze na základě koncentrace kreatininu v séru obecně není doporučeno a výsledky měření to pouze potvrdily.

V současné době je preferováno hodnocení stavu renálních funkcí dle odhadu glomerulární filtrace získané výpočtovými metodami (Zima 2014). Zde odpadá sběr moče, který je hlavní zdroj chyb a nepřesných výsledků. Pacienty z výběrového souboru jsem rozdělila do kategorií dle eGF. Normální nebo zvýšená GF ($\geq 1,5 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$) byla zjištěna u 33 osob (47,1 %), mírně snížená GF ($1,0 - 1,49 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$) u 31 osob (44,3), mírně až středně snížená GF ($0,79 - 0,99 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$) u 4 osob (5,7 %) a středně až těžce snížená GF ($0,50 - 0,74 \text{ ml}\cdot\text{s}^{-1}\cdot 1,73\text{m}^{-2}$) pouze u 2 osob (2,9 %). Hodnoty GF odhalující těžké snížení funkcí ledvin nebo selhání ledvin nebyly naměřeny. Příčinu spatřuji v tom, že tito pacienti jsou buď hospitalizováni nebo podstupují dialyzační léčbu.

Diplomová práce si kladla za cíl, zjistit, zda existuje vztah mezi úrovní kompenzace DM a renálními funkcemi. Pomocí regresní analýzy jsem zjišťovala, zda existuje závislost mezi koncentrací kreatininu v séru a glykemií a koncentrací kreatininu v séru a hladinou HbA_{1c} (obr. 6 a 7). Ani v jednom případě nenyla prokázána statisticky významná závislost koncentrace kreatininu na koncentraci glukózy v krvi ani na hladině glykovaného hemoglobinu.

Výpočtové metody eGF jsou považovány za přesnější nástroje ke sledování renálních funkcí. Proto byly následně zjišťovány vztahy mezi eGF vypočtené dle rovnice Lund-Malmö a koncentrací glukózy v séru (obr. 9) a vztahy mezi eGF vypočtené dle rovnice CKD-EPI a koncentrací glukózy v séru (obr. 10) (Pelikánová 2014). Opět nenyla prokázána statisticky významná závislost mezi měřenými veličinami.

Statisticky významné závislosti BMI na koncentraci glukózy (obr. 12) a HbA_{1c} na BMI (obr. 13) nebyly taktéž prokázány.

Naopak byla prokázána závislost HbA_{1c} na koncentraci glukózy v séru (obr. 8), závislost eGF na věku pacienta (obr. 11) a závislost eGF dle CKD-EPI na koncentraci kreatininu v séru (obr. 14).

Problematikou poškození funkce ledvin v souvislosti s DM II. typu se zabývá např. článek v názvem Estimating glomerular filtration rate: Performance of the CKD-EPI equation over time in patients with type 2 diabetes publikovaný časopisem Journal of Diabetes and Its Complications (Wood et al. 2012). V závěru autoři upozorňují na skutečnost, že rovnice CKD-EPI podhodnocuje rychlost poklesu GF u pacientů s DM II. typu.

Závěr

V diplomové práci se mi podařilo splnit všechny stanovené cíle. Předložila jsem přehled o problematice onemocnění ledvin u pacientů s diabetes mellitus a možnostech, které jsou při laboratorní diagnostice nezbytné. Na výběrovém souboru jsme zjišťovala vztahy mezi mírou kompenzace diabetes mellitus a renálními funkcemi.

Hypotézy:

H1: Funkce ledvin klesá v závislosti na stupni dekompenzace diabetes mellitus

- hypotéza nebyla potvrzena
- ve výběrovém souboru nebyla prokázána statisticky významná závislost mezi úrovní kompenzace DM a funkcí ledvin

H2: Funkce ledvin klesá v závislosti na věku pacienta

- hypotéza potvrzena
- ve výběrovém souboru byla prokázána statisticky významná závislost mezi funkcí ledvin a věkem pacienta (se zvyšujícím se věkem funkce ledvin klesají)

H3: Glomerulární filtrace klesá v závislosti na zvyšující se koncentraci kreatininu v séru

- hypotéza potvrzena
- ve výběrovém souboru byla prokázána statisticky významná závislost mezi glomerulární filtrací a koncentrací kreatininu v séru (GF klesá v závislosti na zvyšující se koncentraci kreatininu v séru)

Seznam zkratk

AA	aferentní arteriola
anti GAD	anti-glutamic Acid Decarboxylase antibody
Anti IA2	protilátky proti tyrozinofosfatáze
ADA	Americká diabetologická společnost
ČDS	Česká diabetologická společnost
DM	diabetes mellitus
DN	Diabetická nefropatie
DKD	Diabetic Kidney Disease (Diabetické onemocnění ledvin)
DR	Diabetická retinopatie
DT	distální tubulus
GF	glomerulární filtrace
HbA _{1c}	glykovaný hemoglobin
HK	Henleova klička
ICHS	ischemická choroba srdeční
IR	inzulinorezistence
LADA	Latent autoimmune diabetes of adults
MODY	Maturity onset Diabetes of the Young
PT	proximální tubulus
SK	sběrný kanálek
KT	krevní tlak

Seznam použité literatury a internetových zdrojů

- Beránek M., Tichý M. a kol. (2013) Vybrané kapitoly z klinické biochemie, Karolinum, Praha.
- Bouček P. (2008) Diabetická nefropatie. *Medicína pro praxi*, 5(9): 312-314
- Bouček P. (2012) Péče o nemocné s diabetem a postižením ledvin. *Remedia* 2012: 22, 345 - 350
- Friedecký B. a kol. (2019) Diabetes mellitus – laboratorní diagnostika a sledování stavu pacientů. *Klinická biochemie a metabolismus* 1/2019, 32 – 47
- Haluzík M. (2009) Diabetes mellitus a jeho komplikace. *Medicína po promoci* 4/2009
- Haluzníková J. a Břegová B. (2019) Ošetřovatelství v nefrologii, 1. vydání, Grada, Praha.
- Janíková J. (2017) Patologie pro střední zdravotnické školy, 1. vydání, Grada, Praha.
- Kalousová M. a kol. (2006) Patobiochemie ve schématech, Grada, Praha.
- Karen I. a kol. (2018) Diabetes mellitus – Doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné lékaře 2018. Praha
- Konrádová V., Vajner L. a Uhlík, J. (2005) Histologie. H and H, Praha.
- Kopáč J. (2004) Lékařská laboratorní diagnostika. Polygra, Turnov.
- Kvapil M. (2009) Hodnocení kompenzace diabetu – Význam glykovaného hemoglobinu. *Kapitoly z kardiologie* 4/2009
- Levková T. (2005) Cvičení z klinické biochemie. Astraprint, Hradec Králové
- Mačák J., Mačáková J. a Dvořáčková J. (2012) Patologie. 2. doplněné vydání. Grada, Praha.
- Monhart V. (2015) Diabetes mellitus, ledviny a hypertenze. *Medicína po promoci* 2/2015
- Mourek J. (2017) Fyziologie. 2. doplněné vydání, Grada, Praha.
- Mottl R. (2001) Diabetes mellitus s vaskulárními komplikacemi. *Interní medicína pro praxi* 2001/12, 559-563

- Olšovský J. (2018) Diabetes mellitus 2. typu. druhé aktualizované a doplněné vydání, Maxdorf, Praha
- Pelikánová T. a kol. (2018) Doporučené postupy při diabetickém onemocnění ledvin. Klinická biochemie a metabolismus, 1/2018, 43 – 54
- Pitřhová P. (2006) Akutní komplikace diabetes mellitus. Interní medicína 2009, 12, 523 - 525
- Průša R. a kol. (2012) Průvodce laboratorními nálezy. Raabe, Praha.
- Racek J. a kol. (2006) Klinická biochemie. Galén, Praha. 2006
- Račická E. (2016) Léčba diabetika 2. typu s renální insuficiencí. Interní medicína pro praxi, 18(2): 91 - 94
- Reiterová J. (2008) Genetické aspekty nefrologických onemocnění. Medicína pro praxi 2008, 5(11), 423 - 425
- Rychlík I. (2008) Epidemiologie diabetické nefropatie. Vnitřní lékařství 2008, 54(5), 488 - 493
- Rosolová H. (2013) Diabetes mellitus a kardiovaskulární choroby,
- Rosypal S. a kol. (2013) Nový přehled biologie. Scientia, Praha, 2003
- Rybka J. (2007) Diabetes mellitus – komplikace a přidružená onemocnění. Grada, Praha.
- Rybka J. (2008) Monitoring glykemického stavu – základní kámen kontroly kompenzace diabetu v ordinaci PL. Medicína pro praxi 5(10), 362 - 366
- Schneiderka P. a kol. (2000) Kapitoly z klinické biochemie, Karolinum, Praha.
- Silbernagl S. a Lang F. (2012) Atlas patofyziologie. překlad 2. anglického vydání, Grada, Praha.
- Sosna T. (2009) Diabetická retinopatie. Medicína pro praxi 2009, 6(5)
- Štříteský J. (2001) Patologie, Epava, Olomouc.
- Štern P. (2005) Obecná a klinická biochemie. Karolinum, Praha.
- Svačina Š. (2013) Doporučené postupy v léčbě starších pacientů s diabetes mellitus v ČR. Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa, 2/2013, 82 - 89

Tesař V. (2002) Diabetická nefropatie – nové možnosti léčby. Interní medicína 2002/2, 55 - 55

Tesař V. (2008) Vyšetření ledvin u diabetika. Vnitřní lékařství, 54(5), p. 494 - 498

Tesař V. a Viklický O. (2015) Klinická nefrologie, 2. přepracované a doplněné vydání, Grada, Praha.

Trojan S. a kol. (2003) Lékařská fyziologie. Grada, Praha.

Viklický, O. a kol. (2014) Doporučení k diagnostice chronického selhání ledvin. Nahrazeno: Zima 2014

Wood, Anna J et al. (2016) Estimating glomerular filtration rate: Performance of the CKD-EPI equation over time in patients with type 2 diabetes. Journal of Diabetes and Its Complications January-February 2016 30(1), 49 - 54

Zakiyanov O., Vachek J. a Tesař V. (2014) Chronické onemocnění ledvin – novinky v klasifikaci a terapii. Pro lékaře, 16 (1), 49 - 52

Žabka J. (2008) Pacient s proteinurií, léčba. Interní medicína, 10(2), 62 - 63

Zima T. (2002) Laboratorní diagnostika. Galén, Praha.

Zima T. a kol. (2014) Doporučení k diagnostice chronického selhání ledvin (odhad glomerulární filtrace a vyšetřování proteinurie). Klinická biochemie a metabolismus, 3/2014: 138 – 152

www.fbtl.cz/skripta/vii-vylucovaci-soustava-a-acidobazicka-rovnovaha/1-funkcni-morfologie-ledvin/

www.leporelo.info/nefron

www.medesa.cz

www.prf.jcu.cz

www2.ikem.cz/plm_lp/_LP_17339-L0000006.htm