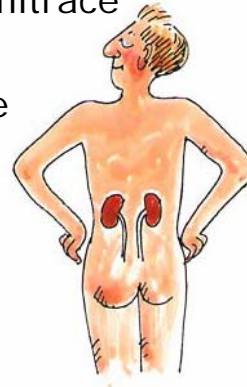


Patofyziologie vylučovacího systému

Perfuze ledvin a glomerulární filtrace
Clearance látek
Sekundární renální hypertenze



1

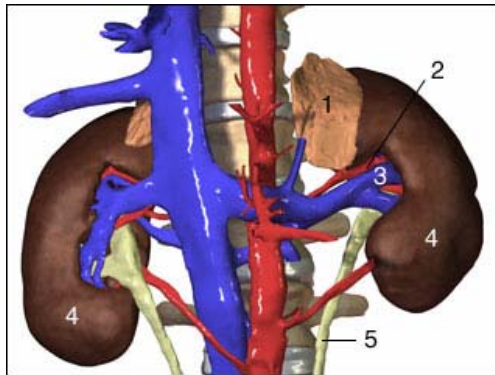
Funkce ledvin

- regulace
 - extracelulárního objemu
 - tonicity a osmolarity
 - acidobazické rovnováhy
 - dusíkového metabolismu
 - homeostázy kalcia a fosfátů
 - hematokritu
- ledvinou protéká cca 1200 ml/min, což představuje ~20-25% srdečního výdeje
 - průtok kůrou >>> dření ledvin
- ale arteriovenózní rozdíl v saturaci hemoglobinu je velmi malý
 - při 100% saturaci Hb O₂ v arteriální krvi je saturace Hb ve venózní krvi vytékající např. ze srdce 35%, u mozku 50%, ale v ledvině celých 90%
 - velká perfuze ledviny tedy primárně slouží regulačním účelům a ne nutrici



2

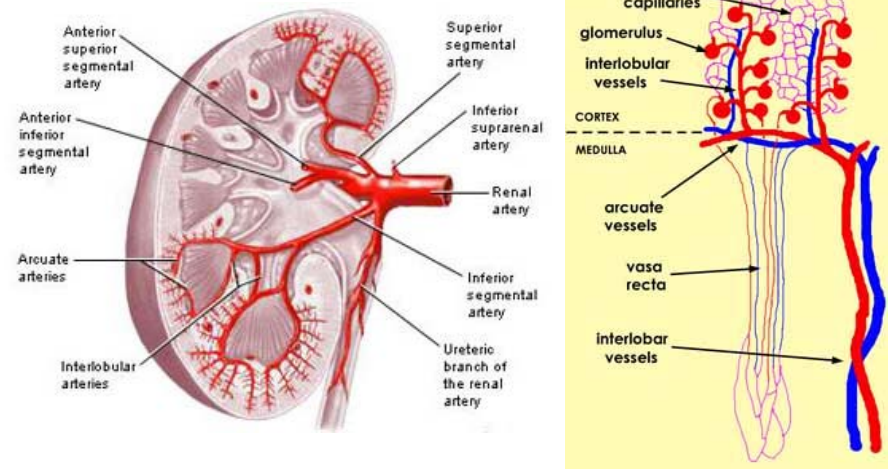
Krevní zásobení ledviny



- a. renalis →
- aa. interlobares →
- aa. arcuates →
- aa. interlobulares →
- afferentní arterioly →
- glomerulární kapiláry →
- eferentní arterioly →
 - peritubulární kapilární síť (u kortikálních nefronů)
 - vasa recta (u juxtamedulárních nefronů)

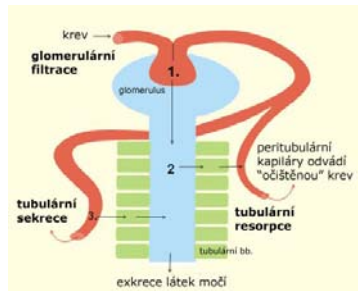
3

Krevní zásobení ledviny

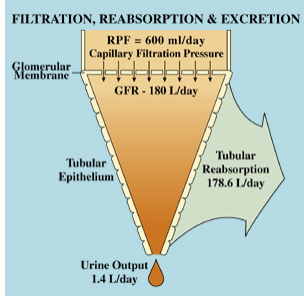


4

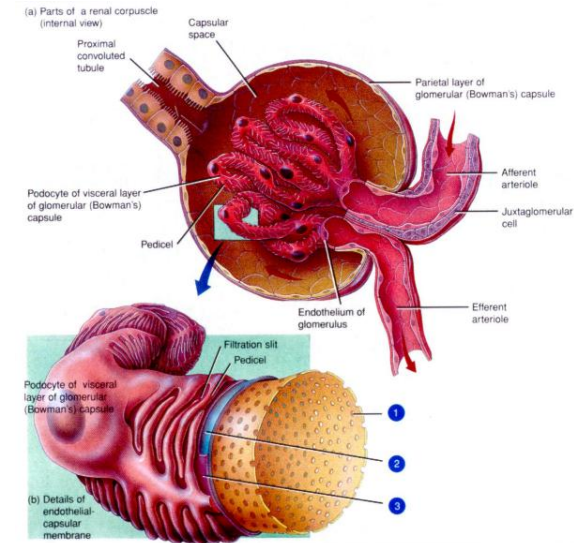
Nefron – zákl. transportní procesy



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

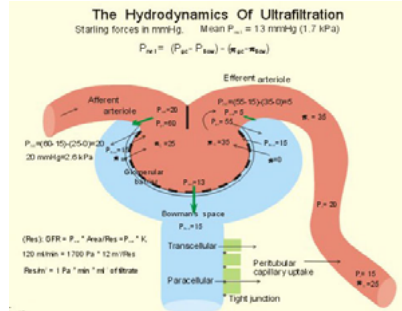
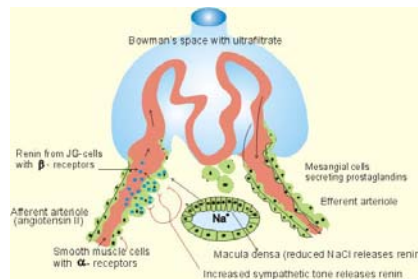


Filtrační membrána



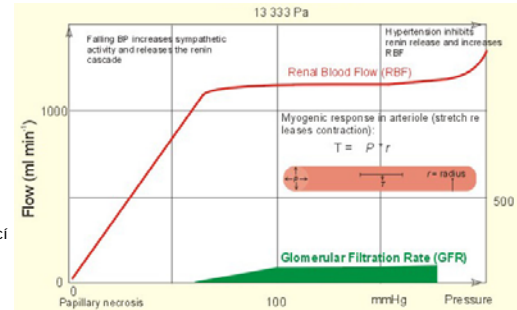
Glomerulární filtrační rychlost (GFR)

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



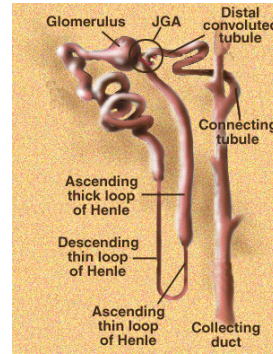
Regulace krevního průtoku v ledvině

- systémový tlak
 - v rozmezí 80 – 160 mmHg se udržuje poměrně stabilní RBF díky autoregulaci
 - při významném poklesu selhává perfúze ledviny (→ ischemie, nekróza)
- autoregulace RBF
 - (1) myogenní regulace
 - SMC aferentní a eferentní arterioly detekují tenzi a upravují rezistenci svou kontrakcí
 - (2) tubuloglomerulární zpětná vazba
 - **juxtaglomerulární aparát** detekuje event. změny NaCl koncentrace a uvolňuje renin
 - aktivace lokálního RAS zajišťuje kontrakci nejdříve eferentní arterioly a tím zvýší filtrační tlak (při vyšších koncentracích AT II pak aferentní)
- další parakrinní faktory
 - prostaglandiny, adenosin a NO
- sympatikus
 - noradrenalin z adrenergických nerv. zakončení a cirkulující adrenalin z dřeně nadledvin působí konstrikcí aferentní a eferentní arterioly (α_1 -receptory)
 - pokles RBF a GFR
 - noradrenalin stimuluje uvolnění reninu z granulárních JG-bb. (β_1 -receptory) a tím aktivaci systémového RAS
 - noradrenalin zvyšuje reabsorpci Na+ v prox. tubulu
- systémový RAS



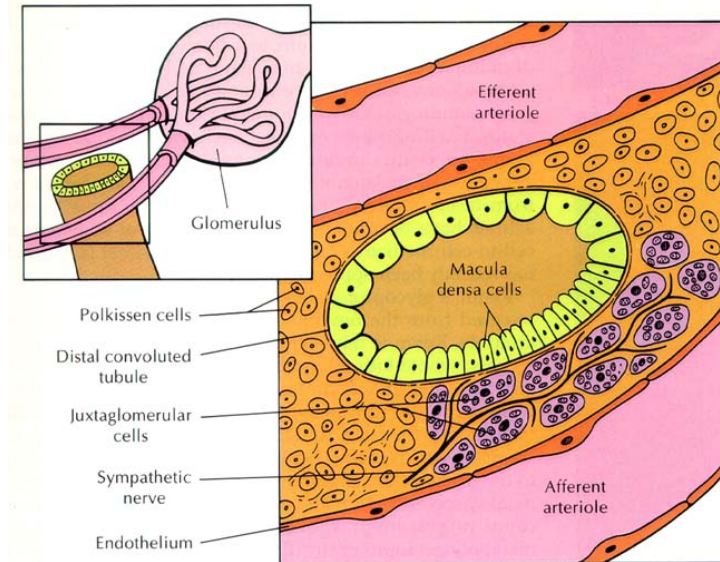
Juxtaglomerulární aparát

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



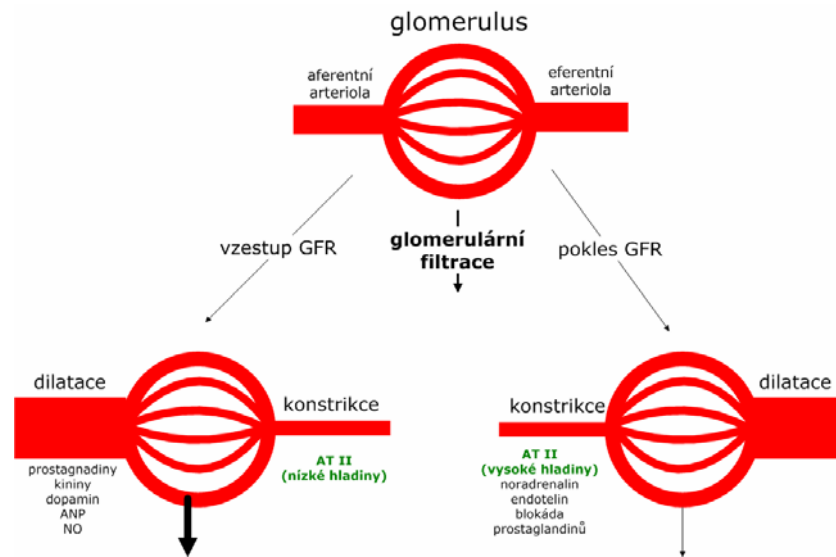
9

Juxtaglomerulární aparát



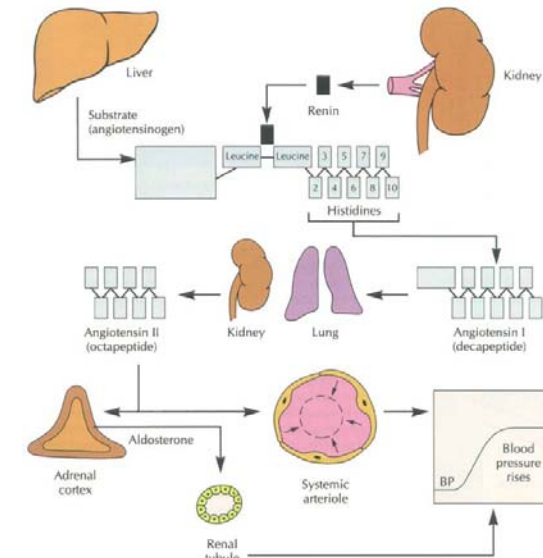
10

Efekt ATII na GFR je závislý na dávce



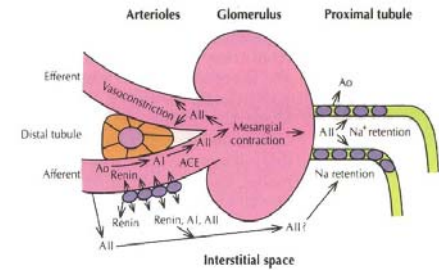
11

Systémový RAAS

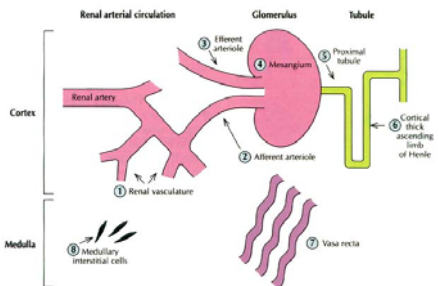


12

Hlavní efekty RAAS v ledvině



- angiotensinogen v ledvině je původu systémového (z jater) a rovněž produkovaného lokálně (proximální tubulární bb.)
 - renin je z JG-bb. uvolňován do aferentní arterioly a renálního intersticia, kde tvoří AT I z cirkulujícího angiotensinogenu a dále AT II pomocí cirkulujícího ACE
 - parakrinní efekty
 - kontrakce mesangia
 - kontrakce eferentní arterioly
 - reabsorpce Na v proximálním tubulu



- spodní obrázek
 - 1-vazokonstrikce
 - 2-omezené vazokonstrikce a inhibice tvorby a uvolňování reninu
 - 3-preferenční vazokonstrikce
 - 4-kontrakce
 - 5 a 6-Na⁺ reabsorpce
 - 7-vazokonstrikce
 - 8 -efekt neznámý

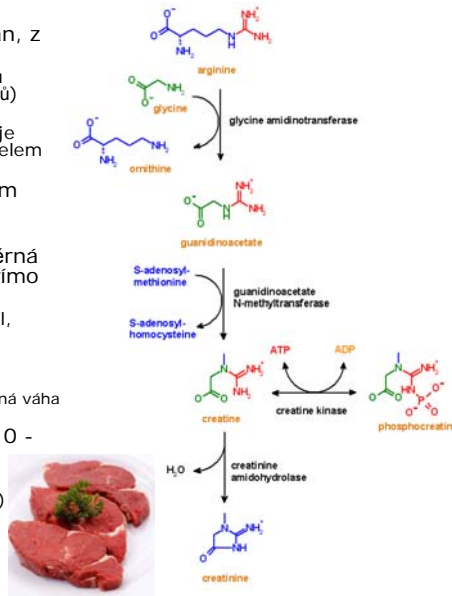
Perfuze ledvin a GFR

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



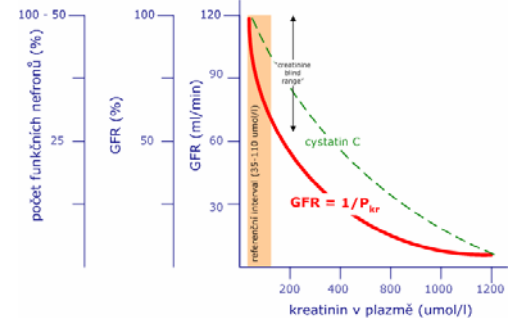
Kreatinin

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



Vztah plazmatické hladiny kreatininu a GFR

- CAVE – GFR významně neklesá při ztrátě do cca 50% funkčních glomerulů nelineární závislost [K_{kr}] a GFR
- při progresivním postižení ledvin (>50% funkčních glomerulů) není iniciální pokles GFR (do cca 50%) provázen významnějším vzestupem [K_{kr}]
 - při dalším poklesu začínou plazm. hladiny růst strměji
- odhadnutý (estimated) GFR (eGFR)
 - výpočet GFR podle plazmatických hladin kreatininu, věku a hmotnosti
 - Cockcroft-Gault rovnice →
 - násobeno ×0.85 pro ženy, ×1.0 pro muže



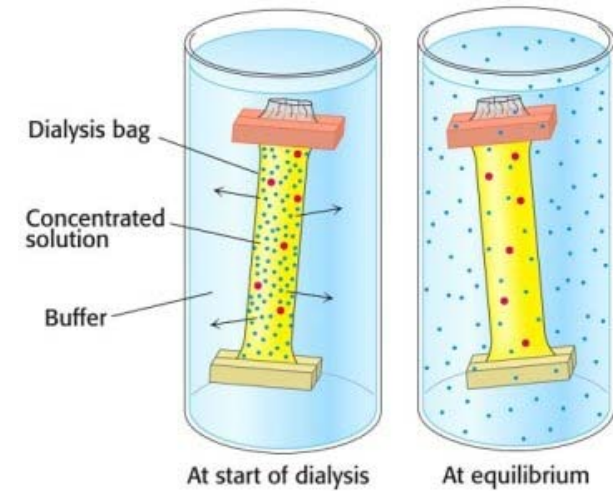
$$C_{kr} = \frac{(140 - \text{vek}) \cdot \text{hmotnost}}{49 \cdot P_{kr}}$$

Chronická choroba ledvin (CKD)

- progresivní, typicky roky trvající pokles funkce ledvin = ↓ GFR (norma ~120 ml/min)
- stadia
 - 1 = GFR >90 ml/min
 - 2 = GFR 60 – 89 ml/min (mírné)
 - 3 = GFR 30 – 59 ml/min (střední)
 - 4 = GFR 15 – 29 ml/min (těžké)
 - 5 = GFR <15 ml/min (stadium konečného selhání ledvin, angl. end-stage renal disease, ESRD)
 - nutná náhrada funkce ledvin (hemodialýza, peritoneální dialýza, transplantace)
- etiologie
 - 75% - diabetická nefropatie + hypertenze + chron. glomerulonefritidy (autoimunitní)
 - další - polycystická choroba ledvin, aterosklerotické, obstrukční (kameny), refluxní (prostata), HIV, ...

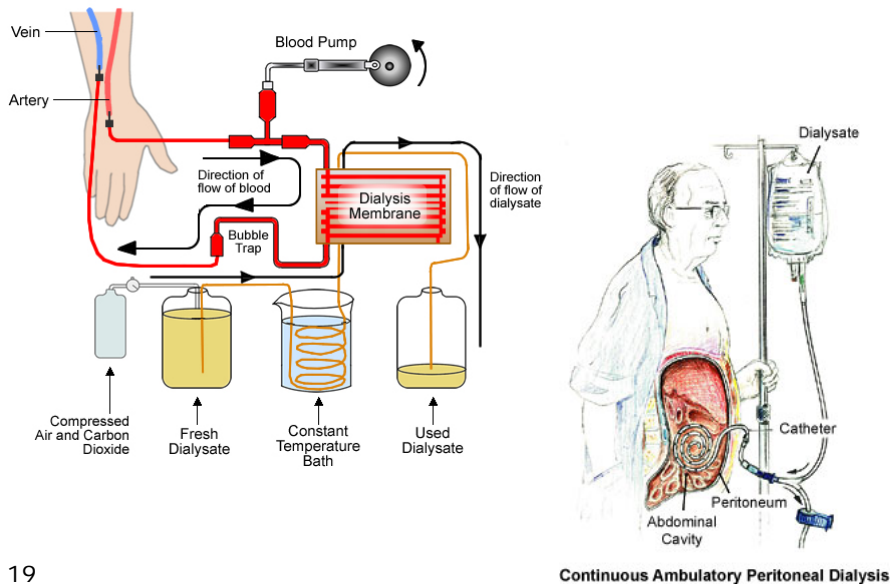
17

Princip dialýzy



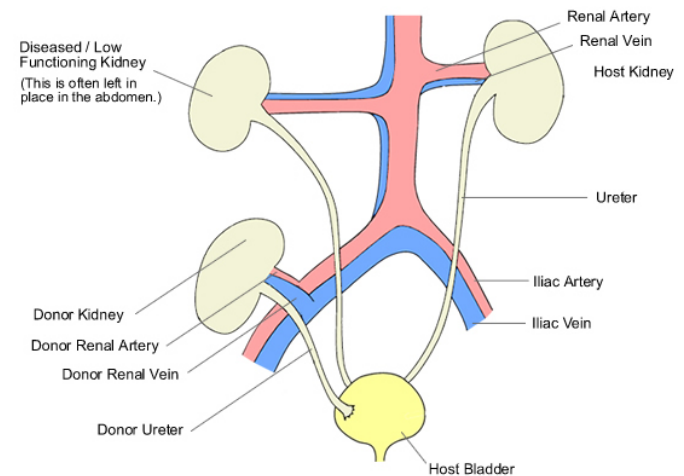
18

Náhrada funkce ledvin (HD vs. PD)



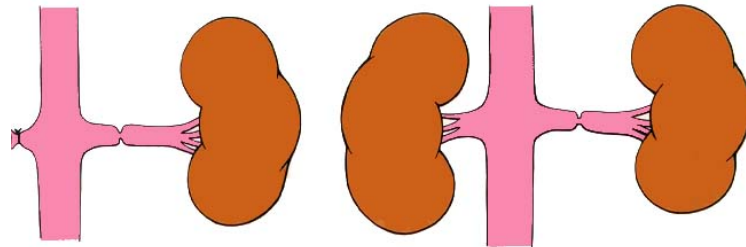
19

Transplantace ledvin



20

Renovaskulární hypertenze



- typ sekundární hypertenze
- 2 ledviny / 1 stenóza = **HYPERTENZE**
 - hypertenze (presorický efekt ATII), ale zachovalá regulace ECV a složení (presová natriuresa v kontralaterální ledvině)
- 1 ledvina / 1 stenóza = **HYPERTENZE**
 - hypertenze (presorický efekt ATII) + porucha regulace ECV a složení
- 1 ledvina / 0 stenóza = **NORMOTENZE**
 - normální tlak + zachovalá regulace ECV a tlaku a složení

21

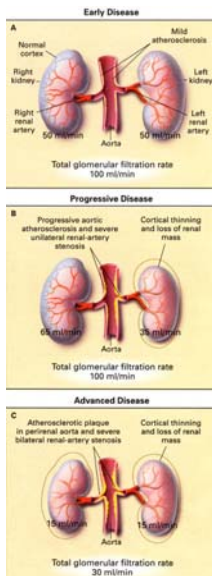
Patofyziologie

- ačkoliv hypertenze je přítomná u obou typů (viz obrázek), v dalších parametrech se oba typy liší
 - u typu "1 ledvina/1 stenóza" je normální až nízká hladina reninu v plazmě a zvýšený objem plazmy (diluce reninu)
 - ledvina je perfundovaná větším tlakem
 - u typu "2 ledviny/1 stenóza" je zvýšená hladina reninu a normální objem plazmy
 - event. expanze volumnu jako důsledek působení aldosteronu je upravena zdravou ledvinou, ale presorický efekt AT II zůstává

Renin content of kidney	No change	Decreases on contralateral side	Increases on stenotic side
Blood pressure	Significantly increases	Significantly increases	
Plasma renin activity	No change or decreases	Significantly increases	
Plasma volume	Increases	No change	
Blood pressure after block of angiotensin II	No change	Decreases	

22

Stenóza renální arterie



- typické příčiny renovaskulární hypertenze:
 - ateroskleróza
 - spíše starší osoby
 - fibromuskulární hyperplazie
 - mladší ženy

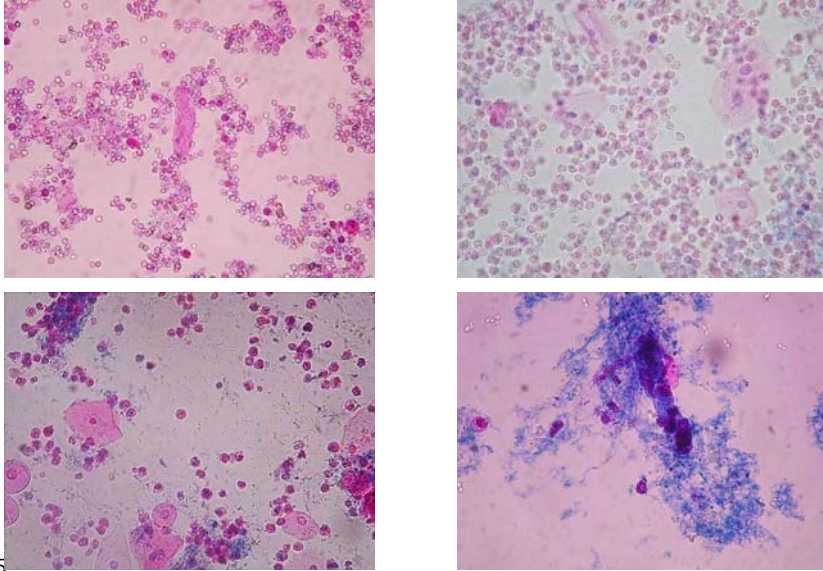


Analýza moči pro dg. účely

- kvalitativní (chemicky) = orientačně indikátorovými **papírky**, přesněji **fotometricky**
 - pH
 - specifická hmotnost
 - přítomnost bílkoviny [proteinurie]
 - přítomnost krve [hematurie]
 - přítomnost hnisu [pyurie] (esterázová zkouška)
 - přítomnost bakterií [bakteriurie] (nitritová zkouška)
- kvantitativní (mikroskopické) = **močový sediment**
 - erytrocyty
 - erythrocyturie (>5 Ery/ μ l) glomerulární (dysmorfní Ery) \times subglomerulární (isomorfní Ery, proteino-erythrocytární disociace)
 - leukocyty
 - leukocyturie (>10 Leu/ μ l) při infekcích moč. cest \times glomerulonefritidy
 - epitelové bb. (prox. tubulus)
 - válce (cylindrurie) – jednoznačně z moč. cest!
 - hyalinní (= protein)
 - masivně při proteinurii
 - granulované (= Tamm-Horsfallův protein + buňky)
 - masivně při tubulární nekróze
 - buněčné
 - erytrocytové, leukocytové, epitelové
 - tukové (= lipidurie)
 - nefrotický syndrom
 - krystaly (podle pH kyselá a alkalická)
 - uráty
 - oxaláty

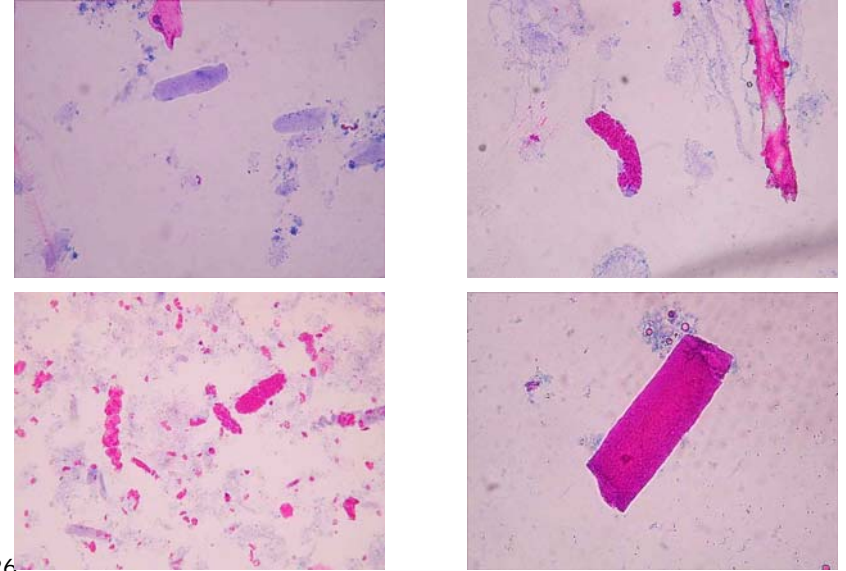
24

Močový sediment - buňky



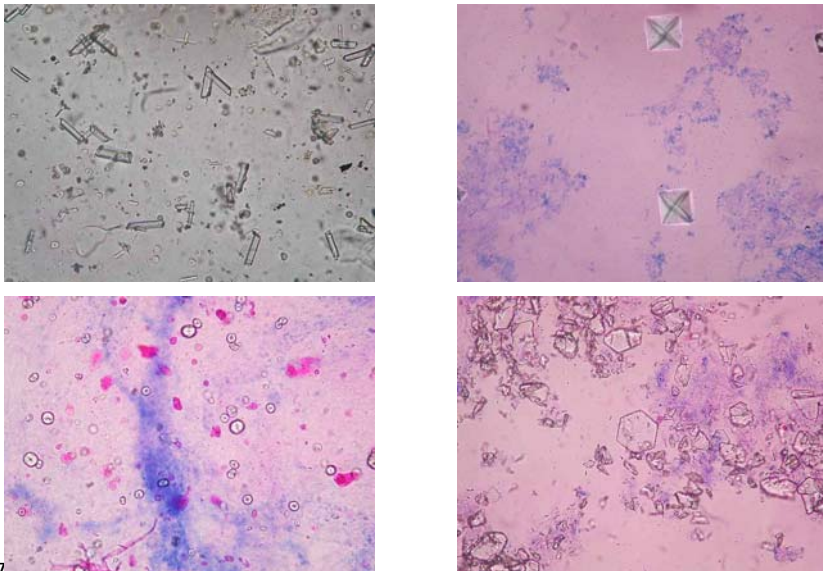
25

Močový sediment - válce



26

Močový sediment - krystaly



27

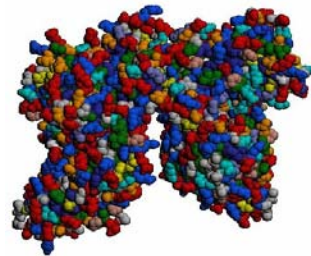
Proteiny tvořené tubulárními buňkami ledvin

- Tamm-Horsfallův protein (uromodulin)
 - bb. asc. raménka Henleovy kličky
 - glykoprotein
 - funkce nejasná
 - imunomodulace, ochrana před krystaly a infekcí
 - hl. součást hyalinních válců
- uropontin
- nephrocalcin

28

Glomerulární filtrace proteinů

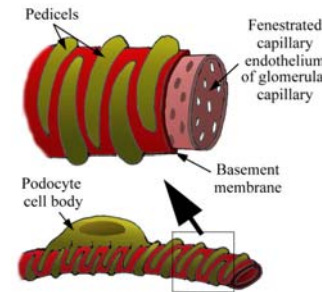
Struktura a funkce glomerulární filtrační membrány
 Filtrace a reabsorpce albuminu
 Albuminurie, proteinurie a nefrotický syndrom



29

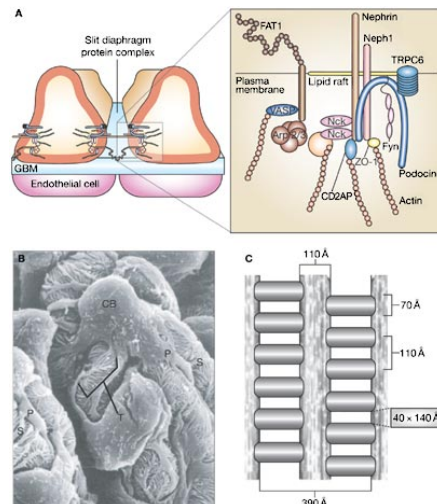
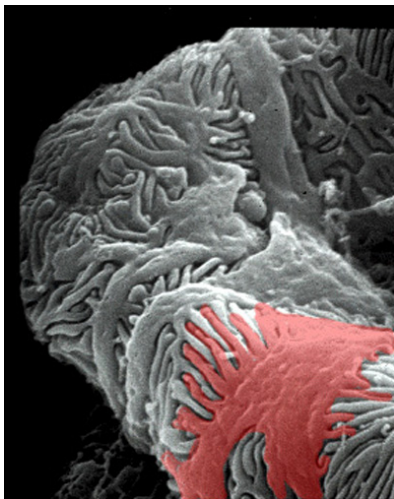
Glomerulární filtrační membrána

- vlastnosti – size-/charge-selectivity
 - limit mol. velikosti ~70kDa
 - menší proteiny s negativním nábojem
- struktura
 - (1) endotel
 - fenestrace – filtr ~50-100nm Ø
 - separace zejm. kr. buněk
 - (2) glom. bazální membrána (GBM)
 - síť (glyko)proteinů (kolagen IV, laminin, entactin, agrin, ...) a mukopolysacharidů tloušťky ~300nm se sumárním negativním nábojem
 - velikostní a separace většiny proteinů >70kDa (~4nm Ø)
 - neg. náboj – heparansulfáty, kys. hyaluronová a sialová
 - » albumin (~67kDa) ano/ne
 - » hemoglobin (~40kDa) ano
 - » myoglobin (~17kDa) ano
 - » β2-mikroglobilin (12kDa) ano + secernován
 - » paraprotein (<70kDa) ano
 - (3) viscerální epitel Bowmanova pouzdra = podocyty
 - prim., sec. a tert. foot proceses (pedikly)
 - slit diaphragm (cell-cell junction)
 - významně se podílí se na velikostní (i nábojově) separaci proteinů
 - (4) mesangium
 - nepřímo ovlivňuje filtraci proteinů – při kontrakci zvyšuje filtrační tlak



30

Podocyty – štěrbinová membrána

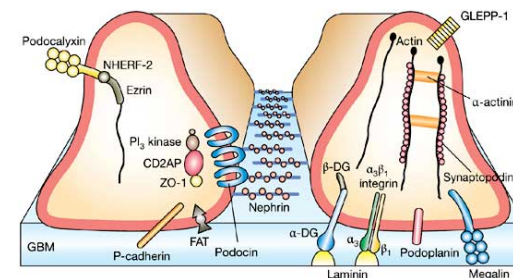


Johnstone DB and Holzman LB (2006) Clinical impact of research on the podocyte slit diaphragm. *Nat Clin Pract Nephrol* 2: 271–282 doi:10.1038/ncpneph0180

31

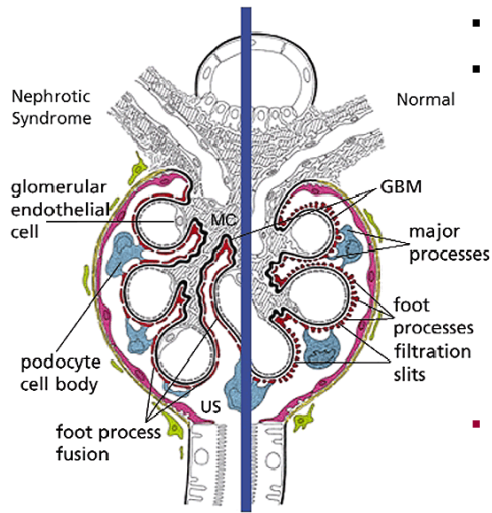
Proteiny štěrbinové membrány

- (1) bazální doména - ukotvení k GBM
 - integriny
 - DG = dystroglycan
- (2) cytoskelet - tvar
 - actin
 - myosin
 - synaptopodin
 - actinin
- (3) junkční doména – slit diaphragm
 - nefrin
 - Neph1
 - podocin
 - CD2AP = CD2-associated protein
 - ZO-1 = zona occludens-1 protein
 - densin
 - FAT = mammalian homolog of *Drosophila fat* protocadherin
- (4) apikální doména – neg. náboj
 - podocalyxin
 - podoplanin
 - podoendin
 - GLEPP-1 = glomerular epithelial protein-1
 - další proteiny a receptory (NHERF-2 = Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor-2, ...)



32

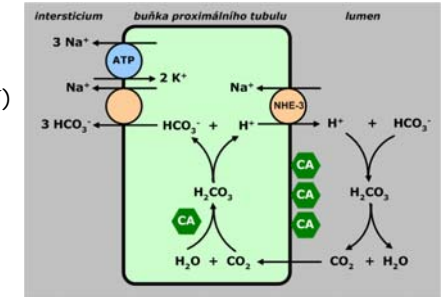
Foot-process effacement



- "vyhlazení" podocytů - univerzální známka poškození podocytů
- koreluje s proteinurií
 - "slepice či vejce"?
- variabilní etiologie poškození podocytů
 - ROS
 - DNA poškození, apoptóza, peroxidace lipidů
 - AT II
 - apoptóza, hypertrofie, ↑ TGF-β, ↓ nefrin
 - MMPs
 - ↓ GBM, ↓ nefrin-Neph komplex
 - PG
 - ER stress
 - mechanický stress
 - apoptóza, hypertrofie
 - růstové faktory
 - ↑ MMPs, GBM, ...
 - hyperglykemie
 - ↓ neg. nabitě apikální proteiny
- **zánik podocytů ⇒ proteinurie ⇒ glomeruloskleróza**
 - synechie mezi obnaženou GBM a parietálním epitelem Bowmannova pouzdra → sklerotizace (FSGS)

Kinetika filtrace albuminu

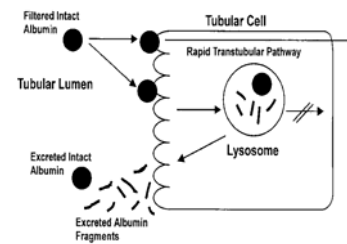
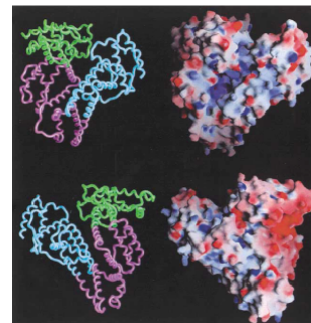
- RPF ~700ml/min → GFR ~120ml/min = ~180l/den
 - obsahuje ~ 7.2kg albuminu při ~40g/l v plazmě (70g/l CB)
 - denní ztráty moči ~25-40mg (tj. ~99.9% zadrženo)
 - množství vyloučeného albuminu je určeno kombinovaným efektem omezené filtrace, tubulární reabsorbce a tubulární degradace
- při stejné GFR (~180l/d) je reabsorbováno 1.7kg NaCl/den
 - ~70% v prox. tubulu účinkem NHE-3 transportéru
 - SHR (spontánně hypertenzní) krysy (3× ↑ aktivita)/ human EH (↑ aktivita + efekt ATII)
 - vztah hypertenze - albuminurie



34

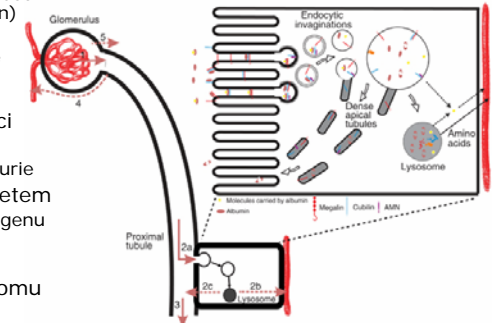
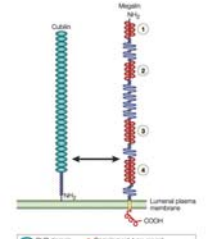
Human serum albumin (HSA) paradox

- HSA ~65kDa
- obsahuje ~185 nabitých reziduí (Asp, Glu, Lys)
 - jejich povrchová distribuce a výsledný náboje je variabilní vzhledem k mnohočetným funkcím, která albumin fyziologicky zastává
 - transport (FFA, bilirubin, Ca, Mg, hormony, léky, vitaminy, ...)
 - pufr / ABR
 - enzymová aktivita (antioxidační, esterázová)
 - onkotický tlak / TK
 - AK pool
- nakládání ledvin s albuminem
 - (1) omezená filtrace (?)
 - elektrostatická repulze albuminu nebyla exp. prokázána
 - koncepce byla dominantně postavena na nepřítomnosti albuminu v moči
 - (2) tubulární reabsorbce
 - transcytóza = retrieval (~500g/den)
 - kvantifikace [³H] albuminu ve v. renalis
 - endocytoza = degradace (→ AA)
 - (3) tubulární degradace
 - fragmenty <10kDa nezachyceny klasickými detekčními metodami
 - **celk. ztráty albuminu (~25mg) + fragmenty (~1.3g/den) a dalších proteinů = ~2g/den**



Prox. tubulární re-uptake albuminu

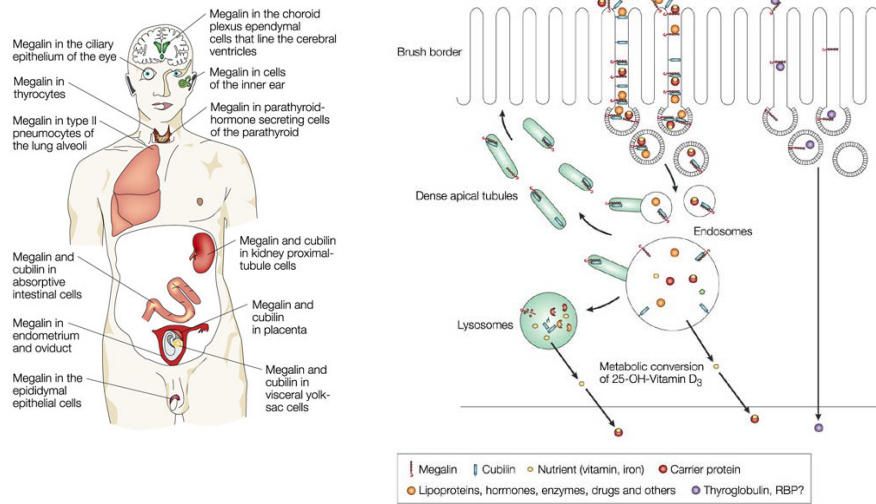
- receptor-mediated endocytosis
 - vysoká kapacita/nízká afinita
 - stejný mechanismus je využíván i jinde (např. při absorpci komplexu vit. B₁₂/intrinsic faktor v ileu)
 - interference se reabsorbci Na⁺ a HCO₃⁻ !!!
 - možné vysvětlení vztahu hypertenze a albuminurie (= kompetice o stejný mechanismus)
 - endocytický komplex
 - megalin/cubilin – vazba albuminu
 - Imlerslund-Graesbeck disease (mutace v genu pro cubilin) - proteinurie
 - Fanconi syndrom (mutace v genu pro megalin) - proteinurie
 - NHE3 – nutný pro acidifikaci endosomu/lysozomu
 - NHE3 KO zvířata - proteinurie
 - CIC5 – interakce s cytoskeletem
 - Dent's disease (mutace v genu pro CIC5) - proteinurie
 - H-ATPase - nutný pro acidifikaci endosomu/lysozomu



36

35

Megalin/cubilin



37

Proteinurie

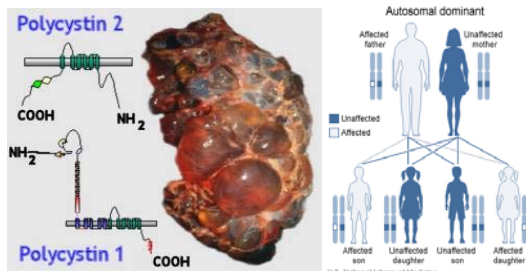
- selektivní (albuminurie) × neselektivní
- patogeneze
 - (1) prerenální
 - nárust "malých" proteinů (např. hemolýza, rhabdomyolýza, paraprotein)
 - modifikace albuminu (např. oxidace, glykace, ...)
 - (2) glomerulární (>3g/den = nefrotický syndrom)
 - GBM
 - kongenitální (např. Alportův syndrom)
 - získané (např. Igk a Ig glomerulonefritidy)
 - podocyty/slit diaphragm
 - kongenitální (viz dříve nephrin, podocin, ...)
 - získané - imunitní (např. minimal change nephrotic syndrome) nebo neimunitní (např. diabetes, hypertenze, amyloidóza, HIV, ...)
 - (3) tubulární (obvykle <1g/den)
 - kongenitální (např. Dent's disease (CIC5), Imerslund-Graesbeck disease (cubilin), Fanconi syndrom (megalin) aj.)
 - získané (např. hypertenze??)
- **důsledky proteinurie**
 - extrarenální = **nefrotický syndrom**
 - složení ECT (dyslipidemie, hypovitaminózy, ztráty ost. látek vázaných na proteiny, ...), hemodynamika (edémy), nutrice
 - intrarenální
 - albumin je v malé koncentraci nezbytný survival faktor pro tubulární bb
 - **přítomnost většího množství proteinů v tubulech vede k zánětu a intersticiální sklerotizaci → perpetuace renálního poškození**
 - MCP1, CTGF, TGFβ (LHNE-3 !!!), ...



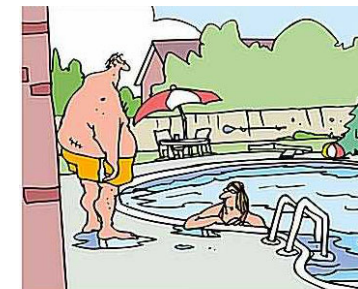
38

Vrozené choroby ledvin

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



39



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

40