

Nebílkovinné dusíkaté látky

Kromě bílkovin a peptidů jsou v séru obsaženy další významné látky obsahující dusík. Z klinicko-biochemického hlediska k nejvýznamnějším patří **močovina, kreatinin, kyselina močová, amoniak** a **aminokyseliny** (tab. 1). Tyto součásti zůstávají v roztoku po vysrážení sérových bílkovin deproteinačními činidly. Metabolismus některých z nich úzce souvisí (obr. 1).

Vyšetření nebílkovinných dusíkatých sloučenin v krvi a moči je důležité především **pro sledování stavu jater**, kde se odehrává podstatná část metabolismu těchto látek, a **ledvin**, jimiž se přednostně vylučují.

Kreatinin

Kreatinin (cyklický amid neboli laktam kreatinu) vzniká ve svaích vnitřní ireverzibilní neenzymovou dehydratací a spontánní cyklizací z kreatinu a (po odštěpení fosfátu) z kreatinfosfátu. Kreatinfosfát slouží ve svalů jako zdroj energie pro svalovou kontrakci (obr.). Kreatinin se nemůže již fosforylovat a přechází do krve a později je vylučován močí.

V organismu vzniká kreatinin relativně stálou rychlostí. Jeho tvorba je odrazem velikosti svalové hmoty a za podmínek fyzického klidu a bezmasé diety je stabilní. Vylučuje se ledvinami převážně glomerulární filtrací, ledvinnými tubuly je ve významnějším množství secernován pouze při zvýšené koncentraci v krvi.

Metody stanovení

Pro stanovení kreatininu se využívá jednoduchá, ale ne úplně specifická **Jaffého reakce**. Principem je **reakce kreatininu s pikrátem v alkalickém prostředí**. Elektrofilní oxoskupina kreatininu umožňuje disociaci protonu methylenové skupiny. Anion kreatininu se spojí s pozitivně polarizovaným uhlíkem pikrátového iontu za vzniku červeno-oranžového komplexu (obr. 3). Kromě kreatininu s pikrátem reagují i další součásti biologických tekutin – pyruvát, acetát, oxalacetát, glukóza, kyselina askorbová, aceton – **tzv. Jaffé pozitivní chromogeny**. Hodnoty „pravého“ kreatininu jsou normální o 9–18 µmol/l nižší.

Kreatinin v séru

Koncentrace kreatininu v séru je přímo úměrná svalové hmotě organismu. Z tohoto důvodu je obvykle o něco vyšší u mužů než u žen. Kromě toho ji ovlivňuje funkce ledvin, čehož se využívá v klinicko-biochemické diagnostice.

Stanovení kreatininu v séru je **dobrym indikátorem glomerulární filtrace** a využívá se zejména **pro sledování průběhu onemocnění ledvin (včetně dialyzovaných pacientů)**. Vztah mezi koncentrací kreatininu a glomerulární filtrací je hyperbolický (obr. 4). Při poklesu glomerulární filtrace se vylučování kreatininu snižuje. Jeho hodnoty v séru začínají **stoupat** nad horní hranici normy až při snížení glomerulární filtrace pod 50 %. Z toho je zřejmé, že pro rozpoznání časného stádia poškození ledvin je samotné stanovení sérového kreatininu málo citlivé. Za tímto účelem je nutné vyšetřit clearance endogenního kreatininu (viz níže). Naopak při výraznějším poškození glomerulů je stanovení koncentrace sérového kreatininu lepším parametrem než clearance kreatininu.

Jiné příčiny zvýšení kreatininémie jsou vzácnější. Patří mezi ně především uvolnění kreatininu ze svalů při **akutním rozpadu kosterního svalstva** (rhabdomyolýze).

Referenční hodnoty

- Sérový kreatinin u žen: **49-90 µmol/l**.
- Sérový kreatinin u mužů: **64-104 µmol/l**.

Kreatinin v moči

Tabulka 1. Hlavní nízkomolekulární dusíkaté látky (podle Curtis a spol. 1994)

Nízkomolekulární dusíkatá látka	Zdroj	Klinicko-biochemický význam
Aminokyseliny	bílkoviny	<ul style="list-style-type: none">onemocnění jateronemocnění ledvindědičné poruchy metabolismu aminokyselin
Amoniak	aminokyseliny	<ul style="list-style-type: none">onemocnění jateronemocnění ledvindědičné poruchy enzymů ureosyntetického cyklu
Močovina	amoniak	<ul style="list-style-type: none">onemocnění jateronemocnění ledvin
Kreatinin	kreatin	<ul style="list-style-type: none">onemocnění ledvin
Kyselina močová	purinové nukleotidy	<ul style="list-style-type: none">poruchy metabolismu purinůzvýšený rozpad buněk

Tvorba kreatininu v organismu je poměrně konstantní. Také jeho vylučování močí je v průběhu dne ve srovnání s ostatními endogenními látkami poměrně konstantní. U jednotlivců s normální glomerulární filtrací je odrazem velikosti aktivity svalové hmoty.

Stanovení kreatininu v moči lze využít pro kontrolu **správnosti 24hodinového sběru moči**. Nesprávný sběr moči patří k nejčastějším chybám při výpočtu 24hodinových ztrát některých látek močí. Jedním z nejjednodušších způsobů, jak ověřit správnost sběru, je stanovení celkového množství kreatininu, které bylo do moči vyloučeno za jeden den (odpad kreatininu). Výsledek porovnáme s tabulkovými hodnotami, které udávají odpad kreatininu do moči v závislosti na pohlaví, věku a hmotnosti (tab. 2). Je-li odpad kreatininu o 30 či více procent nižší, než ukazuje tabulková hodnota, lze téměř s jistotou označit sběr moči za neúplný.

Dále se stanovení koncentrace kreatininu v moči využívá **pro standardizaci odpadu látek močí** v případě, že máme k dispozici jen jednorázový vzorek moči a sběr za 24 hodin není možné nebo vhodné z jakéhokoliv důvodu provést. Koncentraci stanovované látky přepočítáváme na 1 mmol kreatininu.

Tabulka 2. Referenční hodnoty kreatininu v moči v závislosti na věku a pohlaví v $\mu\text{mol/kg/den}$.

Věk	Muži	Ženy
20-29	210±20	174±34
30-39	194±13	180±34
40-49	174±28	156±34
50-59	171±26	132±32
60-69	149±26	114±23
70-79	126±26	104±19
80-89	103±36	95±22
90-99	83±28	74±12

Referenční hodnoty

- Koncentrace kreatininu v moči (U-kreatinin): 5,7–14,7 mmol/l.
- Ztráty kreatininu močí za 24 h (dU-kreatinin): 8,8–13,3 mmol/24 h.

Clearance endogenního kreatininu

Pod označením clearance rozumíme hodnotu, která udává míru očišťování vnitřního prostředí všemi exkrečními mechanismy (ledviny, játra). Pro vylučování nízkomolekulárních látek, které jsou volně filtrovány, platí tento vztah:

$$GF \cdot P = U \cdot \dot{V},$$

kde U je koncentrace dané látky v moči, \dot{V} je objem moči za časovou jednotku, GF je množství glomerulárního filtrátu a P je koncentrace dané látky v plazmě.

Pro látky, které se vylučují do moči pouze glomerulární filtrací platí, že množství látky, které projde v jednotce času glomerulární membránou, se vyloučí v téže časové jednotce do moči. Pokud se do moči vyloučí za sekundu množství látky $U \cdot \dot{V}$, pak muselo za stejný čas dojít k úplnému „očištění“ určitého (teoretického) objemu plazmy od této látky. Tento objem pak nazýváme clearance.

Renální clearance určité látky vyjadřuje objem plazmy, který je za jednotku času ledvinami zcela očištěn od této látky.

Pomocí určení clearance různých látek můžeme stanovit různé renální funkce. Použijeme-li látku, která se do moči dostává pouze glomerulární filtrací, je hodnota clearance mírou glomerulární filtrace. Při použití látek, které se z plazmy do moči vylučují jak glomerulární filtrací, tak tubulární sekrecí (např. kyselina p-aminohippurová), je možno hodnot clearance využít pro zjištění průtoku krve ledvinami.

Mírou glomerulární filtrace se mohou stát látky vylučované pouze filtrací glomerulární membránou. Tuto podmínku splňuje **inulin**, který volně prostupuje glomerulární membránou a v tubulech není vstřebáván ani secernován. Na základě měření **clearance inulinu** lze přesně určit hodnotu glomerulární filtrace. Vzhledem k náročnosti procedury, při které je nutné udržovat konstantní hladinu inulinu v plazmě kontinuální intravenózní infuzí, je tento způsob vyhrazen výzkumným účelům. V rutinní praxi je glomerulární filtrace posuzována na podkladě zjištění **clearance endogenního kreatininu**, který se vylučuje převážně glomerulární filtrací (asi z 90 %) a jeho koncentrace v plazmě je za normálních okolností poměrně stálá. Oproti inulinové clearance je hodnota clearance kreatininu vyšší.

Vyšetření clearance endogenního kreatininu má význam zejména u pacientů s méně závažným poškozením ledvin, u nichž je **glomerulární filtrace snižena na 50-80 %**, tedy v období, kdy ještě hodnota kreatininu v séru nemusí překročit referenční meze.

Při vyšších hodnotách kreatininu v séru (nad 180 $\mu\text{mol/l}$) stoupá podíl kreatininu vylučovaného tubulární sekrecí a vyšetření clearance endogenního kreatininu přináší výsledky, jež by odpovídaly mírnějšímu poškození ledvin. V těchto případech je hodnotnější stanovení koncentrace kreatininu v séru.

Postup pro stanovení

Pro výpočet clearance endogenního kreatininu je nutno znát koncentraci kreatininu v séru a v moči a objem moči za časovou jednotku.

Pacient sbírá obvykle po dobu 24 hodin moč. Chybu ve sběru moči lze zmenšit zkrácením sběrného období na 6 nebo 12 hodin. Těsně před zahájením sběru se pacient vymočí (tato moč se ještě nesbírá). Po dobu sběru se neomezuje příjem tekutin. Přesně v čase, kdy sběr končí, se vyšetřovaný naposledy vymočí do sběrné nádoby. Aby byl sběr úplný, je třeba pacienta poučit, že se musí do sběrné nádoby vymočit před každou stolicí. Po skončení sběru se změří objem s přesností na 10 ml, moč se dobře promíchá a odebere se vzorek, ve kterém se stanoví koncentrace

kreatininu. Na konci sběrného období také odebereme krev pro analýzu kreatininu v séru. Na žádance o vyšetření clearance endogenního kreatininu se uvádějí údaje o výšce a tělesné hmotnosti pacienta a přesný objem moči s délkou sběrného období.

Výpočet clearance

Clearance endogenního kreatininu se vypočte dle vzorce:

$$Cl_{kr} \text{ (ml/s)} = \frac{U \cdot \dot{V}}{P},$$

přičemž **U** je koncentrace kreatininu v moči v mmol/l, **\dot{V}** je objem moči za čas (diuréza) v ml/s, **P** je koncentrace kreatininu v plazmě (séru) v mmol/l.

Takto získané hodnoty clearance jsou obtížně srovnatelné mezi různými pacienty i s referenčními rozmezími – závisejí totiž na celkové ploše glomerulární membrány, která je u každého jiná. Předpokládá se však, že filtrační plocha je úměrná tělesnému povrchu. Proto se hodnota clearance koriguje na tzv. ideální tělesný povrch tj. 1,73 m². **Hodnota tělesného povrchu** vyšetřované osoby se vyhledá v tabulkách na základě údajů o tělesné hmotnosti a výšce pacienta nebo se může vypočítat podle vzorce:

$$A = 0,167 \cdot \sqrt{m \cdot l},$$

kde **0,167** je empirický faktor (rozměr $\text{kg}^{-\frac{1}{2}} \cdot \text{m}^{\frac{3}{2}}$), **m** hmotnost pacienta v kilogramech a **l** výška v metrech.

Výpočet **korigované hodnoty clearance kreatininu** je následující:

$$Cl_{kr.korig.} \text{ (ml/s)} = Cl_{kr} \cdot \frac{1,73}{\text{povrch} \setminus \text{pacienta} \setminus \text{v} \setminus \text{m}^2}$$

1,73 m² je standardní povrch těla.

Odhad clearance

Odhad clearance kreatininu podle Cockrofta a Gaulta

Clearance endogenního kreatininu lze odhadnout na základě koncentrace kreatininu v séru bez nutnosti sběru moči výpočtem pomocí vzorce (Cockcroft a Gault), který zahrnuje některé faktory ovlivňující glomerulární filtraci — věk, pohlaví a tělesnou hmotnost pacienta jako nepřímý ukazatel svalové hmoty.

Výpočet pro muže:

$$Cl_{kr} \text{ (ml/s)} = \frac{(140 - \text{věk [roky]}) \cdot \text{hmotnost [kg]}}{44,5 \cdot \text{sérový kreatinin [\mu mol/l]}}.$$

Výpočet pro ženy:

$$Cl_{kr} \text{ (ml/s)} = 0,85 \cdot \frac{(140 - \text{věk [roky]}) \cdot \text{hmotnost [kg]}}{44,5 \cdot \text{sérový kreatinin [\mu mol/l]}}.$$

Odhad clearance kreatininu pomocí rovnice MDRD

V poslední době se odhad clearance kreatininu podle Cockrofta a Gaulta začíná nahrazovat spolehlivějším výpočtem pomocí tzv. rovnice MDRD, kterou v r. 1999 navrhl Levey se spolupracovníky. Jde o empirickou rovnici podloženou daty rozsáhlé multicentrické studie zabývající se vlivem diety na ledvinná onemocnění (*Modification of Diet in Renal Disease* – MDRD). Základní rovnice má tvar:

$$Cl_{kr} = 2,83 \cdot (0,0113 \cdot \text{sérový kreatinin})^{-0,999} \cdot \text{věk}^{-0,176} \cdot (2,8 \cdot \text{sérová urea})^{-0,17} \cdot (0,1 \cdot \text{sérový albumin})^{0,318}$$

U žen je třeba takto vypočítanou hodnotu násobit faktorem 0,762.

Výsledky tohoto odhadu velmi dobře odpovídají naměřeným hodnotám zejména u nemocných se sníženou glomerulární filtrací; žádný z odhadů není vhodný pro pacienty s normální nebo jen lehce sníženou funkcí ledvin.

Kalkulátor eGF (odhadu glomerulární filtrace) podle rovnice MDRD najdete na cskb.cz (http://www.cskb.cz/_doporuce_ni/kalkulator/gfr_mdrd.htm).

Fyziologické hodnoty clearance kreatininu

Glomerulární filtrace klesá s věkem:

Věk	13-49	50-59	60-69	70 a více
ženy	1,58-2,67	1,0-2,1	0,9-1,8	0,8-1,3
muži	1,63-2,6	1,2-2,4	1,05-1,95	0,7-1,0

Ideální clearance kreatininu vztaženou na věk můžeme zjistit podle rovnice:

$$Cl_{kr} = -0,00946 \cdot \text{věk [roky]} + 2,118$$

Clearance u pacienta se nemá lišit o $\pm 30\%$.

Glomerulární filtrace na podkladě sérové hladiny cystatinu C

Cystatin C je bílkovina o 120 aminokyselinách, kterou v různé míře produkuje řada tkání. Slouží jako jeden z nejvýznamnějších inhibitorů extracelulárních cysteinových proteáz. Rychlost syntézy této bílkoviny je prakticky konstantní, není ovlivněna zánětem, katabolismem ani dietou. Vzhledem k malé molekulové hmotnosti (asi 13 000) se volně filtruje glomerulární membránou. V proximálních tubulech se následně kompletně resorbuje a degraduje.

Plazmatická koncentrace cystatinu C je tedy **mírou glomerulární filtrace a koncentrace v moči mírou poruchy proximálních tubulů**. Koncentraci cystatinu C lze stanovit imunochemickými metodami. Referenční rozmezí se zatím liší podle konkrétně použité analytické techniky, očekává se však zavedení jednotné metodiky kalibrace. Stanovení cystatinu C má některé výhody: dobře detekuje časné fáze glomerulárního poškození, není nutný 24hodinový sběr moči, který je častým zdrojem chyb, a analýzu nezkrasují nespecifické reakce jako u kreatininu. Přestože je toto vyšetření poměrně drahé a dosud je vyhrazeno spíše pro výzkumné účely, předpokládá se, že v budoucnu rozšíří repertoár běžně používaných vyšetření renálních funkcí.

Frakční exkrece

Množství určité látky vyloučené do definitivní moči závisí jednak na glomerulární filtraci (tj. na množství látky, které se dostane do primitivní moči), jednak na tubulární sekreci a resorpci. Pro jednoduchost omezíme další výklad na látky, které se vůbec nevylučují tubulární sekrecí, nebo jejichž tubulární sekrece je zanedbatelná.

Podíl látky přefiltrované do primitivní moči, který se nakonec vyloučí definitivní močí, se označuje jako **frakční exkrece (FE)**. Hodnota FE určité látky se pohybuje mezi 0 a 1 (nebo ji můžeme vyjádřit jako 0 až 100 %); je-li nulová, znamená to, že se látka zcela resorbuje v tubulech, je-li naopak FE 100 %, vyloučí se veškerá přefiltrovaná látka do definitivní moči. „Zrcadlovou“ veličinou k FE je **tubulární resorpce (TR)**, tj. podíl látky resorbované z primitivní moči tubulárními buňkami. Za výše uvedeného předpokladu, že je tubulární sekrece zanedbatelná, platí:

$$FE + TR = 100\%$$

Obecný vzorec pro výpočet frakční exkrece je dán podílem clearance sledované látky a glomerulární filtrace:

$$FE_x = \frac{U_x \cdot V}{P_x \cdot GF}$$

Glomerulární filtraci můžeme odhadnout jako clearanci endogenního kreatininu. Ve zlomku se po dosazení objem moči za časovou jednotku vykrátí, a tak pro výpočet frakčních exkrecí potřebujeme znát pouze koncentraci látky v moči a plazmě a koncentraci kreatininu v moči a plazmě. Odpadá nutnost sběru moči, který bývá zatížen chybou.

$$FE_x = \frac{U_x \cdot P_{kr}}{U_{kr} \cdot P_x}$$

(x je sledovaná látka, U koncentrace sledované látky v moči, P koncentrace sledované látky v plazmě (séru). Koncentrace sledované látky v séru i v moči, stejně tak i kreatininu musí být ve stejných jednotkách.)

Pro posouzení renálních funkcí je užitečné stanovovat frakční exkrece Na^+ , K^+ , Cl^- , fosfátů a vody.

Frakční exkrece vody se vypočítá podle vzorce:

$$FE_{H_2O} = \frac{V}{GF}$$

Po dosazení clearance kreatininu za glomerulární filtraci a vykrácení dostaneme jednoduchý vzorec:

$$FE_{H_2O} = \frac{P_{kr}}{U_{kr}}$$

Normální hodnota FE_{H_2O} : 0,01-0,02, t.j. 1-2 %. Se zvýšenými hodnotami se setkáváme u:

- diabetes insipidus,
- nadměrného přívodu tekutin,
- poškození tubulárních buněk ledvin.

Tubulární resorpce vody

Z hodnot clearance endogenního kreatininu a množství moči vyloučené za 1 sekundu můžeme vypočítat hodnotu zpětné tubulární resorpce vody (TR). Rozdíl mezi glomerulární filtrací a objemem definitivní moči za časovou jednotku (s) je rovný objemu vody, který je za sekundu resorbován v ledvinných tubulech.

$$TR_{H_2O} = \frac{Cl_{kr} - V}{Cl_{kr}}$$

V je objem definitivní moči v ml vyloučený za 1 s.

Normální hodnota TR_{H₂O}: 0,988–0,998 Snížené hodnoty svědčí o poruše zpětné resorpce vody např. u diabetes insipidus.

Močovina

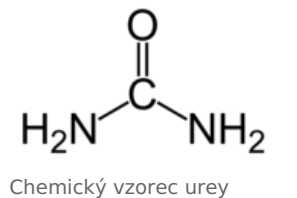
Urea čili **močovina** je kvantitativně nejvýznamnějším degradačním produktem aminokyselin a proteinů. Vzniká v játrech z amoniaku uvolněného deaminačními reakcemi při metabolismu aminokyselin. Dobře difunduje buněčnými membránami, takže její koncentrace je shodná jak v plazmě, tak v intracelulární tekutině.

Z organismu se vylučuje především ledvinami a sice glomerulární filtrací a tubulární resorpcí, která je proměnlivá. Při zvýšené diuréze je nižší a při snížené se naopak zvyšuje.

Koncentrace urey v krvi je **závislá na obsahu bílkovin v potravě, exkreci ledvinami a metabolické funkci jater** (Tab.).

Některé příčiny změn hladin močoviny v séru a v moči

Zvýšená hladina močoviny v séru	Snížená hladina močoviny v séru
porušená funkce ledvin	nízkoproteinová dieta
vysokoproteinová dieta	poškození jater
zvýšený katabolismus bílkovin	pozdní těhotenství (zvýšená potřeba bílkovin při růstu plodu)
dehydratace	



Koncentrace močoviny v séru může stoupnout při zvýšeném příjmu bílkovin potravou. Z 1 g proteinu vzniká 5,74 mmol (0,34 g) močoviny. Zvýšená koncentrace močoviny bez změny ostatních nízkomolekulárních dusíkatých látek (zejména kreatininu) je známkou intenzivního katabolismu bílkovin, který stoupá při hladovění, horečnatých stavech, malignitě. U dětí je katabolismus proteinů snížen, takže hladiny močoviny jsou u nich průkazně nižší. Sérová koncentrace urey stoupá při onemocněních ledvin, které je doprovázeno výrazným omezením glomerulární filtrace (pod 30 %), současně je v takových případech zvýšená i koncentrace kreatininu. Stanovení urey není vhodné pro zjištění začínající poruchy glomerulární filtrace. Je však významné u pacientů v pravidelném dialyzačním léčení.

Při selhání funkce jater klesá syntéza močoviny a tím i její koncentrace v plazmě.

Na základě koncentrace urey v séru a v moči lze vypočítat dusíkovou bilanci.

Referenční hodnoty

- **Sérová koncentrace (S-urea): 1,7–8,3 mmol/l**
- **Ztráty močoviny močí (dU-urea):**

Močí se vylučuje za 24 hodin u dospělých 330–600 mmol močoviny (20–35 g) v závislosti na příjmu bílkovin potravou nebo na katabolismu bílkovin.

$$dU_{urea} \text{ [mmol/24 hodin]} = U_{urea} \text{ [mmol/l]} \cdot diuréza \text{ [l/24 hod]}$$

Metody stanovení

Močovina se v biologických tekutinách stanovuje buď přímo nebo nepřímo jako amoniak. Při nepřímém stanovení je močovina nejprve působením enzymu ureázy katalyticky rozštěpena na oxid uhličitý a amoniak, který ve vodném prostředí přechází na amonný ion. Množství vzniklého amoniaku je poté stanoveno **reakcí podle Berthelota**. Amonný ion s chlornanem sodným a fenolem nebo salicylanem za katalýzy nitroprussidu sodného vytváří barevný produkt.

Doporučená rutinní metoda využívá pro stanovení amonných iontů vzniklých v ureasové reakci přeměnu α-ketoglutarátu na glutamát. Reakce je katalyzována **glutamátdehydrogenázou**, která je spřažena s oxidací NADH + H⁺ na NAD⁺ (Warburgův optický test).

Reakce katalyzovaná ureázou: Močovina + H ₂ O + 2 H ⁺ → 2 NH ₄ ⁺ + CO ₂
Reakce katalyzovaná glutamátdehydrogenázou: 2 NH ₄ ⁺ + 2-oxoglutarát + NADH + H ⁺ → L-glutamát + NAD ⁺ + H ₂ O

Stanovení při onemocnění ledvin

Koncentrace urey závisí na její produkci (tj. na příjmu bílkovin stravou, tkáňovém katabolismu a funkci jater). Urea se vylučuje glomerulární filtrací a její sérová koncentrace se proto bude zvyšovat i při selhání ledvin. Jde však o poměrně málo citlivý parametr, ke vzestupu nad horní hranici referenčního rozmezí většinou dochází až při poklesu glomerulární filtrace o více než 75 %.

Naproti tomu je však močovina v séru dobrým indikátorem hypoperfuze ledvin – kromě poklesu glomerulární filtrace se totiž zvýší zpětná resorpce urey v tubulech a její sérová hladina tak roste mnohem rychleji, než např. koncentrace kreatininu. Uvádí se, že při renálním selhání prerenálního typu (např. právě při hypoperfuzi ledvin, velmi často na podkladě dehydratace) je poměr sérových koncentrací močoviny a kreatininu v $\mu\text{mol/l}$ vyšší než 160.

Kyselina močová

Kyselina močová je konečným produktem metabolismu purinů u člověka.

V průběhu katabolických dějů jsou nukleové kyseliny pocházející z buněčných jader vlastního organismu i potravy štěpeny na nukleotidy, nukleosidy a báze, které jsou v závěrečné fázi zčásti přeměňovány **enzymem xanthinoxidázou** na kyselinu močovou. Na této úrovni je u člověka a primátů odbourávání purinovýchází ukončeno. U jiných savců se kyselina močová dále přeměňuje pomocí urikázy na allantoin, který je ve srovnání s kyselinou močovou rozpustnější ve vodě. Část purinovýchází je pomocí enzymů hypoxanthin-guaninfosforibosyltransferázy (HPRT) a adenin-fosforibosyltransferázy (APRT) použita k **resyntéze nukleotidů** (šetřící reakce – „salvage pathway“).

Celkový obsah kyseliny močové v těle je **přibližně 1 g**. Kyselina močová pochází ze tří zdrojů:

- z nukleotidů potravy,
- z rozpadu tkáňových nukleoproteinů a
- z vlastní biosyntézy.

Kyselina močová však není jen odpadním metabolitem purinů, ale svými **antioxidační účinky** chrání buňky před působením kyslíkových radikálů. Na vylučování kyseliny močové se z 75–80 % podílejí ledviny (viz níže). Zbylá část kyseliny močové (20–25 %) je eliminována gastrointestinálním traktem, kde může být dále degradována bakteriemi na NH_3 a CO_2 .

Vlastnosti

Kyselina močová je sloučenina **špatně rozpustná** ve vodě. Při pH pod 5,5, které bývá v moči, je většina molekul kyseliny močové v **nedisociované** a tedy méně rozpustné formě. Kyselina močová může potom vytvářet krystalky, popř. konkrementy. Ke snížení rozpustnosti kyseliny močové přispívá chlad. Se stoupajícím pH se její rozpustnost zvyšuje.

Při fyziologickém **pH krve 7,4** je přítomna především v ionizované formě a s Na^+ a K^+ vytváří urát sodný či draselný, které jsou ve vodném roztoku rozpustnější. K průkazu kyseliny močové lze využít oxidačního štěpení koncentrovanou **kyselinou dusičnou**. Při reakci se otevírá imidazolový kruh purinu a dvě molekuly produktu kondenzují na kyselinu purpurovou, jejíž soli jsou barevné. Přidáním amoniaku ke kyselině purpurové vzniká **murexid** (amonná sůl kyseliny purpurové). **Murexidové reakce** se používá k důkazu kyseliny močové při analýze močových kamenů.

Kyselina močová v séru

Koncentrace kyseliny močové v plazmě závisí **na příjmu purinů** potravou, intenzitě vlastní tvorby a na jejím vylučování. Klinický význam mají především **zvýšené plazmatické koncentrace** kyseliny močové – tj. **hyperurikémie**. Ta nastává při nadprodukci nebo při sníženém vylučování kyseliny močové. Při hyperurikémii může koncentrace urátů přesáhnout jejich rozpustnost.

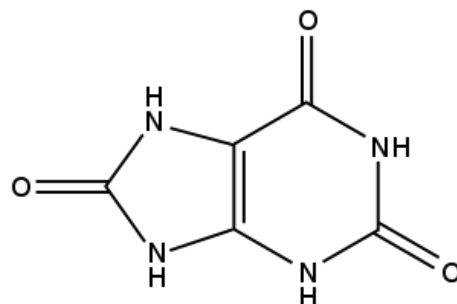
Referenční hodnoty

Koncentrace kyseliny močové v séru (fS-kyselina močová):

- ženy **120–340 $\mu\text{mol/l}$**
- muži **120–420 $\mu\text{mol/l}$**

Nadprodukce

- S nadprodukcí syntézy purinů de novo spojené se zvýšenou hladinou kyseliny močové se setkáváme u některých geneticky podmíněných defektů purinového metabolismu, jako je parciální či kompletní deficit



Kyselina močová v laktamové (oxo) formě

hypoxanthin-guaninfosforibosyltransferasy (Lesch-Nyhanův syndrom). Při něm je snižena reutilizace purinových bází, které jsou proto ve zvýšené míře odbourávány na kyselinu močovou. Jiným genetickým defektem vedoucím ke zvýšené tvorbě kyseliny močové je zvýšená aktivita fosforibosyldifosfátsyntetázy.

- Zvýšená tvorba kyseliny močové doprovází protinádorovou léčbu (chemoterapie cytostatiky, ozařování), při níž dochází k intenzivnějšímu rozpadu buněk. Purinové báze uvolňované při degradaci nukleových kyselin se metabolizují na kyselinu močovou. Podobně některá hematologická onemocnění spojená s nadměrnou novotvorbou (polycytemia vera) nebo zvýšeným rozpadem buněk (leukemie, hemolytické anémie) jsou doprovázeny hyperurikemií.
- Zvýšený příjem stravy bohaté na puriny (např.: vnitřnosti, maso, luštěniny, v menší míře také čokoláda, kakao, káva) vede k nadprodukci kyseliny močové. Zdravé ledviny nemusí stačit kompenzovat nadměrnou zátěž kyselinou močovou intenzivnější exkrecí a urikemie potom stoupá.
- Požívání alkoholu zvyšuje urikemii tím, že laktát vznikající ve zvýšené míře inhibuje sekreci kyseliny močové ledvinami. Snižené vylučování kyseliny močové je později vystřídáno zvýšenou urikosurií.

Snížené vylučování

Snížené vylučování kyseliny močové patří mezi častější příčiny hyperurikemie.

- U pacientů s hyperurikemií bývá často snížena tubulární sekrece kyseliny močové; příčina je neznámá.
- Pokles vylučování kyseliny močové ledvinami doprovází stavy spojené se snížením glomerulární filtrace a poruchou funkce tubulů (např. soutěž kyseliny močové o tubulární exkreční mechanismy s laktátem nebo ketokyselinami – viz níže).

Kyselina močová v moči

Většina kyseliny močové se vylučuje ledvinami (75–80 %), kde je volně filtrována glomerulem (je minimálně vázána na bílkoviny) a pak je většina reabsorbována v proximálním tubulu. Poté je secernována v distální části proximálního tubulu a opět zpětně resorbována postsekreční reabsorpcí. Do moči je normálně vyloučeno při bezpurinové dietě asi **0,6 g kyseliny močové za den** (3,6 mmol/den), při normální stravě jsou hodnoty vyšší – kolem 0,8 g/den (5,0 mmol/den). Tubulární sekrece kyseliny močové může být inhibována při současné zvýšené exkreci jiných organických kyselin jako jsou kyseliny acetoctové, β -hydroxymáselná, mléčná a některých léků.

Kyselina močová v moči představuje značný rizikový faktor jak pro vývodné močové cesty, tak i pro ledvinný parenchym.

Vzhledem ke špatné rozpustnosti kyseliny močové hrozí při jejím zvýšeném vylučování močí nebezpečí **urátové urolitiázy**. Zvláštní riziko představují jedinci s trvale kyselejší a koncentrovanější močí. Urátové konkrementy jsou nejčastěji tvořeny čistou kyselinou močovou, někdy urátem sodným. V mírně alkalické moči se mohou vytvořit konkrementy z urátu amonného, což bývá zpravidla za přítomnosti močové infekce spojené se štěpením močoviny.

Krystalky urátu sodného mohou **precipitovat i v intersticiu ledvin** a vyvolávat zánětlivou reakci (chronická intersticiální nefritida).

Poměrně vzácné je akutní renální selhání, které může nastat při náhlém vzestupu kyseliny močové v krvi (např. cytostatická léčba u pacientů s leukemií), pokud je současně koncentrovaná moč (dehydratace) o kyselém pH. Tyto okolnosti vytvářejí podmínky pro tvorbu **krystalů z kyseliny močové v distálních renálních tubulech a sběrných kanálcích ledvin** a ty mohou zablokovat odtok moči (akutní urátová nefropatie).

Vyšetřování kyseliny močové v moči je významné zejména u pacientů se zvýšenou koncentrací kyseliny močové v séru a u pacientů s urolitiázou.

Množství kyseliny močové v moči můžeme vyjádřit několika způsoby:

1. měřením koncentrace v ranním vzorku moči. Podle výsledků koncentrace kyseliny močové v ranním vzorku se upravuje pitný režim u pacientů s urolitiázou s cílem snížit její koncentraci v moči v tomto období.
2. jako množství kyseliny močové vyloučené za 24 hodin. Analyzuje se ve vzorku moči odebrané z promíšeného celodenního sběru. Vyšetření odpadu kyseliny močové za 24 hodin je užitečné pro rozlišení hyperurikemií z nadprodukce kyseliny močové a ze sníženého vylučování;
3. jako poměr kyselina močová/kreatinin v náhodně odebraném vzorku moči, který nevyžaduje celodenní sběr moč (tzv. index podle Kaufmana – IK);
4. clearance kyseliny močové. Vyšetření clearance kyseliny močové pomáhá rozlišit, zda příčinou hyperurikemie je metabolická porucha či změna jejího renálního vylučování. K výpočtu používáme vzorec:

$$Cl_{KM} [ml/s] = \frac{U_{KM} \cdot \dot{V}}{P_{KM}},$$

kde Cl_{KM} je clearance kyseliny močové, U_{KM} je koncentrace kyseliny močové v moči (mmol/l), P_{KM} je koncentrace kyseliny močové v plazmě (mmol/l), \dot{V} je diuréza (ml/s);

5. stanovením frakční exkrece kyseliny močové. Je sumární informací o transportních dějích v renálních tubulech. Pomocí frakční exkrece kyseliny močové lze usuzovat na podíl dysfunkce renálních tubulárních buněk na hyperurikemii. Může být vyšetřena v náhodně odebraném vzorku moče a krve, v nichž vyšetříme koncentraci kyseliny močové a kreatininu. Vypočteme ji podle vzorce:

$$FE_{KM} = \frac{U_{KM} \cdot P_{kreat}}{U_{kreat} \cdot P_{KM}},$$

kde FE_{KM} je frakční exkrece kyseliny močové, U_{KM} koncentrace kyseliny močové v moči v mmol/l, P_{KM} koncentrace kyseliny močové v séru (plazmě) v mmol/l, P_{kreat} koncentrace kreatininu v séru (plazmě) v mmol/l, U_{kreat} koncentrace kreatininu v moči v mmol/l

Referenční hodnoty

- Ztráty kyseliny močové močí za 24 hodin (dU-kyselina močová):

3,5 mmol/24 h (bezpurinová dieta)

5,0 mmol/24 h (normální dieta)

- Clearance kyseliny močové:

0,07-0,22

Metody stanovení

Většina moderních metod na stanovení koncentrace kyseliny močové využívá enzym urikázu, která přeměňuje kyselinu močovou na allantoin, peroxid vodíku a oxid uhličitý. Pokles koncentrace kyseliny močové v reakční směsi lze stanovit přímo měřením úbytku absorbance při 290–293 nm. Tento způsob vychází z rozdílných absorpčních spekter allantoinu a kyseliny močové. Allantoin vznikající v urikázové reakci nevykazuje na rozdíl od kyseliny močové absorpční vrchol při 290–293 nm. Jinou možností je nepřímé stanovení využívající vznikajícího peroxidu vodíku k další spřažené reakci, katalyzované peroxidázou. Při ní oxidační kopulací^[† 1] obvykle 4-aminoantipyrinu s vhodným derivátem fenolu [(v našem případě N-ethyl-N-(2-hydroxy-2-sulfopropyl)-m-toluidin)] vznikne chinoniminové barvivo, jehož intenzita zbarvení je úměrná koncentraci kyseliny močové ve vzorku. Při stanovení ruší kyselina askorbová. Její vliv je potlačován přítomností askorbát oxidázy v reakční směsi.

Dna

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Dna (arthritis uratica).*

Dna je závažným projevem poruchy metabolismu kyseliny močové. Je charakterizována zvýšenou koncentrací kyseliny močové v extracelulárních tekutinách a v různých tkáních. Při překročení rozpustnosti urátů vypadávají jejich krystalky z roztoku a usazují se zejména v málo prokrvených tkáních – např. v měkkých tkáních kloubů. Tam vyvolávají zánětlivou reakci a podmiňují degenerativní změny kloubu. Při chronické dnavé artritidě způsobují uráty vznik tzv. dnavých tofů – uzlíkovitých útvarů obsahujících centrálně uložené krystalky urátu, které jsou obklopené zánětlivými buňkami a fibrózní tkání. Projevem dny jsou opakované ataky akutní artritidy, při níž v leukocytech synoviální tekutiny nalézáme krystalky urátu sodného.

Odkazy

Zdroj

Se souhlasem autorů převzato z <https://el.lf1.cuni.cz/p45355481/>

Poznámky

1. Oxidační kopulace, která je využívána jako indikátorová reakce, je zvláštním typem kopulace mezi aromatickými aminy a fenoly. K oxidaci katalyzované peroxidázou se používá peroxid vodíku, vznikající v předchozí reakci. Oxidační kopulace je podstatou stanovení dalších významných analytů v biologickém materiálu jako je glukóza, cholesterol nebo triacylglyceroly.

Použitá literatura

- BUBNOVÁ, Eva, Alena BUDĚŠÍNSKÁ a J KŘEMEN, et al. *Praktická cvičení z lékařské chemie a biochemie : Část III.* 1. vydání. Praha : Karolinum, 1998. ISBN 80-7184-696-1.
- BURTIS, Carl A a Edward R ASHWOOD. *Tietz textbook of clinical chemistry.* 2. vydání. Philadelphia : Saunders, 1994. 2326 s. ISBN 0-7216-4472-4.
- DOLEŽALOVÁ, Věra, et al. *Laboratorní technika v klinické biochemii a toxikologii.* 4. vydání. Brno : Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1995. 286 s. ISBN 80-7013-198-5.
- DZÚRIK, R, et al. *Štandardná klinickobiochemická diagnostika.* 1. vydání. Martin : Osveta, 1996. ISBN 80-217-0256-7.
- CHROMÝ, V a J FISCHER. *Analytické metody v klinické biochemii.* 1. vydání. Brno : Masarykova univerzita, 2000.

- JABOR, A, L HORNOVÁ a L FANTOVÁ, et al. Vyšetření funkce ledvin: možnosti biochemické laboratoře. *Postgraduální medicína* [online]. 2006, roč. 2006, vol. 1, s. ?, dostupné také z <<https://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/vysetreni-funkce-ledvin-moznosti-biochemicke-laboratore-170714>>. ISSN 1214-7664.
- KAPLAN, L. A a A. J PESCE. *Clinical Chemistry : Theory, Analysis, Correlation*. 3. vydání. Mosby, 1996. ISBN 0-8151-5243-4.
- Kolektiv autorů. . *Lékařská chemie a biochemie : Praktikum*. 1. vydání. Praha : Avicenum, Osvěta, 1991. 237 s. ISBN 80-201-0114-4.
- KRAML, Jiří, et al. *Návody k praktickým cvičením z lékařské chemie a biochemie : Skripta pro posluchače 1. lékařské fakulty*. 4. vydání. Praha : Karolinum, 1991. 311 s. ISBN 80-7066-453-3.
- MASOPUST, Jaroslav. *Klinická biochemie : Požadování a hodnocení biochemických vyšetření I. a II. část*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 1998. 832 s. ISBN 80-7184-650-3.
- MURRAY, Robert K, D. K GRANNER a P. A MAYES, et al. *Harperova biochemie*. 2. vydání. Praha : H&H, 1998. 872 s. ISBN 80-85787-38-5.
- RACEK, Jaroslav, et al. *Klinická biochemie*. 1. vydání. Praha : Galén, 1999. ISBN 80-7262-023-1.
- SCHNEIDERKA, Petr, et al. *Stanovení analytů v klinické biochemii : Praktická cvičení pro studenty 1. LF UK a FPBT VŠCHT*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 1998. 153 s. sv. 1. ISBN 80-7184-761-5.
- SCHNEIDERKA, Petr, et al. *Stanovení analytů v klinické biochemii : Praktická cvičení pro studenty 1. LF UK a FPBT VŠCHT*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2006. 91 s. sv. 2. ISBN 80-246-1189-9.
- TÁBORSKÁ, Eva a Josef TOMANDL, et al. *Biochemie : Praktická cvičení*. 1. vydání. Brno : Masarykova univerzita, 1998.
- TEPLAN, Vladimír, et al. *Praktická nefrologie*. 2. vydání. Praha : Grada, 2006. ISBN 80-247-1122-2.
- VOET, Donald a Judith G VOETOVÁ. *Biochemie*. 1. vydání. Praha : Victoria Publishing, 1995. 1325 s. ISBN 80-85605-44-9.
- ZIMA, Tomáš, et al. *Laboratorní diagnostika*. 1. vydání. Praha : Galén, 2002. 728 s. ISBN 80-7262-201-3.
- Česká nefrologická společnost a Česká společnost klinické biochemie ČLS JEP. Doporučení k vyšetřování glomerulární filtrace. *Klinická biochemie a metabolismus* [online]. 2009, roč. 17, vol. 2, s. 109-117, dostupné také z <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2009/2-09/KBM0209_Dop_eGF.pdf>.