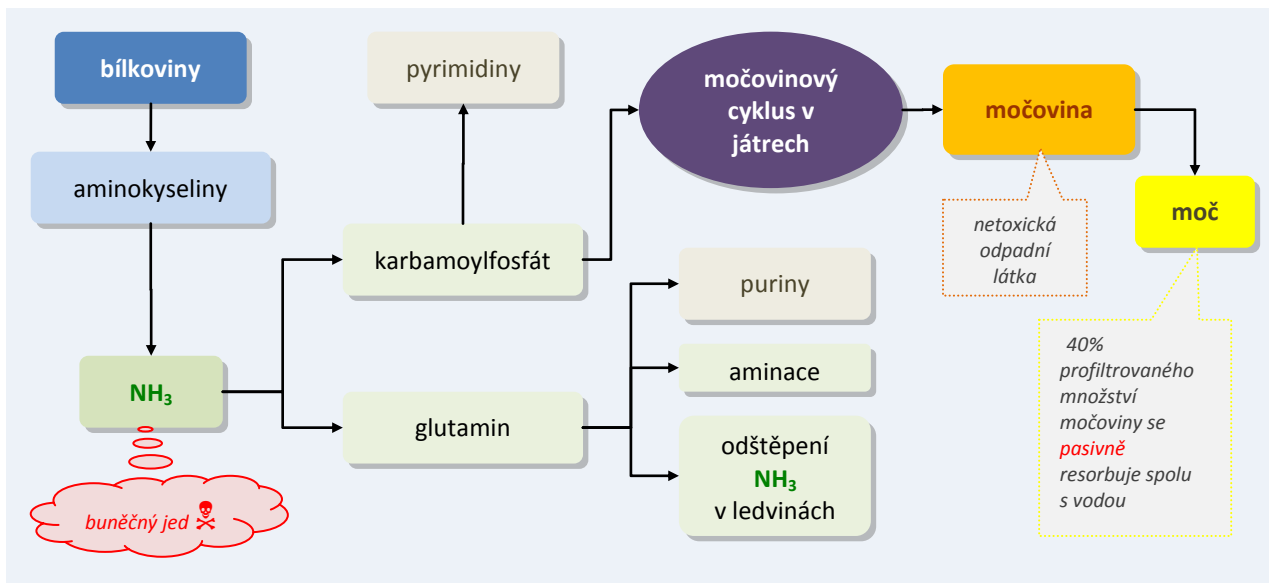


## Kapitola 8 Dusíkaté látky nebílkovinné povahy

Kromě plazmatických bílkovin (kapitola 13), což jsou dusíkaté látky v plazmě převažující, vyskytují se zde i dusíkaté látky *nebílkovinné povahy*. Mnohé z nich mají diagnostický význam. Některé jsou odpadními látkami, jiné vykazují biologickou aktivitu. Mezi hlavní dusíkaté látky nebílkovinné povahy patří *močovina*, *kreatinin*, *kyselina močová*, *aminokyseliny* a *amoniak*. Dále to jsou karnitin, glutathion, oxid dusnatý a nebílkovinné dusíkaté látky s hormonálním účinkem.

### 8.1. Močovina

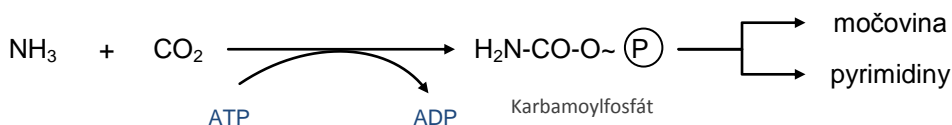
Močovina (urea) je diamid kyseliny uhličité:  $\text{NH}_2\text{--CO--NH}_2$ . Vzniká v játrech v cyklu močoviny (tzv. *malý Krebsův cyklus* nebo též *ornitinový cyklus*). U savců, obojživelníků a některých ryb to je konečný produkt metabolismu dusíku z bílkovin (u ptáků a plazů se tvoří kyselina močová; amoniak, jako takový, vylučují žabrami raci a mnohé ryby). Dusík močoviny představuje hlavní složku tzv. *nebílkovinného dusíku*.



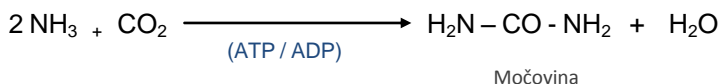
#### Osud amoniaku

Amoniak je *buněčný jed*, proto musí být přeměněn na látku netoxickou; tou může být *karbamoylfosfát* nebo *glutamin*. Oba tyto produkty mají další využití.

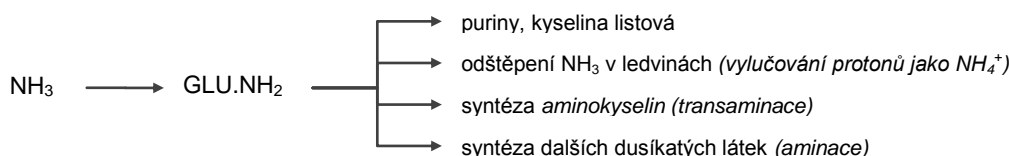
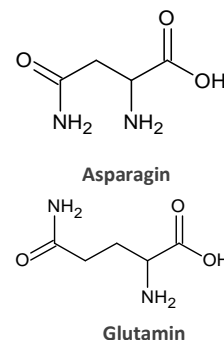
*Karbamoylfosfát* vstupuje do močovinového cyklu za tvorby močoviny, odpadního produktu metabolismu aminokyselin; druhá (syntetická) metabolická cesta vede od karbamoylfosfátu k pyrimidinům



Sumární reakce pro tvorbu močoviny:



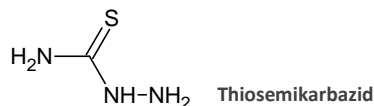
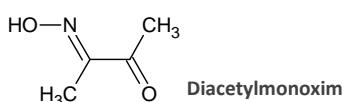
*Glutamin* (GLU.NH<sub>2</sub>) tvoří (spolu s asparaginem) latentní zásobu amoniaku v organismech a hraje důležitou roli v biosyntetických dějích: syntéza aminokyselin transaminací, syntéza purinových nukleotidů, syntéza dalších dusíkatých látek (glukosamin, histidin). Glutamin může také odštěpit NH<sub>3</sub> v ledvinách, čímž přispívá k udržování acidobazické rovnováhy (viz kapitola 8 *Vnitřní prostředí*).



### 8.1.1. Metody stanovení močoviny

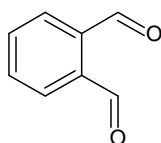
#### 8.1.1.1. Neenzymové metody

- s diacetylmonoximem (DAM)
- s o-ftaldialdehydem

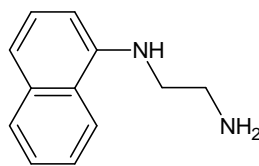


**Diacetylmonoxim** [CH<sub>3</sub>-CO-CNOH-CH<sub>3</sub>] dává s močovinou za přítomnosti thiosemikarbazidu [NH<sub>2</sub>-CS-NHNH<sub>2</sub>]v silně kyselém prostředí (kyselina sírová) za zvýšené teploty (var na vodní lázni) a v přítomnosti Fe<sup>3+</sup> *růžové zbarvení*; zbarvení je stálé asi 15 minut, vhodné k fotometrii při 525 nm (490 – 540 nm)

**o-Ftaldialdehyd** (ortho-ftaldialdehyd) reaguje s močovinou v kyselém prostředí za tvorby meziprojektu (N-karbam(o)yl-1,3- dihydroxyisindolin), který dává s N-(1-naftyl)ethylendiaminem *červeně zbarvený* produkt; sleduje se nárůst absorbance v závislosti na čase při 510 – 530 nm [kinetické měření]



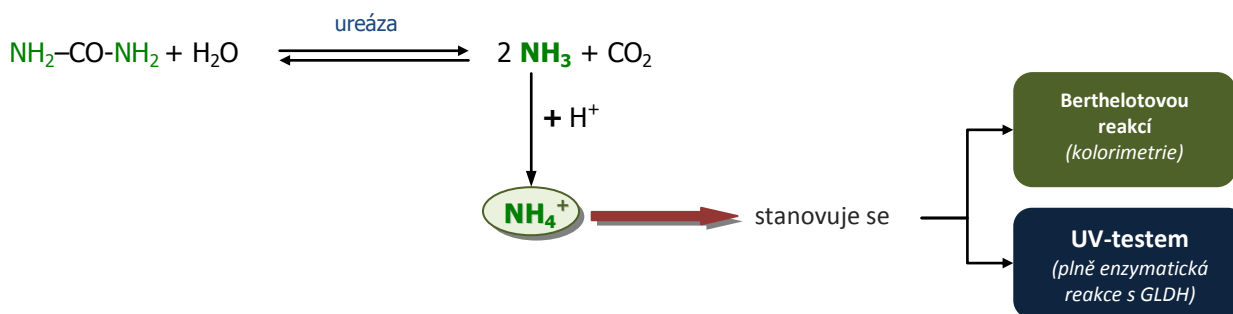
O-ftaldialdehyd



N-(1-naftyl)ethylendiamin

#### 8.1.1.2. Enzymové metody

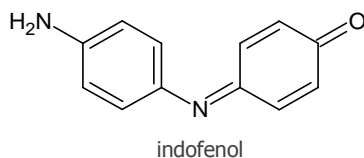
Enzym *ureáza* odštěpí z močoviny **amoniak**, který se stanoví UV testem, případně Berthelotovou reakcí.



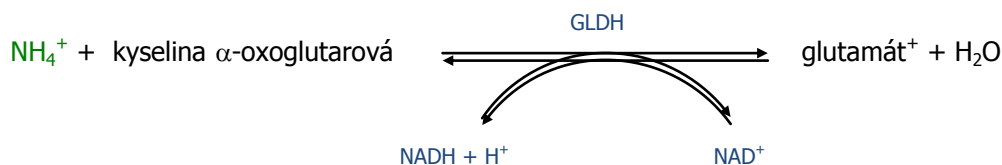
**Vzniklý amonný ion se stanovuje:**

- **Berthelotovu reakcí:** se salicylanem sodným, chlornanem sodným [NaOCl] a nitroprussidem sodným [Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>(NO)].2 H<sub>2</sub>O] (katalyzátor reakce) vzniká **zelené** zbarvení, fotometrovatelné při 540 – 560 nm (při optimální vlnové délce 630 nm je reakce příliš citlivá).

**Diagnostická souprava PLIVA-Lachema Diagnostika:** BLT Močovina 200 (UREA 200) – modifikovaná (upravená) Berthelotova reakce – místo salicylanu sodného se používá 3-methyl-6-isopropylfenol; produktem reakce je indofenol; maximum absorbance je při 705 nm, fotometruje se při 580 – 650 nm



- **UV-testem při 340 nm;** tato rovnice současně představuje princip stanovení amoniaku (str. 7-19):



GLDH = glutamátdehydrogenáza

**Poznámka I:** UV-test je analyticky správnější než reakce uvedená ad a.

**Poznámka II:** Ve výše uvedené rovnici je si třeba představit glutamát za daných podmínek jako kation [HO<sub>2</sub>C-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-CHNH<sub>3</sub><sup>+</sup>-CO<sub>2</sub>H]

## 8.1.2. Klinické poznámky

### Referenční rozmezí

Močovina v plazmě:	2,5 – 8,3 mmol/l
Močovina v moči:	320 – 570 mmol/24 hodin

### Hladina v plasmě závisí na

- exkreačních vlastnostech ledvin pro močovinu (glomerulární filtrace + tubulární resorpce)
- proteinovém metabolismu, tj. na přívodu bílkovin do organismu a na jejich katabolismu (100 g proteinů může vést k produkci až 35 g /5,8 molů močoviny)

### Hladina v moči závisí na

- urémii (hladině v plazmě, séru)
- exkreačních vlastnostech ledvin (narušené či nenarušené schopnosti filtrace + resorpce)
- průtoku krve ledvinou (záleží zejména na hodnotě krevního tlaku)

Koncentrace močoviny v plazmě/séru ne zcela spolehlivě odráží funkci ledvin. Ledviny mají totiž velkou rezervní kapacitu k udržení stabilní hladiny močoviny v krvi.

### ↑ Nárůst koncentrace močoviny v plazmě může mít různé příčiny

#### A. Nadměrná tvorba močoviny

- nadměrný přívod bílkovin v potravě
- zvýšený katabolismus (sepse, horečka...)
- operační trauma, infekce nebo zánět
- podávání steroidních hormonů nebo jejich zvýšená tvorba, podávání cytostatik
- masivní krvácení do GIT, hematomy
- intenzivní trénink (zvýšení koncentrace na 12 – 15 mmol/l)

#### B. Porucha jejího vylučování ledvinami

- tzv. funkční selhání ledvin (hypoperfúze kůry ledvin při šoku, nedostatečné srdeční činnosti, větší dehydrataci...)
- ledvinové selhání při různých chorobách (nephritidy aj.), působením léků apod.
- překážka při odtoku moče (obstrukční uropatie)
- jaterní selhání a jeho komplikace (hepatorenální syndrom - funkční postižení, při kterém se mj. snižuje ledvinná filtrace a tvorba moči)
- poškození ledvin při masivní hemolýze (hemolyticko-uremický syndrom)

**Poznámka:** Při oběhové poruše dojde ke snížení průtoku krve ledvinami, tím dojde ke snížení filtrace a ke zvýšení koncentrace močoviny v plazmě. Koncentrace v plazmě nepřesáhne 17 mmol/l.

#### C. Kombinace A. a B.

### ↓ Pokles koncentrace močoviny v plazmě může mít rovněž různé možné příčiny

#### A. Porucha tvorby močoviny

- snížení příjmu bílkovin v potravě
- konečné stadium při onemocnění jater (jediný orgán tvorby močoviny)
- anabolické stavy (fyziologicky u dětí)

#### B. Močové ztráty

- fyziologicky v těhotenství (zvýšená filtrace v glomerulech + výstavba bílkovin plodu)

### Dusíková bilance pacienta

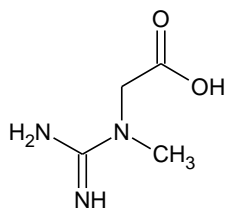
Ztráty dusíku močí za 24 hodin jsou důležitým ukazatelem míry *katabolismu* (zátěže). Dusík močoviny představuje asi 80% celkového dusíku ztraceného močí. Z hodnoty močoviny ve sbírané moči lze vypočítat tzv. *dusíkovou bilanci pacienta*, tj. *rozdíl mezi příjmem a výdejem dusíku*:

$$\text{dusíková bilance} = \text{příjem N} / 24 \text{ h} - (\text{ztráty N v moči} + \text{neměřitelné ztráty})$$

Dusíková bilance se počítá v gramech dusíku za časové období.

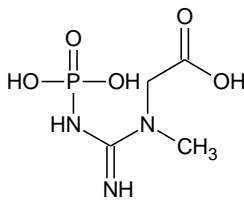
## 8.2. Kreatin a kreatinin

Tvorba *kreatinu* a jeho cyklického amidu *kreatininu* je naznačena ve schématu na straně 8-6. Kreatinin se tvoří ve svalové tkáni neenzymovým odštěpením fosforečné skupiny z kreatinfosfátu, makroergické sloučeniny, prvotního energetického zdroje pro svalovou práci. Kreatinin se vylučuje ledvinami, při fyziologických hladinách prakticky pouze glomerulární filtrací. Při hodnotách kreatininémie > 200  $\mu\text{mol/l}$  se vylučuje i tubulární sekrecí.



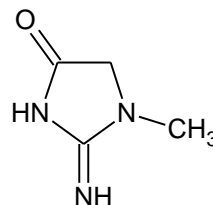
Kreatin

*svaly, mozek, krev, stopy v moči*



Kreatinfosfát

*(rezerva energie)*



Kreatinin

*(anhydrid kreatinu, resp. cyklický amid kreatinu)  
krev, moč, všechny tělní sekrety, sliny, žluč, pot, likvor*

### 8.2.1. Metody stanovení kreatininu

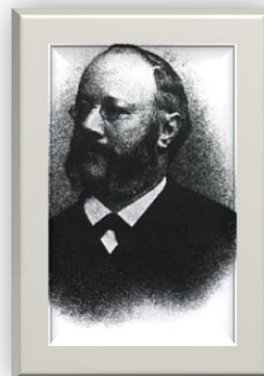
- Jaffého reakce** (reakce kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí)  
Existuje ve dvou provedeních, jako metoda konstantního času (s deproteinací biologického vzorku) a kinetické stanovení (bez deproteinace).
- Stanovení s kyselinou 3,5-dinitrobenzoovou
- Stanovení s 1,4-naftochinon-2-sulfonanem
- S *o*-nitrobenzaldehydem a následnou Sakaguchiho reakcí s  $\alpha$ -naftolem a thyminem (metoda se nehodí pro stanovení v moči)
- Enzymové metody**
  - ISE**
    - potenciometrické stanovení amoniaku po jeho odštěpení kreatininiminohydrolázou ( $\text{kreatinin} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{N-methylhydantoin} + \text{NH}_3$ )
    - amperometrické stanovení peroxidu vodíku (viz kapitola 7, str. 7-3), popis reakce viz dále  
**Barevný test** na str. 8-7
  - UV-test při 340 nm:** kreatininamid hydroláza umožní působení kreatininázy a přeměnu kreatininu na kreatin. Ten je následně kreatinkinázou fosforylován (s využitím ATP) na kreatinfosfát. V reakční směsi přítomný fosfoenolpyruvát se přispěním pyruvátkinázy změní na pyruvát a v předchozí reakci uvolněný ADP se regeneruje na ATP. Pyruvát se v další reakci katalyzované laktát dehydrogenázou hydrogenuje na kyselinu mléčnou, přitom přechází NADH na NAD. Sleduje se pokles absorbance při 340 nm (viz schéma na str. 8-8).
  - Barevný test:** kreatinin hydrolyzuje za přispění kreatininázy na kreatin, ten dále hydrolyzuje za přispění kreatinázy na sarkozin a močovinu, sarkozin se oxiduje pomocí sarkozinoxidázy na glycin, formaldehyd a peroxid vodíku; peroxid vodíku, 4-aminoantipyrin a TOOS [N-ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-m-toluidin] reagují za odštěpení vody na červené chinonové barvivo (viz schéma na str. 8-7)  
**Poznámka:** enzymové metody jsou již delší dobu doporučeny pro pracoviště s pacienty v transplantačních programech a na hemodialýze. V současnosti je enzymová metoda doporučena ČSKB k všeobecnému používání jako standardizovaná metoda s návazností na primární standard, která nemá nedostatky Jaffého reakce, a kterou by měla postupně nahradit.
- Izotopová diluce** ve spojení s plynovou nebo kapalínovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (referenční metoda, viz Kapitola 3, *Analytická fáze*, str. 3-9)

#### 8.2.1.1. Reakce Jaffé

Max Jaffé (25.7.1841 – 26.10.1911), německý biochemik, profesor farmakologie, popsal reakci kreatininu s alkalickým pikrátem za tvorby červenooranžového zbarvení již v roce 1886 (!). Pro stanovení kreatininu v séru ji poprvé použil Folin v roce 1904. Od té doby prošla tato reakce mnoha úpravami a obměnami s cílem vylepšit její specifitu.

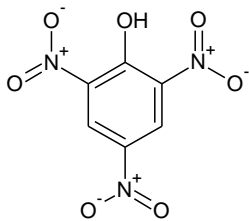
**Poznámka:** Ačkoliv jméno Jaffé má zřejmě francouzský původ, jedná se o německého badatele a výslovnost je shodná s psanou podobou, tedy **jafé** (nikoliv žafe, džafe apod., jakkoliv se to v této podobě u nás hojně používá).

Jedná se tedy o reakci *kreatininu s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí*.

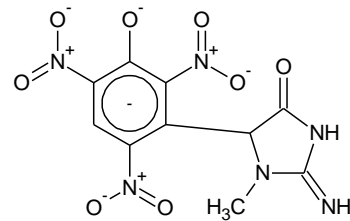


Max Jaffé

Reakce je jednoduchá, ale nespecifická, doposud je to však nejrozšířenější reakce, která je postupně nahrazována specifitější reakcí enzymatickou (širšímu a rychlejšímu rozšíření enzymové metody brání zejména ekonomické důvody). Výsledkem Jaffého reakce je nestálý adukt červenooranžové barvy, v kyselém prostředí se rozpadající:



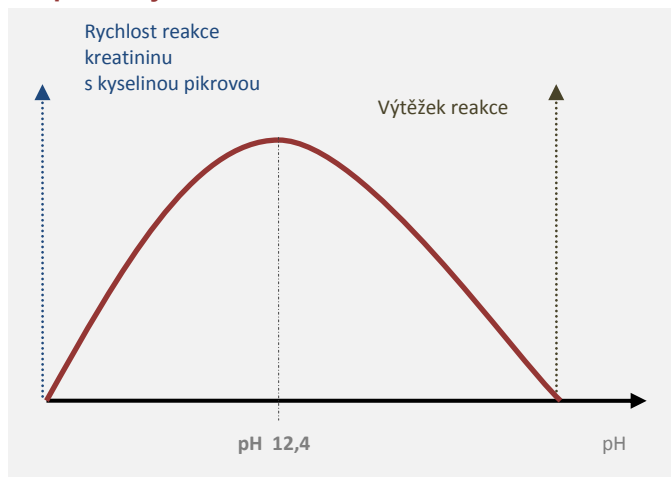
Kyselina pikrová  
(2,4,6-trinitrofenol)



Komplex pikrát-kreatinin  
(okyselením se rozpadá)

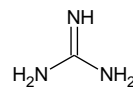
Kromě kreatininu reagují při Jaffého reakci ve vedlejších reakcích i jiné látky (tzv. chromogeny, což jsou v daném případě zejména bílkoviny, glukóza, kyselina askorbová, guanidin, aceton, kefalosporiny a  $\alpha$ -oxokyseliny, jako jsou kyselina acetoctová a pyrohroznová), které snižují specifitu metody pro stanovení kreatininu, tj. vedou k falešně vyšším výsledným hodnotám (v plazmě se podle metody jedná o navýšení cca 18 – 35  $\mu\text{mol/l}$ ), kromě bilirubinu, který výtěžnost reakce snižuje (u kinetického stanovení, viz dále).

### Vliv pH na výtěžek reakce



**Poznámka:** Kefalosporiny (cefalosporiny) jsou beta-laktamová antibiotika, deriváty kyseliny 7-aminocefalosporanové. Název pochází od *Cephalosporium*, plísně, z níž byly tyto látky poprvé izolovány.

*Guanidin*, je silně zásaditá sloučenina vyskytující se v rostlinách a nižších živočíchách, s vlastnostmi parasympatického stimulantu. Mnohé deriváty guanidinu slouží jako léčiva.



#### Guanidin

(při pozorném pohledu na vzorec kreatinu na str. 7-9 zjistíte, že guanidin je jeho součástí).

Vzrůstu rychlosti reakce kreatininu s kyselinou pikrovou konkuruje vzrůst rychlosti reakce s  $\text{OH}^-$  ionty, výtěžek je tedy nižší (z obrázku je patrné, že optimálním pH je pH 12,4)

**Relativní rychlosti reakce** jsou následující:

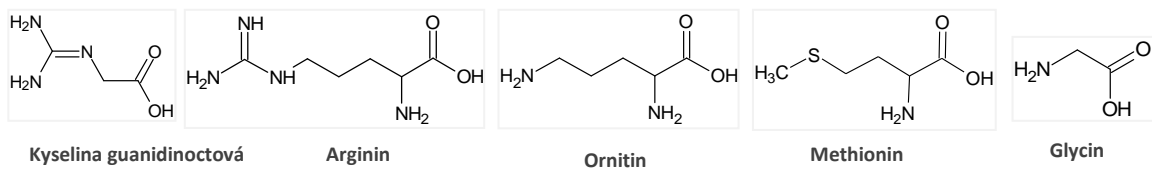
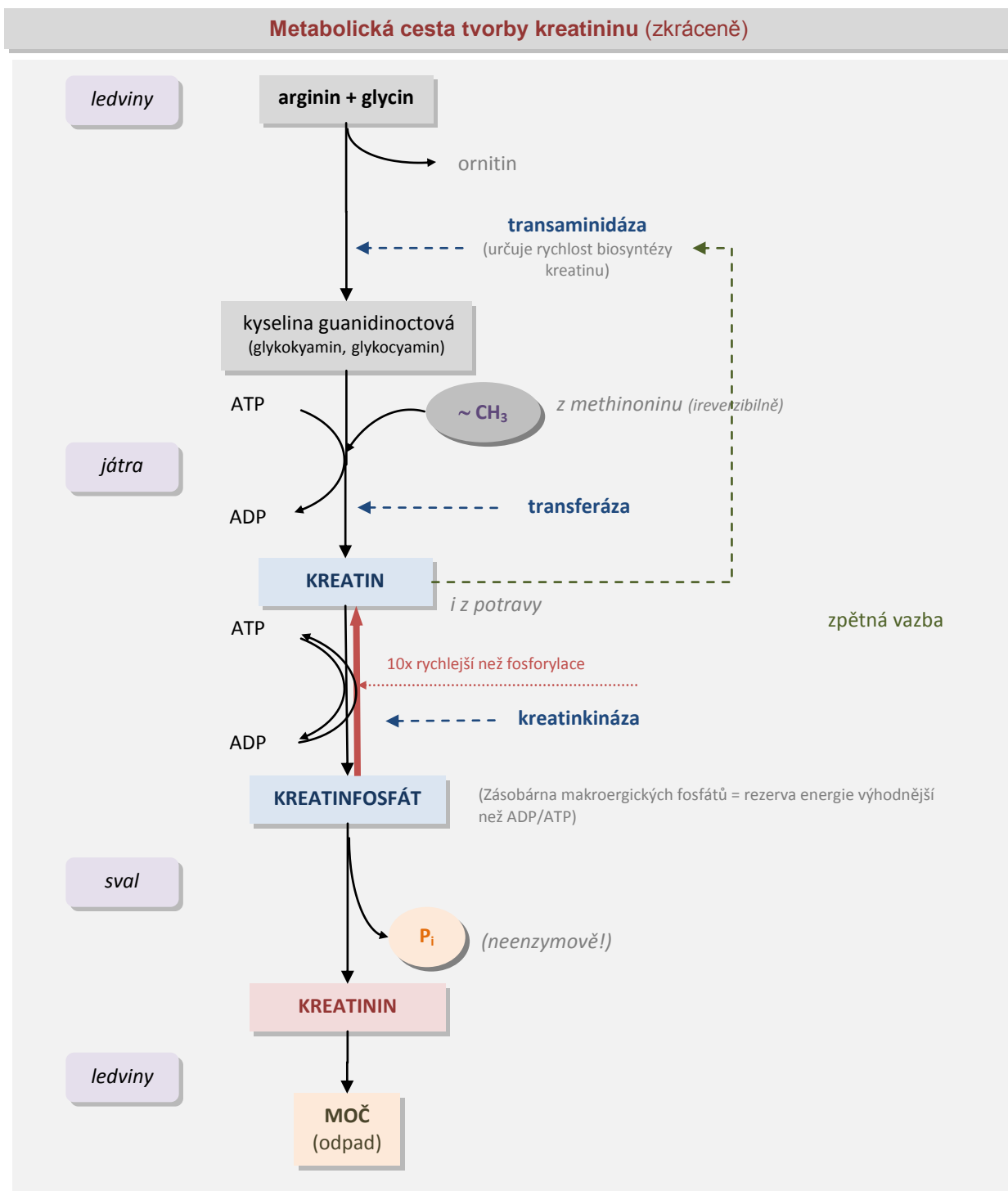
1. chromogeny velmi rychle reagující (nejvíc pyrohroznán)
2. kreatinin (v alkalickém prostředí!)
3. chromogeny pomalu reagující

### Běžně se jako rušivé látky projevují především:

- *Glukosa* – ovlivňuje již v koncentracích nad 6,1 mmol glukosy/l, hodnoty nad 15 mmol glukosy/l ovlivňují stanovení kreatininu takovým způsobem, že výsledky jsou nespolehlivé
- *Kyselina acetoctová* – pokud je v moči, je nutno ji odstranit povařením
- *Bilirubin* – při kinetickém stanovení (ne při stanovení s deproteinací, kdy je odstraněn) snižuje výsledky stanovení kreatininu; při koncentracích nad 100 mmol bilirubinu/l je nutno bilirubin ve vzorku potlačit (ferrikyanidem, jódem aj.)

Vliv rušivých látek je omezen správnou volbou optimálních podmínek (čas, pH, teplota), použitím čerstvých, správně uchovávaných reagensů (zejména NaOH), úpravou (modifikací) reakce (např. okyselením se eliminuje vliv pomalu reagujících chromogenů).

Reakce se používá jak pro stanovení v séru (plazmě), tak v moči (moč je nutno před analýzou ředit).



**Diagnostická souprava PLIVA-Lachema Diagnostika:**

**Reakční podmínky pro BLT test CREAT 100** (určen pro manuální stanovení)

- Reakční doba: 15 – 20 minut
- pH: 12,3 – 12,5 (nejkritičtější faktor)
- Teplota: 25 ± 1,5 °C (kritické je ovlivnění pH teplotou)
- Vlnová délka: z pásma 490 – 520 nm (505 nm)
- Spektrální šíře: 1 – 2 nm (méně jak 10)
- Reakce OH iontů je kompenzována porovnávacím vzorkem (slepým pokusem), ostatní chromogeny volbou reakční doby.

**Poznámka:** V praktickém životě je potřeba dát pozor na to, aby hydroxid sodný byl vždy čerstvý a aby dávkovače dávaly správné množství jak hydroxidu, tak kyseliny pikrové (platí i pro provoz na automatických analyzátořech)

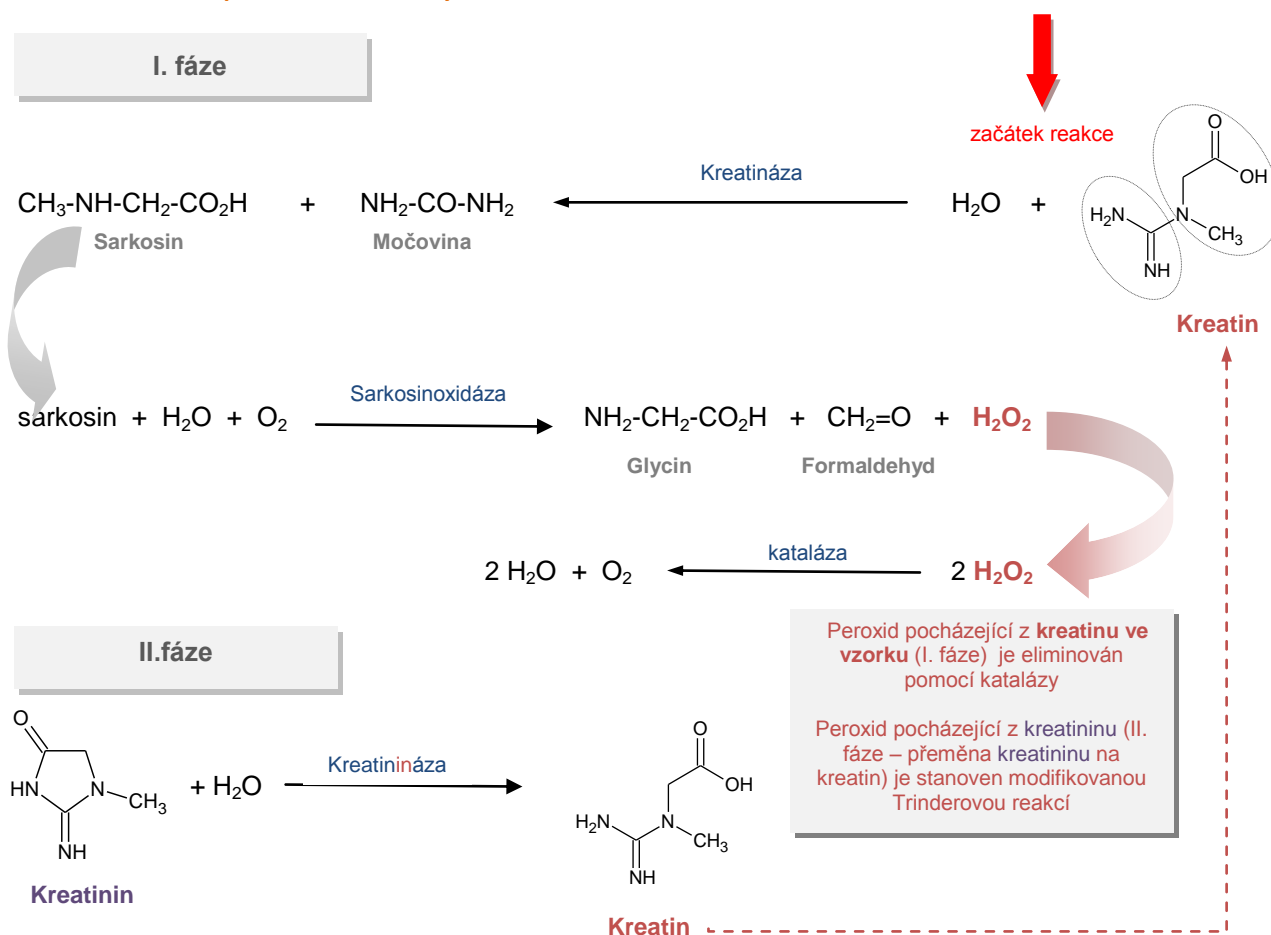
**Stanovení v moči se používá pro**

- odhad glomerulární filtrace (viz Clearance endogenního kreatininu)
- odhad úplnosti sběru moče: odpad kreatininu vztážený na kg hmotnosti by se neměl snížit víc jak o 30% proti očekávané hodnotě
- standardizaci odpadu látek močí: koncentrace stanovované látky se přepočítává na 1 mmol kreatininu a tím se eliminuje vliv různé koncentrace moči

**8.2.1.2. Enzymové reakce****Barevný test**

V první reakci, kreatinasa a sarkosin oxidasa hydrolysuje endogenní kreatin za vzniku peroxidu vodíku, který je eliminován katalasou. Po přidání kreatininasy a 4-aminoantipyridinu, pouze kreatin vytvořený z kreatininu účinkem kreatininasy je následně hydrolyzován kreatinase a sarkosin oxidasou za vzniku peroxidu vodíku. Tento nově vzniklý peroxid vodíku reaguje s N-etyl-N-sulfopropyl-m-toluidinem (ESPMT) za katalýzy peroxidasou. Absorbance vzniklého komplexu při 546 nm je přímo úměrná koncentraci kreatininu ve vzorku.

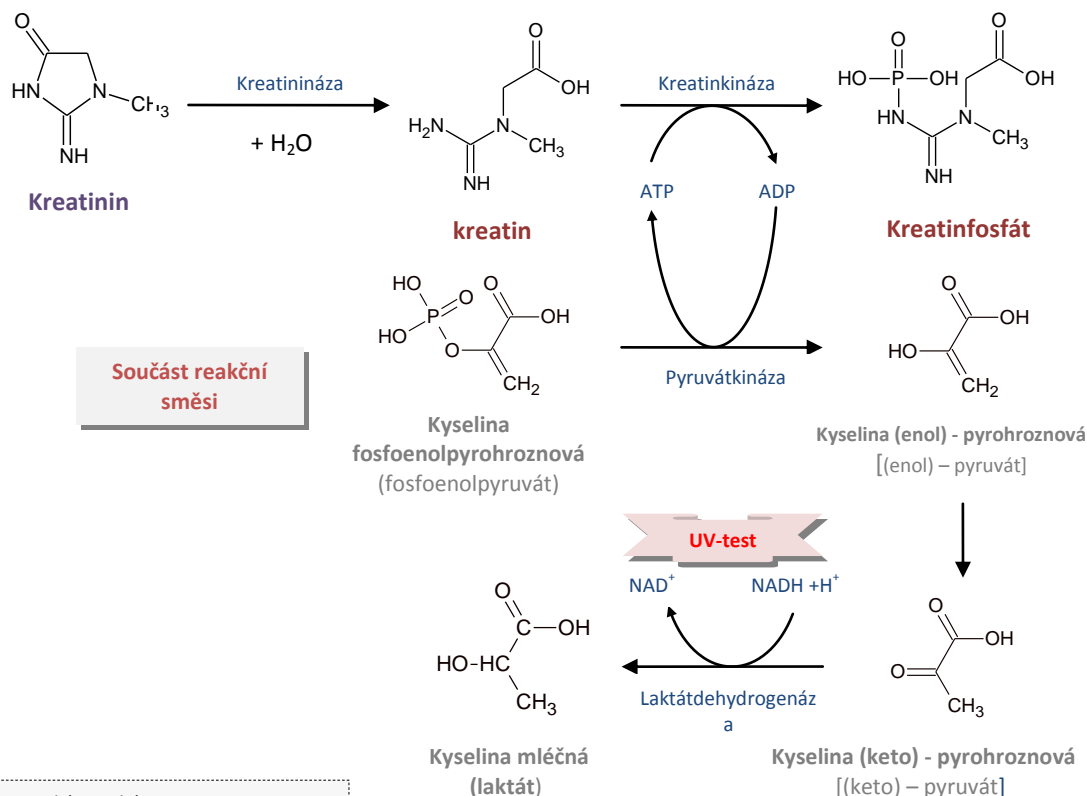
(Souprava CREAT E L 204 Erba-Lachema Diagnostika, citace z příbalového letáku).

**Reakční schémata pro zvědavé studenty:**

Po přidání kreatininázy, tj. od kreatininu, běží dále reakce podle schématu I. fáze (naznačeno šipkou); tvoří se peroxid vodíku tentokrát pochází výlučně z **kreatininu** a je stanoven modifikovanou *Trinderovou reakcí* (intenzita zbarvení barevného pigmentu je proporcionální původní koncentraci kreatininu ve vzorku):



(TOOS)

**UV test**

**Poznámka k názvosloví některých enzymů** (srovnej s kapitolou 12 Enzymy):

EC 3.5.2.10 Kreatinin amidohydroláza, též Kreatinin hydroláza nebo Kreatinináza; hydrolázy tohoto typu se také nazývají amidázy  
 EC 3.5.3.3 Kreatin amidohydroláza, též Kreatináza. Přehledný seznam enzymů včetně užívaných názvosloví ve [Wikipedii](#)

**8.2.2. Klinické poznámky****↑ Zvýšená koncentrace sérového kreatininu:**

Viz odstavec 7.2.1.2. kde se diskutují příčiny zvýšené urémie (funkční i anatomické selhání ledvin, obstrukce v močových cestách atd.). Kreatininémie výrazně stoupá u chronického selhání ledvin (hodnoty u těžkého selhání jsou až nad 1000 μmol/l), u akutních stavů a u funkčního selhání ledvin je zvýšení kreatininémie mírnější. Indikovaný stav pro umělou ledvinu je pro pacienty s hodnotami kreatininu mezi 700 – 800 μmol/l. Zvýšený příjem bílkovin a fyzická námaha ovlivňují hladinu kreatininu v krvi jen málo, proto je kreatinin *specifičtější* ukazatelem porušené funkce ledvin než močovina. Hladina kreatininu v séru však není citlivá na rané poškození ledvin a během léčby selhání ledvin reaguje na hemodialýzu pomaleji, než močovinový dusík v krvi (BUN).

**↓ Snížená koncentrace sérového kreatininu:**

Fyziologicky v dětském věku a u těhotných (zvýšená glomerulární filtrace – viz „Močovina“). U osob s malou svalovou hmotou, u nemocných s myodystrofií a u osob dlouhodobě upoutaných na lůžko.

**Referenční meze** se liší podle pohlaví, věku a hmotnosti testované osoby i podle použité metody.

	<b>Jaffé metoda</b>	<b>Enzymová metoda</b> (Erba Lachema s.r.o.)
<b>Krev:</b>		
muži	do 124 μmol/l	44 – 90 μmol/l
ženy	do 115 μmol/l	44 – 87 μmol/l
děti	výrazně nižší hodnoty (malá svalová hmota)	
<b>Moč:</b>	do 18 mmol/24 hod.	5 – 18 mmol/24 hod.
Množství vyloučené denně je úměrné svalové hmotě a je <i>individuální konstantou</i> člověka.		
<b>Odpad na kg hmotnosti</b>		
muži:	0,097 - 0,177 mmol/kg/24 hod	
ženy:	0,124 - 0,230 mmol/kg/24 hod	

**Poznámka:** poškození ledvinové tkáně z více jak 1/3 vede k poklesu hladiny kreatininu v moči



### 8.2.3. Clearance endogenního kreatininu

to clear (angl.) = čistit, očistit, vyčistit, vyprázdnit, vyklídit, uvolnit

clearance (angl.) = vyklizení, vyprázdnění, odstranění, odklizení, asanace; výprodej zásob; vybírání (schránky) [vyslov: klírens]

endogenní = vnitřní (tzn. vytvořený v organismu, organismu vlastní, nedodaný zvenku)

Jak bylo uvedeno v kapitole 5, každou sekundu se ve zdravé ledvině tvoří přibližně 2 ml primární moči. Snížení filtrace vypovídá o snížené funkci ledviny. Jednou z cest, jak se (nepřímo) přesvědčit o filtrační schopnosti ledviny, je stanovení tzv. *clearance* (resp. *clearance indikátorové látky*).

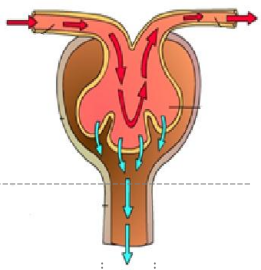
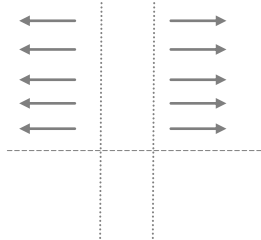
Pod pojmem *clearance* se rozumí

- **objem** krve nebo plazmy, obsahující to množství indikátorové látky, které se močí vyloučí za jednu sekundu
- **objem** krve nebo plazmy „očistěné“ zcela od takového množství (indikátorové) látky, které je v jednosekundovém vzorku moči (což jsou výroky v podstatě totožné).

Jde tedy o to, zjistit tento objem, většinou výpočtem z údajů *koncentrace podané (či endogenně vytvořené) indikátorové látky v séru/plazmě a její koncentrace v moči*, sbírané po určitou konkrétní dobu (obvykle 24 hodin). Rutinním testem pro vyšetření filtrační funkce ledvin je *kreatininová clearance*, resp. *clearance endogenního kreatininu*.

**Poznámka:** Clearance je fiktivní pojem, protože se při jednom průtoku ledvinami plazma zcela nezbaví dané látky (výjimkou je aminohippurát).

#### Přehledné schéma clearance endogenního kreatininu

Anatomie	Nefron	Obecné pojmy		Příklad	
Glomerulus		Filtrace plazmy	$C_P$ (koncentrace kreatininu v plazmě)	$C_P$ 72 $\mu\text{mol/l}$	
		Primární moč	$C_P$ (stejná koncentrace kreatininu v primární moči jako v plazmě)	$V_P$ (objem plazmy očistěné glomerulární filtrací za 1 sekundu od kreatininu)  $V_P = K_I \cdot V_s = GF$	$V_P$ $83 \cdot 0,0174 =$ $= 1,44 \text{ ml/s}$  Ref. hodnota: 1,7 – 2,0 ml/s
Tubuly		Tvorba definitivní moči (zde především zahuštění)	$K_I$ (koncentrační index udává, kolikrát je koncentrace kreatininu v moči vyšší než v plazmě, čili zkoncentrování moči)  $K_I = C_M / C_P$	$K_I$ $5936/72 = 83$	
Ledvinová pánvička		Definitivní moč	$C_M$ (koncentrace kreatininu v definitivní moči, vyšší než v plazmě, moč byla zkoncentrována)	$V_{24}$ (objem moči za 24 hodin v ml)  $V_s$ (objem moči za sekundu v ml)  $V_s = V_{24} / 60 \cdot 60 \cdot 24$ $V_s = V_{24} / 86400$	$V_{24}$ 1500 ml  $V_s$ $1500/60 \cdot 60 \cdot 24 =$ $= 1500/86400 =$ $= 0,0174$  $C_M$ 5936 $\mu\text{mol/l}$

#### Legenda k tabulce:

$V_P$  = objem plazmy očistěné glomerulární filtrací za 1 sekundu

$V_{24}$  = objem moči sbírané 24 hodin

$V_s$  = objem moči vyloučené za 1 sekundu (tj.  $V_{24} / 24 \text{ hod} \cdot 60 \text{ min} \cdot 60 \text{ s}$ )

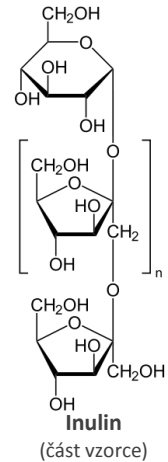
$C_M$  = koncentrace kreatininu v definitivní moči

$C_P$  = koncentrace kreatininu v plazmě (= koncentrace kreatininu v primární moči)

$K_I$  = koncentrační index (tj.  $C_M / C_P$ )

$GF$  = glomerulární filtrace =  $V_P$  = clearance (nedochází-li k tubulární resorpci či sekreci, je clearance rovna glomerulární filtraci  $GF$ )

**Indikátorová látka** by při průchodu ledvinou neměla být ledvinou ani resorbována, ani vylučována (secernována), ale pouze filtrována. Tyto podmínky nejlépe splňuje *inulin* (polysacharid nahrazující u některých rostlin škrob). Proto se *inulinová clearance* považuje za „zlatý standard“ tohoto typu vyšetření. Nicméně i endogenně tvořený *kreatinin* vykazuje podobné vlastnosti jako inulin a vylučování kreatininu do moči je považováno za míru glomerulární filtrace. Vyšetření se nazývá *clearance endogenního kreatininu*, nebo zkráceně *kreatininová clearance*. Mírné vylučování kreatininu tubuly navyšuje hodnotu kreatininové clearance oproti aktuální GFR o 10 – 20%, což je přijatelné, avšak při kreatininémii >200 μmol/l tubuly secernují kreatinin již významně a vyšetření nelze použít.



Výpočet pro *glomerulární filtraci GF* vychází:  $GF \approx V_p = V_s \times KI = V_s \times \frac{C_M}{C_P}$  (= clearance)

Referenční hodnoty: [1,7 – 2,0 ml/s], čili jednosekundový objem od kreatininu očištěné plazmy je roven sekundovému objemu vyloučené moči krát zahuštění moči, tedy koncentrační index. Koncentrační index je roven koncentraci kreatininu v definitivní moči lomeno koncentrace kreatininu v primární moči, tj. v plazmě (až na bílkoviny má primární moč prakticky stejné složení jako plazma). Filtrační plocha v ledvinách je přímo úměrná povrchu těla (S = povrch těla), proto daný výpočet odpovídá konkrétnímu povrchu těla **S**. Pro možnost srovnání výsledků různě velkých osob, tedy s různou velikostí povrchu těla, se výsledky vztahují na jednotkový povrch těla, který je 1,73 m<sup>2</sup>. Povrch těla **S** se získá z údajů o výšce a váze testované osoby, a to odečtením z nomogramu nebo výpočtem. Jeden z možných vzorců pro výpočet povrchu těla je

$$S = 0,0167 \sqrt{m \times h} \quad [m = \text{hmotnost v kg, } h = \text{výška v cm}]$$

Odpovídá-li tedy vypočtená GF povrchu těla S, pak tzv. *korigovaná glomerulární filtrace GF<sub>K</sub>* odpovídá velikosti těla s povrchem 1,73 m<sup>2</sup>: GF ..... S a GF<sub>K</sub> ..... 1,73  
a odtud

$$GF_K = \frac{GF}{S} \times 1,73$$

Referenční hodnoty: [1,28 – 2,29 ml · s<sup>-1</sup> · 1,73 m<sup>2</sup>]; [1,15 – 2,35 ml · s<sup>-1</sup> · 1,73 m<sup>2</sup> - podle Racka]

Kreatininová clearance se většinou vyšetřuje jako *jednorázová*, tj. moč se sbírá jedno sběrné období, nejčastěji 24 hodin. Někdy se moč sbírá ve více intervalech, např. šestkrát po čtyřech hodinách, vypočítá se clearance pro každý interval zvlášť a z výsledků se potom vypočítá průměrná clearance (jako konečný výsledek). V tomto případě se jedná o tzv. clearanci *dělenou (frakcionovanou)*.

**Ideální clearance kreatininu GF<sub>ID</sub>** je clearance vztažená na věk (s věkem clearance klesá – klesá glomerulární filtrace):

$$GF_{ID} = -0,00946 \times \text{věk} + 2,118 \quad [\text{věk je udán v rocích}]$$

**Resorpce R** je definována jako *vstřebaný objem V<sub>R</sub>* připadající na glomerulární filtraci GF, čili *podíl V<sub>R</sub>/GF*. Vstřebaný objem („zahuštění“) je definován

$$V_R = GF - V_S \quad (\text{glomerulární filtrace minus sekundový objem moči}).$$

$$R = \frac{V_R}{GF} = \frac{GF - V_S}{GF} = 1 - \frac{V_S}{GF} = 1 - \frac{C_P}{C_M} \quad \text{Referenční interval: } [0,986 - 0,998]$$

### 8.2.4. Klinické poznámky

↓**Snížení hodnoty GF**: Funkční poškození glomerulů, snížené prokrvení ledviny. Za normální se považuje hodnota v rozmezí GF<sub>ID</sub> ± 30%, velmi snížená je hodnota kreatininové clearance pod 25% GF<sub>ID</sub>.

**Příklad:** Pacientka, 76 roků, s diagnózou pyelonefritida měla při kreatininové clearanci tyto hodnoty:

Sběr moči za 24 hodin = 1400 ml, hodnota kreatininu v séru = 98 μmol/l, kreatinin v moči 6,63 mmol/l, váha 90 kg, výška 155 cm.

Vypočtete hodnoty nekorigované GF a R, zhodnoťte výsledek.

$$GF = V_S \cdot (C_M / C_P) = (V_{24} / 60 \cdot 60 \cdot 24) \cdot (C_M / C_P) = (1400 / 86400) \cdot (6630 / 98) = 0,016 \cdot 67,7 = 1,08 \text{ [ml/s]}$$

$$S = 0,0167 \cdot \sqrt{m \cdot h} = 0,0167 \cdot \sqrt{90 \cdot 155} = 0,0167 \cdot \sqrt{139,5} = 0,0167 \cdot 118,1 = 1,97 \text{ [m}^2\text{]}$$

$$GF_K = (GF \cdot 1,73) / S = (1,08 \cdot 1,73) / 1,97 = 1,87 / 1,97 = 0,95 \text{ [ml/s]}$$

$$GF_{ID} = -0,00946 \cdot \text{věk} + 2,118 = -0,00946 \cdot 76 + 2,118 = -0,719 + 2,118 = 1,40 \text{ [ml/s]; } (0,95 / 1,40) \cdot 100 = 68\% \text{ (tedy sníženo o 32\%)}$$

**Komentář:** Třicetiprocentní rozmezí ideální GF = [0,98 – 1,82]. Naměřená hodnota GF je menší než –30% GF<sub>ID</sub>, je tedy snížena.

Kdyby se nebral v úvahu věk pacientky (tedy ideální GF), je výsledek rovněž pod dolní hranicí normy: 0,95 proti 1,28 resp. 1,15

ml/s. R = 1 – (C<sub>P</sub> / C<sub>M</sub>) = 1 – (98 / 6630) = 1 – 0,0148 = 0,985. Výsledek je těsně pod dolní hranicí normy.

### 8.2.5. Odhad glomerulární filtrace z hodnot sérového kreatininu

Z hodnot sérového kreatininu [S-Kreat] lze odhadnout hodnotu glomerulární filtrace [eGF] pomocí výpočtových metod. Existuje rovnice podle *Cockrofta a Gaulta*, ta je však v současnosti již považována za obsolentní (neaktuální, zastaralá) a od roku 2009 v ČR nedoporučována k používání.

Přednost se dává **rovnici MDRD** (*Modification of Diet in Renal Disease*), která má při použití standardizované metody stanovení sérového kreatininu (enzymově) tzv. zkrácený či čtyřparametrový tvar:

$$eGF = 547,1535 \times [S - Kreat]^{-1,154} \times věk^{-0,203} \times 0,742 \text{ (ženy)} \quad [\text{ml/s/1,73 m}^2]$$

Pro muže je poslední člen rovnice roven "1", pro černou populaci obsahuje rovnice ještě další korekční člen. Výsledek je vztažen na tzv. *ideální povrch těla*, tj.  $1,73 \text{ m}^2$ . Absolutní hodnota odhadnuté glomerulární filtrace se získá vydělením výsledku hodnotou 1,73 a vynásobením skutečnou hodnotou povrchu těla (vzorec pro výpočet povrchu těla viz např. str. 8-10). Pro výpočet [eGF] u dětí a mladistvých do 18 let se tato rovnice nehodí. Pro tuto věkovou kategorii se používá výpočet podle *Schwartz*:

$$eGF = F \times \frac{\text{výška}}{[S - Kreat]} \quad [\text{ml/s/1,73 m}^2]$$

V této rovnici **F** představuje faktor, který je tabelován a nabývá různých hodnot pro různá pohlaví a různé věkové skupiny.

Rovnicí obdobnou rovnici *MDRD* je **rovnice CKD-EPI** (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*; podrobnosti např. [zde](#)), rovněž obsahuje čtyři proměnné, ale je postavena poněkud odlišně, měla by dávat poněkud lepší výsledky než rovnice *MDRD*. V současnosti se v Evropě prosazuje **rovnice Lund-Malmö**, která má proti jmenovaným určité výhody, např. možnost použití pro jedince již od 1 roku věku až po dospělé. Detailnější popis [zde](#). Kromě toho je navržena i tzv. **kvadratická rovnice Mayo Clinic (MCQ)**, ta se však v České republice nepoužívá. Pro výpočtové metody se zásadně doporučuje použití hodnoty koncentrace kreatininu získané *enzymovou* metodou.

**Jiné možnosti odhadu GF** poskytují nízkomolekulární proteiny a polypeptidy, které se při poklesu glomerulární filtrace hromadí v plazmě. Jedná se např. o  $\beta_2$ -mikroglobulin, *C-peptid*, *Cystatin C* aj. Pro odhad glomerulární filtrace je zvl. vhodný zejména **cystatin C**, protože na rozdíl od ostatních jmenovaných je to látka nezávislá (tzn. její produkce a tím i její koncentrace v plazmě/séru) na přítomnosti zánětu, některých nádorů apod. *Cystatin C* patří mezi inhibitory *cysteinových proteáz*, je tvořen dvěma polypeptidovými řetězci, molekula má kladný náboj, relativní molekulová hmotnost je 13 343. Stanovuje se *imunochemicky*, s využitím *nefelometrie* nebo *turbidimetrie*, nefelometrie dává obecně preciznější a přesnější výsledky. Na trhu jsou k dispozici soupravy pro stanovení cystatinu C s principy

- *PENIA* (*particle-enhanced nephelometric immunoassay*) a
- *PETIA* (*particle-enhanced turbidimetric immunoassay*).

(podrobnější popis principů metod [viz](#) kapitola 13, str. 13-21).

Od určité hodnoty koncentrace *Cystatinu C* v plazmě vykazují metody poněkud rozdílné výsledky, proto existují i dvě rovnice pro výpočet odhadu glomerulární filtrace – *Leveyova* (*PENIA*) a *Grubbova* (*PETIA*).

*Levey*:  $eGF = 1,278 \cdot [CysC]^{1,19}$

*Grubb*:  $eGF = 1,412 \cdot [CysC]^{1,68}$  (tato rovnice je použitelná do koncentrace 2,5 mg CysC/l)

[CysC] = koncentrace cystatinu C v krevním séru v mg/l.

Pro vzájemnou srovnatelnost je vyžadováno použití certifikovaného referenčního materiálu. V současné době je k dispozici certifikovaný referenční materiál pro *cystatin C* **ERM DA-471/IFCC**, jehož certifikované hodnoty byly určeny metodami *RID*, *PETIA* a *PENIA* a jsou nabízeny soupravy s návazností na tento materiál).

V roce 2014 *Grubb* a celá řada dalších spolupracovníků vyvinuli, za pomoci sedmi metod stanovení standardizovaných podle mezinárodního kalibrátoru, novou rovnici pro odhad GF z koncentrace *cystatinu C*, prakticky nezávislou na metodě stanovení a bez členů určujících pohlaví a rasu.

Český překlad práce lze nalézt např. ve firemním časopisu fy Roche Diagnostics, [Labor Aktuell](#), 01/15, str. 14 – 23.

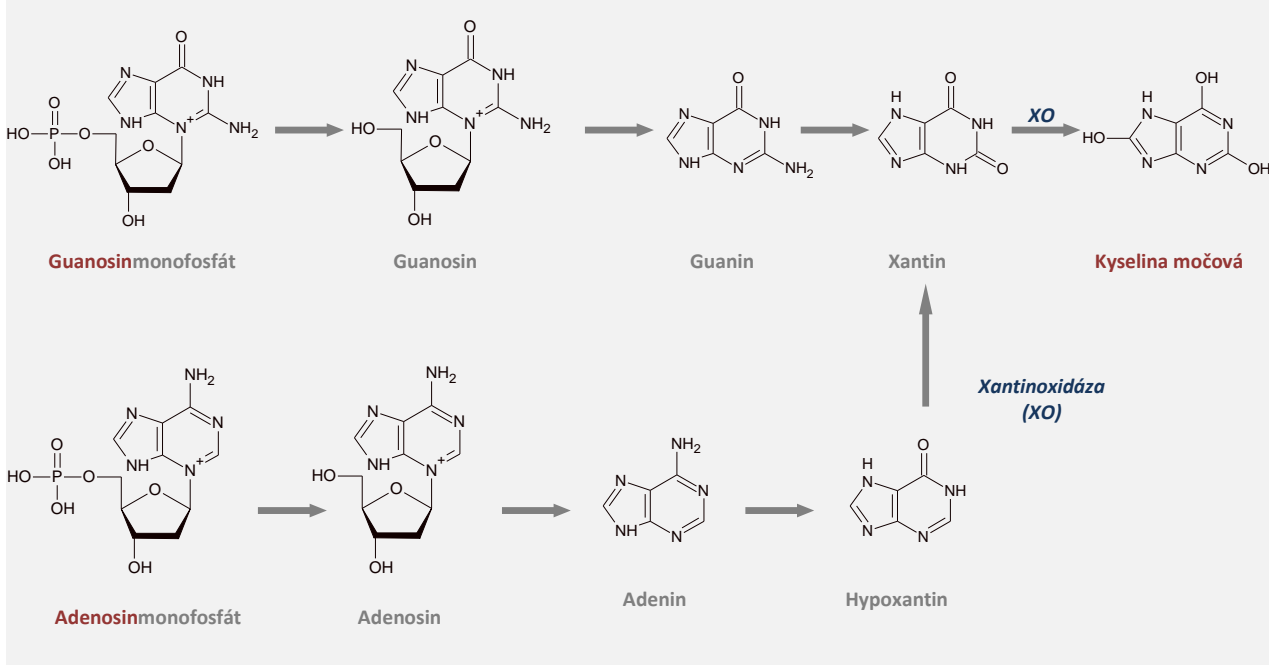
*Cystatin C* je lepším ukazatelem funkce glomerulů než clearance endogenního kreatininu! Je třeba zvážit i výhodu stanovení v plazmě před sběrem moči!

**Poznámka:** Z hlediska rané detekce *akutního ledvinového selhání* (AKI) se jako velmi nadějný jeví nový marker z rodiny lipokalinů, malých sekrečních proteinů účastnících se převážně transmembránových přenosů lipofilních substancí, *neutrofilní lipokalin* *asociovaný s gelatinasou* (*NGAL*), jehož hladina v moči i v plazmě se oproti hladině *S-kreatininu* v případech hrozícího AKI zvyšuje podstatně rychleji, řádově v hodinách. Základní zkušenosti v klinické praxi však teprve musí přijít. Srovnej též v kapitole 16, *Markery* na str. 16-19. *Stručně k dané problematice viz. např. zde.*

### 8.3. Kyselina močová

Kyselina močová (1,3,8-trioxopurin) – u člověka a primátů konečný produkt katabolismu *purinových* látek (adenin, guanin). Adenin a guanin jsou součástí především nukleových kyselin (*viz* kapitola 22), ale i některých koenzymů (ATP, NAD(P) aj.). Kyselina močová vzniká jak z purinových látek tělu vlastních, tak z purinových látek přivedených do organismu potravou (!).

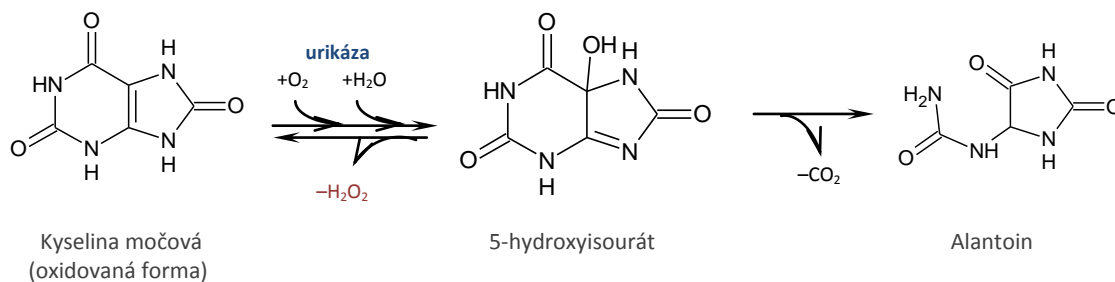
#### Tvorba kyseliny močové



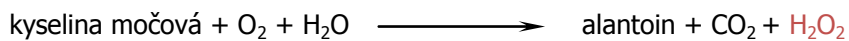
**Obecně:** nukleové kyseliny → nukleotidy → nukleosidy → volné báze → *kyselina močová*

To je katabolická dráha purinových bází. Ty ovšem mohou být zčásti přeměněny zpět na nukleotidy o opětně využity k syntéze nukleových kyselin.

Ostatní savci přeměňují kyselinu močovou dále na *allantoin (alantoin)*:



**Sumárně zapsaná rovnice tvorby alantoinu:**



Kyselina močová není pouze odpadní látkou, je významným *antioxidantem* a chrání organismus před účinky *volných radikálů*. Přeměna na allantoin probíhá i u člověka (oxidací kyseliny močové působením volných radikálů), malé množství allantoinu se dá prokázat v krvi člověka a *toto množství je ukazatelem zátěže organismu volnými radikály*.

Asi 90% kyseliny močové profiltrované glomeruly se resorbuje v proximálním tubulu. V distálním tubulu dochází jednak k sekreci kyseliny močové, jednak k její absorpci. Pochody v distálním tubulu mohou být ovlivněny řadou aniontů a léků. Zbývající (neresorbovaný) podíl kyseliny močové se vylučuje močí. Kyselina močová je špatně rozpustná ve vodě. Tak mohou vznikat krystaly v okolí kloubů (dna) a „kameny“ v močových cestách.



**a. Příčiny zvýšené produkce kyseliny močové**

- zvýšený příjem purinů v dietě (maso, zvěřina, vnitřnosti)
- zvýšená syntéza purinů díky zvýšené aktivitě příslušného enzymu
- zvýšená degradace nukleových kyselin při zániku velkého množství buněk (po ozáření, po léčbě cytostatiky, pneumonie aj. chorobné stavy)
- zvýšené odbourávání ATP (např. po zátěži)
- u některých dědičných onemocnění postihujících enzymový aparát metabolismu adeninu a guaninu

Hyperurikémie obecně mohou být projevem dědičné poruchy (defekt určitého enzymu, primární hyperurikémie, viz. odst. 8.5.), příkladem jsou *Lechův-Nyhanův syndrom* (nefunkční hypoxantinguaninfosforibosyl transferáza) a *Von Gierkeho choroba* (nefunkční glukosa-6-fosfatáza), nebo jsou důsledkem jiné choroby (sekundární hyperurikémie), např. karcinomu, psoriázy, (lupénky), myeloproliferativních procesů, léčby diruetiky či zvýšeného tkáňového obratu.

**b. Příčiny sníženého vylučování kyseliny močové**

- stavy se sníženou glomerulární filtrací
- soutěž některých aniontů s kyselinou močovou o aktivní sekreci v distálním tubulu (takto působí např. laktát, thiazidová diuretika aj.); tubulární sekreci kyseliny močové snižuje i alkohol

**Pro zvědavé studenty:**

Syntéza purinových nukleotidů probíhá v organismu *de novo* a organismus si tuto syntézu pečlivě hlídá. Purinové nukleotidy se budují sledem energeticky náročných reakcí a celý postup začíná na fosforibosylpyrofosfátu (PRPP). Klíčovou roli regulace syntézy zde hraje hned první enzym, PRPP-glutamylamidotransferáza. AMP, ADP, GMP a GDP zpětnově ovlivňují (inhibují) aktivitu této transferázy, takže organismus si tvoří pouze potřebné množství purinových nukleotidů. Aktivita zmíněného enzymu může být geneticky pozměněna, a to ve smyslu zvýšené rychlosti reakce ( $V_{max}$  je vyšší oproti „normálu“), vyšší afinity k PRPP nebo rezistence k inhibici zpětnou vazbou. Každá z těchto poruch vede ke zvýšené produkci purinových katabolitů, tj. zejména kyseliny močové. Klinické projevy této genetické poruchy (těchto genetických poruch) se nazývají **dna**.

**Dna (arthritis uratica, podagra)**, je metabolické onemocnění, kdy došlo k přesáhnutí meze rozpustnosti urátu (močanu) sodného. Bývá doprovázena hyperurikémií, ale neplatí to vždy. Rovněž tak hyperurikémie nemusí mít příznaky dny. Vznikající krystaly této látky se ukládají v okolí kloubu a vyvíjí se zánětlivá reakce, vzniká tzv. *dnavá artritida*. Tyto krystalky mohou způsobit i mnohem závažnější onemocnění, kterým jsou nefropatie, s možným tragickým scénářem selhání ledvin a smrti.

Léčba se snaží potlačit zvýšenou tvorbu kyseliny močové, zvýšit její vylučování, případně odstranit primární onemocnění, které k hyperurikémii vede.

**Léčba:** Léčba se snaží omezit tvorbu kyseliny močové nebo zvýšit její exkreci (nejsou-li postiženy ledviny), dále se používají léky s protizánětlivým účinkem, omezuje se tmavé maso a alkohol v dietě. U sekundární dny se ovlivňuje, pokud to jde, primární onemocnění.

**↓ Hypourikémie:**

Zhusta bývá příčinou působení léků, které mohou působit jako inhibitory xantinoxidázy, nebo mohou snižovat reabsorpci kyseliny močové v distálním tubulu. Možnou příčinou může být i (vzácný) vrozený defekt tvorby xantinoxidázy, případně vážné postižení jater. V tomto případě se mohou u postižené osoby vyskytovat xantinové močové konkrementy. Nález hypourikémie má malý diagnostický význam

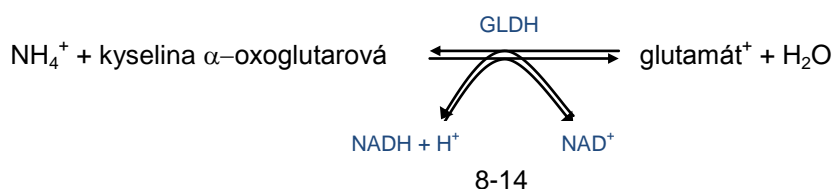
**8.4. Některé další dusíkaté látky****8.4.1. Amoniak**

Vzniká při degradaci dusíku aminokyselin v játrech, kde z něj vzniká močovina a v proximálním tubulu ledvin hydrolyzou glutaminu.

**Referenční rozmezí** amoniaku v plazmě se uvádí 35 – 50  $\mu\text{mol/l}$  (záleží na použité metodě). Odběr plazmy je speciální (anaerobní s okamžitým chlazením) a zpracování materiálu musí být bezprostřední. Nejčastější indikací tohoto vyšetření je selhání jater.

**8.4.1.1. Metody stanovení amoniaku**

Využívá se typu reakce, známého ze stanovení močoviny, s glutamátdehydrogenázou:

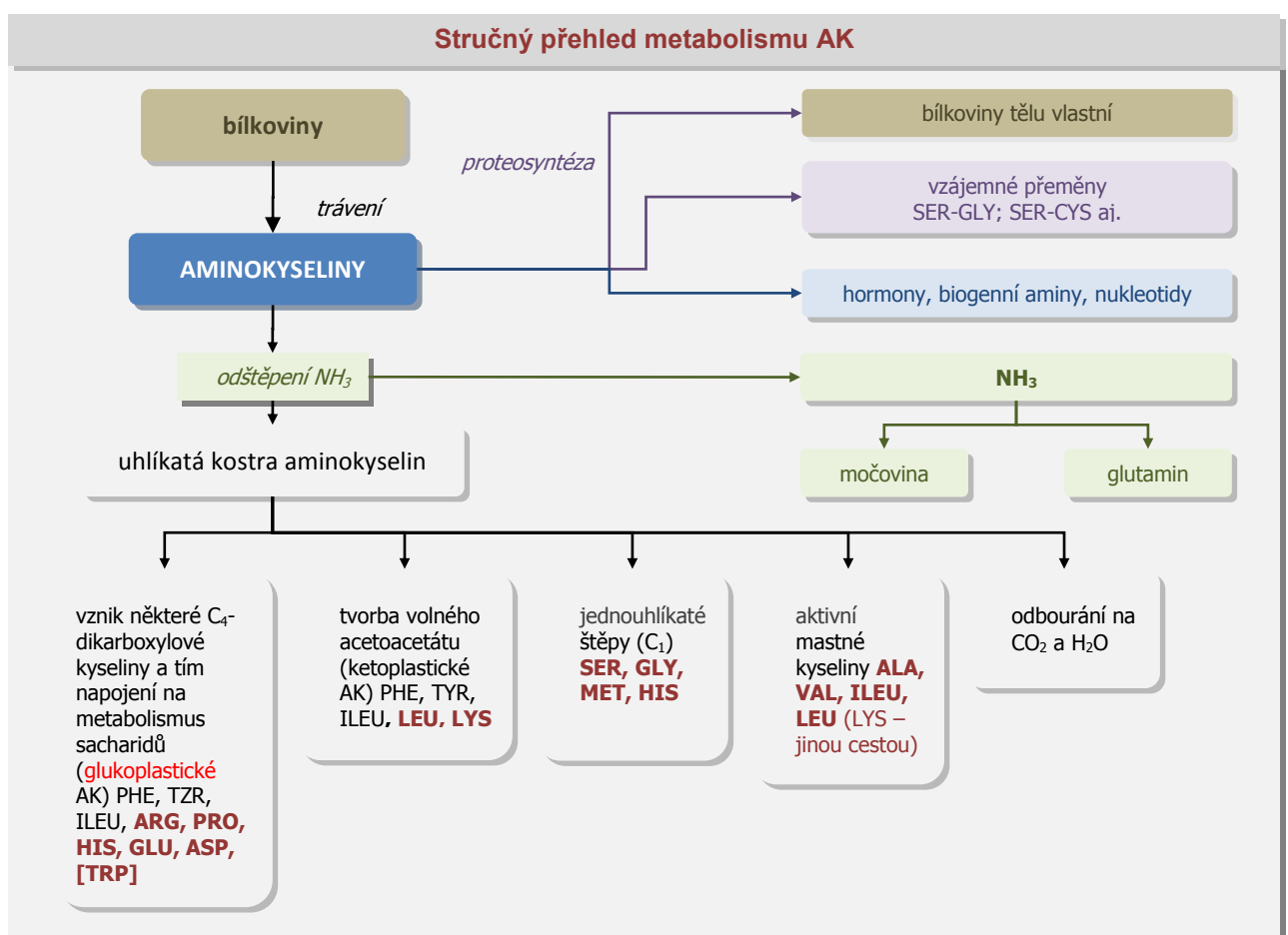


Při analýze je nutno pracovat s vysoce čistou vodou prostou amoniaku, který se ve stopách vyskytuje běžně v ovzduší. Diagnostická souprava může obsahovat ionex na bezprostřední přípravu čisté vody. Odběr musí být anaerobní, vzorek uchovávaný při teplotě tajícího ledu a analýza musí proběhnout do 1 hodiny po odběru. Použití moderního odběrového systému a bezprostřední doprava vzorku do laboratoře s okamžitou následnou analýzou preanalytické podmínky zjednodušují.

**Indikace vyšetření:** U pacienta se projevují mentální změny, dezorientace, ospalost, nebo když upadne do kómatu; u pacientů se stabilizovanou jaterní chorobou v případě náhlého zhoršení stavu (spolu s dalšími jaterními testy).

### 8.4.2. Aminokyseliny

Mezi látky nebílkovinného dusíku patří i aminokyseliny. Na rozdíl od močoviny, kreatininu a kyseliny močové však nejsou odpadními látkami, ale prekursori (výchozími látkami), ze kterých si organismus staví bílkoviny tělu vlastní. Aminokyseliny jsou i důležitými metabolity využívané organismem k získávání energie i k přeměně na různé biologicky významné sloučeniny, jak je zřejmé z jejich bohatého metabolismu, stručně znázorněného na schématu. Navzdory svému významu nejsou aminokyseliny v ledvinných tubulech zcela resorbovány, a proto se nacházejí i v moči.



**Volné aminokyseliny se stanovují** v séru a/nebo v moči, a to:

- jako tzv. *α-aminodusík* (tj. souborně všechny aminokyseliny; aminodusík podává informaci o celkovém množství aminokyseliny v dané tělesné tekutině a má jen omezený diagnostický význam)
- jako *spektrum aminokyselin*
- *cíleně konkrétní aminokyseliny* (hydroxyprolin, cystin...)

**Indikace stanovení aminokyselin**

- u jaterního selhání (především jako *α-aminodusík*)
- u nemocných v těžkém stavu (*spektrum*)
- při diagnostice *dědičných metabolických poruch* (*cílené stanovení*, případně *spektrum aminokyselin*)
- při posuzování kostního metabolismu (*cílené stanovení* aminokyselin hydroxyprolinu a hydroxylyzinu z kolagenu – viz kapitola 19 *Biomarkery*, [str.19-25.](#)).

Změny v hladinách plazmatických aminokyselin nastávají zejména u *jaterního selhání* a *akutní hepatitidy*:

**Jaterní selhání**

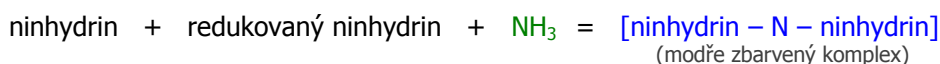
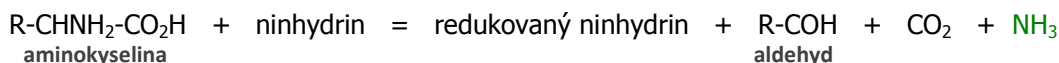
↑: alanin, arginin, kyselina glutamová  
↓: glycin, serin, threonin

**Akutní hepatitida**

↑:fenylalanin, tyrozin

### 8.4.2.1. Metody stanovení aminokyselin

$\alpha$ -aminodusík se stanovuje *ninhydrinovou reakcí* - stručné schéma reakce:



**Popis provedení reakce pro zvědavé studenty:** biologický materiál se deproteinuje, aminokyseliny v supernatantu se potom nechají reagovat za varu s činidlem (ninhydrin); dochází k odbourání aminokyselin na aldehyd a oxid uhličitý, současně se uvolní amoniak, který s ninhydrinem reaguje za tvorby sloučeniny složené ze dvou molekul ninhydrinu spojených atomem dusíku; výsledkem je modrý roztok, vhodný k fotometrii; při stanovení interferují močovina a pochopitelně amoniak z okolí, které s ninhydrinovým činidlem reagují také; reakce je poměrně citlivá, lze jí zjistit množství aminokyselin nižší než 1  $\mu\text{g}$ .

Druhou možností je reakce aminokyselin s **fluorescaminem**; lze zjistit nanogramová množství aminokyselin

**Referenční rozmezí u dospělých:** 2,4 – 4,0 mmol/l (u novorozenců jsou hodnoty vyšší)

**Jednotlivé aminokyseliny lze oddělit a stanovit chromatografickými a elektroforetickými metodami**, o kterých se podrobněji pojednává v hodinách *Vybraných laboratorních metod*.

**Spektrum aminokyselin lze stanovit** jak chromatografickými, tak elektroforetickými technikami

**Princip chromatografických metod:** molekuly dělených látek se rozdělují (podle různých fyzikálně-chemických principů jako jsou adsorpce, rozpustnost, velikost molekuly, ...) mezi nepohyblivou (stacionární) a pohyblivou (mobilní) fází (např. mezi dvě rozpouštědla). Dělení je založeno na skutečnosti, že molekuly ve směsi mají rozdílné tendence připojit se k jedné nebo ke druhé fázi.

**Chromatografické metody používané pro analýzu aminokyselin:**

- papírová chromatografie
- papírová chromatografie dvourozměrná
- tenkovrstevná chromatografie (TLC – *Thin Layer Chromatography*)
- iontově-výměnná (ionexová) chromatografie
- automatizovaná ionexová chromatografie: automatické analyzátoř aminokyselin (na výstupu je ninhydrinová reakce)



Analyzátoř aminokyselin AAA 500, fy [Inqos, s.r.o.](http://Inqos.s.r.o)

Z elektroforetických metod je to především **vysokovoltová elektroforéza** (pracuje se s napětím 2000 – 5000 V, případně i vyšším).

**Koncentrace jednotlivých aminokyselin v plazmě:**

Od stopových množství až po 650 mmol/l (maximální koncentrace alaninu u zdravých osob).

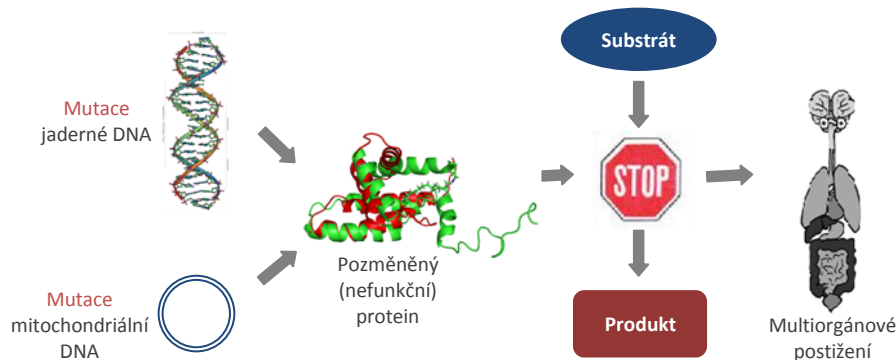
## 8.5. Dědičné metabolické poruchy

V předchozím textu jsme se setkali a v dalším textu se setkáme s pojmy typu *autosomálně recesivní metabolická porucha metabolismu*, *autosomálně recesivní genetické onemocnění s poruchou v genu kódujícím apod.* **Dědičné metabolické poruchy (DMP) jsou molekulární geneticky podmíněné choroby**, které (negativně) ovlivňují metabolické dráhy v těle, protože, díky genetickému defektu, chybí v metabolické dráze určitá klíčová součást. Fyziologická funkce metabolické dráhy je tak narušena a vyústí v různé patologické projevy dané choroby. Důsledkem genetického defektu je chybná tvorba příslušné bílkoviny a podle důležitosti bílkoviny v metabolismu či stavbě organismu, vzniknou různé klinické projevy.



**Bílkoviny, které mohou být tímto defektem postihnuty**

- *enzymy*: nejčastější případ, důsledkem je hromadění substrátu a/nebo nedostatek produktu; vznikají náhradní metabolické cesty, atypické, často toxické látky
- *krevní bílkoviny* (nikoliv enzymy): plazmatické bílkoviny nebo hemoglobin
- *strukturní bílkoviny buněčné membrány*: změna tvaru buňky a její odolnosti k cytolýze
- *receptor*: buňka ztrácí schopnost navázat a vychytat určitou látku
- *regulační protein*: projevem může být např. nekontrolovaný růst (vznik malignity)

**Podstata vrozených metabolických poruch**

U tzv. *enzymopatií* je příčinou dědičné metabolické poruchy mutace v genu, který kóduje určitý enzym. Většinou (ale ne vždy) je dědičnost recesivní, protože nepostižená alela zajišťuje tvorbu dostatečného množství funkčního enzymu.

**Pokud enzym chybí, nebo je nefunkční, mohou nastat tři případy:**

1. Netvoří se produkt reakce daným enzymem katalyzované a nemohou tak vznikat ani následné produkty, pro který je předchozí produkt prekurzorem. Některá z (nevytvořených) látek pak tělu chybí
2. Substrát reakce daným enzymem katalyzované se neodbourává, hromadí se. Tato kumulace může poškozovat buňky či tkáň, může jí i o látku potenciálně toxickou.
3. Substrát, který se nemůže přeměnit na produkt, se začne náhradní cestou odbourávat na jinou látku, která bývá toxická a může určitě buňky či tkáň poškozovat.

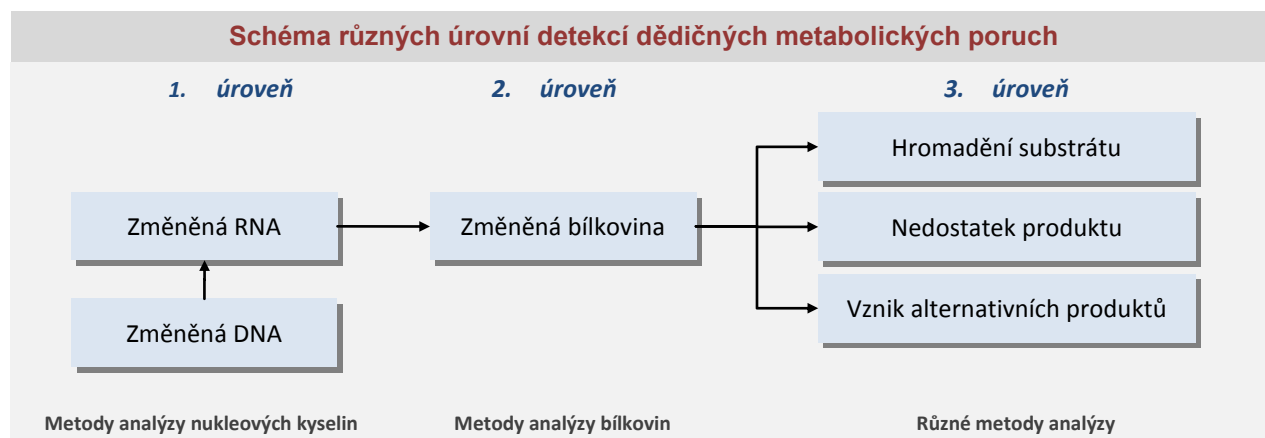
U konkrétní osoby může dojít i ke kombinaci těchto mechanismů. Metabolické dráhy či metabolické funkce mohou být narušeny i mutacemi v genech pro receptory, specifické proteiny či strukturní proteiny. Dědičných metabolických poruch je obrovské množství, některé se vyskytují relativně často (*fenylketonurie*), jiné se vyskytují naopak velmi vzácně, v počtu několika jedinců na celém světě. Ne všechny příčiny těchto chorob byly již objeveny.

**Poznámka:** Ne každá mutace nutně vede ke genetické poruše. Záleží také na místě v proteinu, kde k záměně aminokyseliny došlo. Některé změny se vůbec nemusí projevit, ale to znáte z jiného předmětu.

**8.5.1. Principy laboratorní diagnostiky dědičných metabolických poruch**

Rozlišují se **tři úrovně detekce poruchy**, tj. detekce na úrovni (viz též schéma na str. 7-23)

1. **Nukleové kyseliny** (DNA, mRNA) - metody přímo prokazují defektní gen; nejznámější metodou z této oblasti je polymerázová řetězová reakce (zkratka *PCR*, výslovnost *pí sí ár*, z anglického *polymerase chain reaction*), ale existuje celá řada dalších metod. Problematice DNA a RNA diagnostiky lidských chorob, PCR a dalším metodám se věnuje *Kapitola 19, DNA diagnostika lidských chorob*. Jedná se o moderní metody, které poskytují vesměs lepší výsledky než analýza např. na úrovni proteinu.
2. **Proteinu** – enzym se může prokázat v tkáňové kultuře fibroblastů histochemicky či imunohistochemicky; proteiny bez enzymové aktivity se prokazují např. změnou putování při elektroforéze a jinými elektromigračními metodami (podrobnosti o bílkovinách a metodách jejich stanovení jsou uvedeny v *Kapitole 10, Bílkoviny*).
3. **Substrátu** (postiženého enzymu) – nejdéle používaný způsob (viz dále v textu popisy metabolických poruch aminokyselin).



V diagnostice dědičných metabolických poruch hraje poměrně důležitou roli také stanovení *kreatininu*, protože většina stanovovaných analytů v moči se přepočítává na jednotkovou koncentraci kreatininu. Mezi tyto analyty patří zejména organické kyseliny, aminokyseliny, puriny a pyrimidiny.

Tzv. **Kaufmanův koeficient** dává do poměru koncentraci kyseliny močové a kreatininu (obojí) v moči. Tento koeficient je nezbytný při stanovení hyper- a hypourikosurií spojených s dědičnými poruchami purinového a pyrimidinového metabolismu<sup>\*)</sup> a strádavými onemocněními<sup>\*\*)</sup>

<sup>\*)</sup>např. *Lesch-Nyhanův syndrom*, tj. úplný deficit hypoxanthin-guanin-fosforibosyltransferázy, kde je Kaufmanův koeficient zvýšený, naopak např. u deficitu purinnukleosid fosforylázy a xantindehydrogenázy je tento koeficient snížený

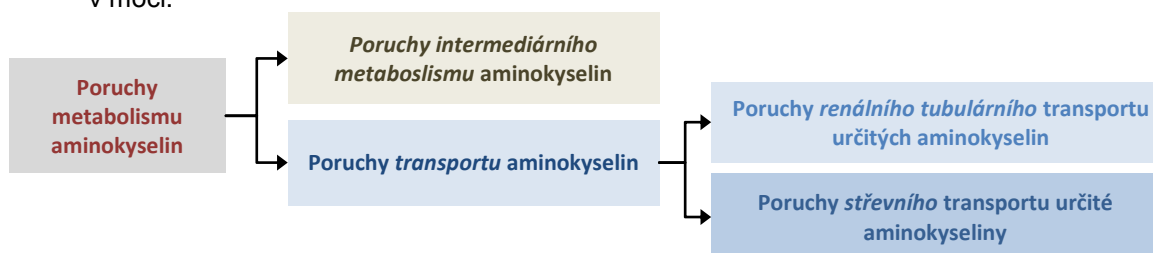
<sup>\*\*)</sup> např. svalová glykogenóza typu I a VII, kde se nachází Kaufmanův koeficient zvýšený

## 8.5.2. Poruchy metabolismu aminokyselin a jejich příčiny

Poruchy metabolismu aminokyselin lze rozdělit do dvou velkých skupin.

Jsou to poruchy

- **intermediárního metabolismu aminokyselin**, kde příčinou je *defekt tvorby enzymu* potřebného pro jejich metabolismus (důsledkem je hromadění metabolitu, tj. substrátu příslušného enzymu, před přerušením metabolické dráhy a poškození tkání, především CNS)
- **transportu aminokyselin**, kde lze rozlišit poruchy
  - *renálního tubulárního transportu (reabsorpce)*, tj. *poruchy resorpce* určitých aminokyselin v tubulech ledvin
  - *střevního transportu určité aminokyseliny*, tj. *poruchy jejich absorpce* z tenkého střeva; důsledkem je malnutrice této aminokyseliny; v obou případech je výsledkem atypické složení aminokyselin v moči.



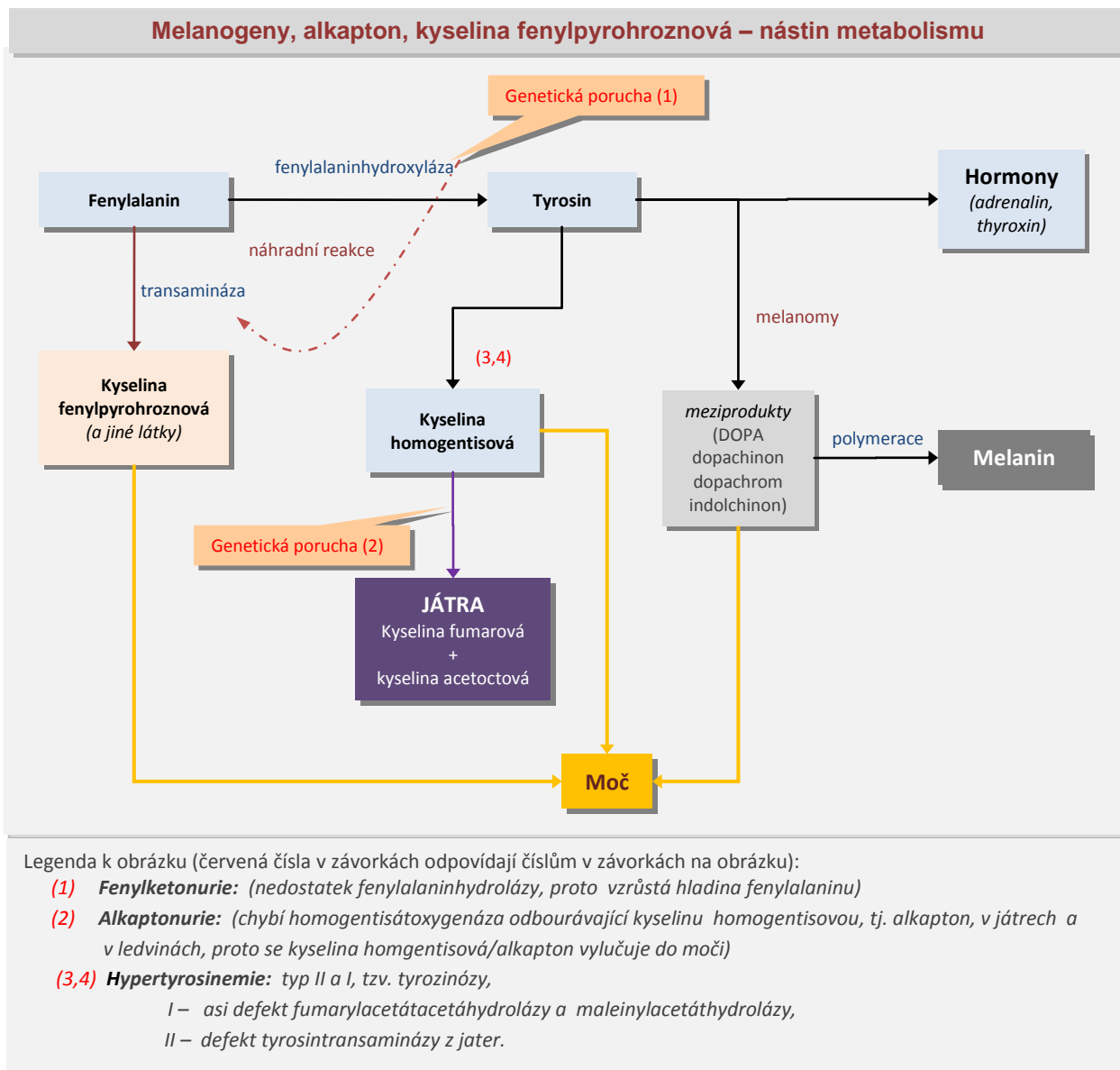
### Poruchy intermediárního metabolismu aminokyselin

- *Fenylketonurie* – autosomálně recesivní genetická metabolická porucha, tzn. dědí se od obou rodičů, při které se fenylalanin nepřeměňuje na tyrozin, protože došlo k mutaci genu zodpovědného za tvorbu jaterní *fenylalanin hydroxylázy*, nezbytné pro tuto přeměnu. Při zanedbání dojde u jedince k mentální retardaci, epileptickým záchvatům a dalším závažným medicínským projevům. Proto se pravidelně vyhledává u všech novorozenců (v ČR od roku 1975): metodou je *Guthrieho* [guth'ri:] *test* pro screening. Principem testu je podpora růstu bakteriálního kmene *Bacillus subtilis* v okolí terčíku s krví obsahující zvýšenou koncentraci fenylalaninu, což je esenciální složka pro tento kmen (viz obrázek vpravo). U tzv. *variantních fenylketonurií* má fenylalanin hydroxyláza částečně zachovanou aktivitu.

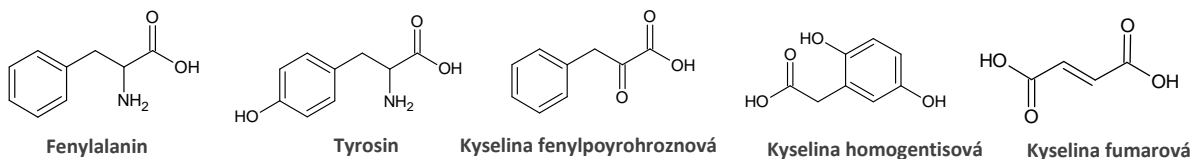


Guthrieho test

**Léčba:** speciální strava bez fenylalaninu (do dospělosti, u žen po celé období plodnosti, protože během těhotenství může dojít k tzv. *maternální fenylketonurii*, tj. ovlivnění nepostiženého plodu vysokou hladinou fenylalaninu v krvi postižené matky, průnikem přes placentu). Léčba závisí také na stupni postižení produkce enzymu (variantní fenylketonurie), v některých případech je dieta méně přísná, popřípadě žádná.



- **Alkaptonurie** – autosomálně recesivní, vzácné postižení metabolismu aminokyselin fenylalaninu a tyrosinu: kyselina homogentisová (alkapton) se nemůže dále metabolizovat na kyselinu fumarovou a acetoctovou. Její přebytek má za následek ukládání alkaptonu a jeho oxidačních, tmavě zbarvených produktů v kůži, v chrupavkách a ve vazivu, což vede k degenerativním změnám kloubů, osteoartritidě, poškození srdečních chlopní a tvorbě ledvinových kamenů.



**Léčba:** Žádná jednoznačná léčba neexistuje. Doporučují se vysoké dávky vitamínu C a omezení (zvl. u dětí) fenylalaninu a tyrosinu ve stravě.

- **Tyrozinémie** - tyrosin se nemůže dále metabolizovat na kyselinu homogentisovou což vede ke zvyšování jeho koncentrace v krvi

- *Tyrozinemie I*, autosomálně recesivní genetické onemocnění s postižením (pravděpodobně) *fumarylacetáthydrolázy* případně i *maleinylacetáthydrolázy*. V krvi je zvýšená koncentrace tyrozinu a metioninu. Průběh může být akutní nebo chronický. Při neléčení akutní tyrozinózy selhávají kojení játra a jedinec zmráá asi po půl až třiřtvrtě roce. U chronického průběhu se vyskytují těžké jaterní cirhózy, hepatomy, špatně fungují ledviny. Někdy se pozoruje i porucha duševního vývoje, hyperglykemie, hypertenze aj. Nemocní se dožívají přibližně 10 let.

**Léčba:** Dieta chudá na tyrozin a fenylalanin.

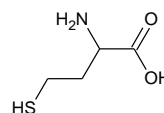
- *Tyrozinemie II, Richner-Hanhartův syndrom*, autosomálně recesivní genetické onemocnění s postižením jaterní cytosolové *tyrosinaminotransferázy* (mitochondriální izoenzym má funkci zachovanou): v krvi a v moči se nacházejí zvýšené koncentrace tyrozinu (tyrozin je jediná aminokyselina zvýšená v moči). U postiženého jedince dochází k různým malformacím, změnám na kůži, k poruše duševního vývoje. Změny na játrech a ledvinách pozorovány nejsou.

**Léčba:** Upravená dieta, tzn. snížený přísun aromatických aminokyselin a proteinů.

- *Albinismus* - vrozený deficit tyrozinázy, porucha přeměny tyrozinu na melanin. Důsledkem je postižení kůže (bílá až průhledná), duhovky (nebarevná, někdy narůžovělá, díky prosvítající krvi v kapilárách), světloplachost, problémy s viděním aj.

**Léčba:** Jedná se zejména o nápravu vidění, ať již chirurgicky (těkání očí) nebo pomocí brýlí či kontaktních čoček.

*Homocystinurie* - dědičná autosomálně recesivní porucha metabolismu cysteinu, při které díky deficitu *cystathionin-β-syntázy*, dochází ke zvýšeným hladinám homocysteinu. Tato skutečnost má četné důsledky, včetně mentální retardace, epilepsie, psychických chorob, očních anomálií, trombóz, předčasné aterosklerosy aj.

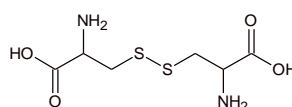


Homocystein

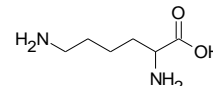
**Léčba:** Specifická léčba neexistuje. Doporučují se vysoké dávky vitamínu B<sub>6</sub>, případně dieta s nízkým obsahem metioninu (obecně dieta s nízkým obsahem bílkovin), často také léčba pomocí trimetylglycinu (betainu), který konvertuje přeměnu homocysteinu zpátky na metionin, normální dávky kyseliny listové a přídavek cysteinu do stravy. Různí jedinci také různě reagují, podle toho se léčba upravuje. (O homocysteinu je také zmínka v kapitole 13, Vitamíny).

#### a. Poruchy transportu aminokyselin

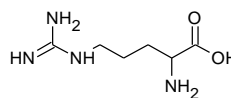
- *Cystinurie* (nejčastější případ) – autozomálně recesivní dědičně podmíněná metabolická porucha vstřebávání *cystinu* a bazických aminokyselin *lyzinu*, *argininu* a *ornitinu* ve střevě a ledvinách. Důsledkem je vysoká koncentrace nejméně rozpustného cystinu v moči a tvorba cystinových konkrementů v ledvinách, v močovodu, ale také ve žlučníku, a to již v mladém věku. Cystinurie je asymptomatická (bezpříznaková), pokud se nevytvoří kameny. Jakmile se kámen vytvoří, nebo produkce kamenů je častá či závažná může se projevit několik symptomů, např. nevolnost, zvracení, chronická bolest, hematurie atd.



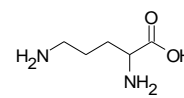
Cystin



Lysin



Arginin



Ornitin

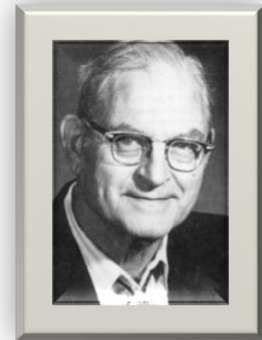
**Léčba:** Odpovídající hydratace, alkalizace moči, úprava diety s redukcí soli a příjmu bílkovin, zejména s obsahem metioninu. Léčba kamenů je zvláštní kapitolou jiného medicínského odvětví.

- *Hartnupova choroba*, autosomální recesivní metabolická porucha transportu neutrálních aminokyselin v ledvinných tubulech a tenkém střevě. Postižený gen kontroluje absorpci těchto aminokyselin ze střeva a reabsorpci v ledvinách. Osoby s touto poruchou nemohou patřičně absorbovat příslušné aminokyseliny ze střeva a reabsorbovat je z ledvinných tubulů. Do moči se tak vylučují značná množství aminokyselin typu tryptofanu, důsledkem jsou projevy nedostatku aminokyselin, poškození CNS produkty odbourávání (např. indikanem, produktem oxidace tryptofanu), snížená syntéza niacinu (důsledek malabsorpce tryptofanu), kožní pelagroidní změny aj.

**Léčba:** Deficit aminokyselin může být překonán dietou bohatou na proteiny. Pacienti se musí chránit před působením slunečního světla. U některých pacientů je třeba dodávat kyselinu listovou.

### Na závěr malý výlet do patologie pro zvědavé studenty

Choroby mohou mít **genetický** základ, nebo mohou být **získané** vlivem okolního prostředí. Získat lze chorobu již **prenatálně** (před porodem), **perinatálně** (v době porodu) nebo **postnatálně** (kdykoliv po porodu). Některé choroby jsou tak **kongenitální** (dítě se narodí s onemocněním, které může být genetické, nebo získané v nitroděložním prostředí). Některé choroby jsou typické pro dětský věk, další napadají zejména dospělé jedince a některé nemoci jsou charakteristické pro seniory. Nemoc může být také **primární**, kdy se jedná o poruchu samu o sobě (orgánu, tkáň, procesu), nebo **sekundární**, kdy je choroba výsledkem jiného postižení, které se manifestuje v daném orgánu, tkáni, procesu. Defekty mohou být **strukturální** nebo **funkční** (většinou jdou ruku v ruce spolu). Defekt může být **částečný** nebo **celkový**, může být **lokalizován** v určité tkáni či buněčné linii, nebo může být **systémový**, kdy zahrnuje více tkání a orgánů. Některé choroby jsou **progresivní**, vzdorující nasazené léčbě, zatímco jiné vymizí bez léčení, organismus je schopen si s nimi sám poradit. Bohužel, mnohé choroby ovlivňují, a to negativně, buněčné či humorální komponenty, které mají sloužit k obraně organismu. Některé choroby jsou **idiopatické**, objevují se z neznámých příčin a s neznámými mechanismy.

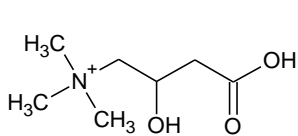


**Robert Guthrie, MD, PhD**  
klinický chemik a mikrobiolog  
1916 - 1995

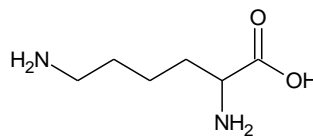
### 8.6. Ostatní látky s nebilkovinným dusíkem

Z těch nejznámějších sem patří např. *karnitin*, *glutathion*, *oxid dusnatý* a *nebilkovinné dusíkaté látky s hormonálním účinkem*.

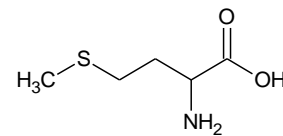
**Karnitin** je (v šesti krocích) syntetizován v játrech z *lysínu* a *metioninu* za přispění kyseliny askorbové. Přírodním izomerem je L-karnitin. Nachází se ve značné míře ve svazech, odtud i název (*caro*, lat. = maso). Karnitin pomáhá přenést acyl-CoA (aktivovaný řetězec mastné kyseliny) přes mitochondriální membránu do mitochondriální matrix, kde dojde k  $\beta$ -oxidaci mastné kyseliny („acylu“). Přenos je podstatně složitější, než je zde popsáno a zúčastňuje se ho několik enzymů. Používání karnitinu jako „spalovače tuků“ ve formě potravního doplňku je sice moderní až módní, leč sporné, neexistují vědecky podložené důkazy, že takto funguje.



Karnitin

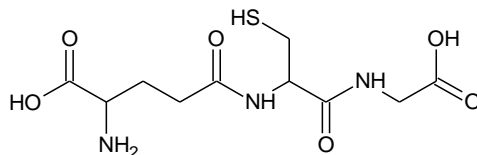


Lysin



Methionin

**Glutathion** je přirozeně se vyskytující tripeptid (g-glutamylcysteylglucin, kap. 13, str. 40), který se zúčastňuje redoxních pochodů v organismu. Jako příklad může posloužit příspěvek glutathionu k udržení redukovaného stavu hemoglobinu (kap. 9, str. 5).



Glutathion

**Oxid dusnatý (NO)** je řazen mezi *tkáňové hormony*, stručná zmínka o oxidu dusnatém v této souvislosti je uvedena v kapitole 17, v tabulce n str. 17-45.

## 8.7. Stručné shrnutí kapitoly

### 8.7.1. Močovina

- Močovina je odpadní produkt organismu, kterým likviduje jedovatý amoniak, produkt metabolismu bílkovin.
- Moderní metody stanovení močoviny jsou enzymové. Enzym ureáza odštěpuje amonný kation, který může být stanoven pomocí glutamátdehydrogenázy UV-testem při 340 nm (plně enzymový test), nebo může být stanoven pomocí nitroprussidu sodného, chlornanu a salicylanu, jako barevná sloučenina, při 550 nm (Berthelotova reakce).
- Koncentrace močoviny v plazmě závisí na kvalitě glomerulární filtrace a tubulární resorpce ledviny, proteinovém metabolismu, tj. na přívodu bílkovin do organismu a jejich katabolismu.
- Změny koncentrace močoviny v plazmě mohou být obousměrné. Nárůst může být způsoben nadměrnou tvorbou, poruchou jejího vylučování, nebo kombinací obou principů. Pokles může být způsoben poruchou její tvorby nebo ztrátami močí.
- Koncentrace močoviny v moči závisí na kvalitě glomerulární filtrace a tubulární resorpce ledviny, na hodnotě krevního tlaku (průtok ledvinou) a na urémii
- Laboratorní stanovení močoviny podává obraz o kvalitě ledvinových funkcí, funkčnosti jater, metabolismu bílkovin a dalších skutečnostech.

### 8.7.2. Kreatinin

- Kreatinin je cyklický amid kreatinu, odpadní produkt z kreatinfosfátu, energetického zdroje pro svalovou práci. Při koncentracích v plazmě do 200  $\mu\text{mol/l}$  se vylučuje prakticky glomerulární filtrací.
- Nejběžnější metodou stanovení kreatininu je Jaffého reakce s kyselinou pikrovou v alkalickém prostředí. Tato reakce je nespecifická ovlivňují ji jak rychlé, tak pomalé chromogeny, zejména glukóza, kyselina acetoctová a bilirubin. Ovlivnění se minimalizuje přesným dodržáním reakčních podmínek, tj. pH, teploty a času.
- Moderní metody jsou enzymové. Barevný test s ukončením modifikovanou Trinderovou reakcí využívá enzymy kreatinázu, sarkozinoxidázu, katalázu a kreatininázu. Metoda s ukončením UV testem při 340 nm využívá enzymy kreatininázu, kreatinkinázu, pyruvátkinázu a laktátdehydrogenázu. Obě metody jsou dražší, ale specifické. Pro některé obory je enzymové stanovení kreatininu povinné, např. pro využití výsledku při transplantacích.
- Stanovení kreatininu slouží zejména k ohodnocení funkce ledvin, zejména k odhadu hodnoty glomerulární filtrace. To je možné z hodnoty kreatininémie s použitím vhodné rovnice, např. MDRD, CKD-EPI nebo Lund-Malmö, existují i jiné rovnice. Další možností je zjištění *clearance endogenního kreatininu*, tj. objemu plazmy, který ledvina během jedné sekundy zbavila endogenně vytvořeného kreatininu. Ke zjištění hodnoty clearance je zapotřebí vzorek moči, séra/plazmy, hodnota diurézy, hmotnost a výška pacienta. Největší chyby při výpočtu vyplývají z nepřesných (mimolaboratorních) údajů o době trvání sběru a ze sběru samotného.
- Pro zamezení těmto chybám se k odhadu glomerulární filtrace využívají i jiné látky, rutinně se např. cystatin C, koncentrace v plazmě (séru).

### 8.7.3. Kyselina močová

- Kyselina močová je (u člověka) konečným produktem katabolismu purinových látek, tj. metabolismu nukleových kyselin a nukleotidů. Vzniká z látek tělu vlastních i do organismu přivedených.
- Kyselina močová má ochrannou roli, působením volných radikálů se mění na allantoin (konečný produkt katabolismu purinových látek u ostatních savců) a tím je eliminuje. Allantoin je u člověka ukazatelem zátěže organismu volnými radikály.
- Moderní metody stanovení kyseliny močové jsou enzymové. Enzym ureáza katalyzuje oxidaci kyseliny močové kyslíkem na peroxid vodíku a allantoin, peroxid se stanoví modifikovanou Trinderovou reakcí. Metoda podle Katayamy s katalázou se nedoporučuje.
- Diagnosticky má význam zejména hyperurikémie, která může být způsobena zvýšenou produkcí kyseliny močové, nebo snížením jejího vylučování ledvinami, případně oběma mechanismy. Vlastní příčinou zvýšené produkce může být dědičná porucha (primární hyperurikémie), nebo jiná choroba (sekundární hyperurikémie), případně léčba diuretiky nebo zvýšený tkáňový obrát.

- Dna je metabolické onemocnění, kdy došlo k přesáhnutí meze rozpustnosti urátu sodného, jehož krystaly se ukládají v okolí kloubu a vyvíjí se zánětlivá reakce. Tyto krystaly mohou způsobit i nefropatii, s možným selháním ledvin a smrtí jedince.

#### 8.7.4. Amoniak

- Amoniak se uvolňuje v játrech z aminokyselin při metabolismu bílkovin a v proximálním tubulu ledvin z glutaminu.
- Moderní metoda stanovení amoniaku je enzymová, s využitím enzymu glutamátdehydrogenázy (viz stanovení močoviny).
- Preamalytická fáze je náročnější, vyžaduje se anaerobní odběr s okamžitým chlazením biologického vzorku a následným bezprostředním zpracováním.
- Vyšetření je vyžadováno zejména u selhání jater.

#### 8.7.5. Aminokyseliny

- Aminokyseliny jsou výchozí látky pro syntézu bílkovin tělu vlastních, mohou podléhat různým přeměnám na biologicky významné sloučeniny, mohou sloužit i jako zdroj energie pro organismus.
- Volné aminokyseliny se stanovují jako  $\alpha$ -aminodusík, spektrum aminokyselin, nebo se stanovují konkrétní aminokyseliny.
- Alfa-aminodusík se stanovuje ninhydrinovou reakcí. Tato reakce bývá i na výstupu automatických analyzátorů aminokyselin.
- Spektrum aminokyselin a jednotlivé aminokyseliny se stanovují chromatografickými a elektroforetickými technikami.
- Na metabolismu aminokyselin se dobře demonstrují tzv. *dědičné metabolické poruchy*.
- Dědičné poruchy metabolismu aminokyselin se týkají jejich intermediárního metabolismu nebo transportu (renálního tubulárního a střevního).
  - Poruchy intermediárního metabolismu aminokyselin: *fenylketonurie, alkaptonurie, tyrozinémie (I a II), albinismus, homocystinurie*
  - Poruchy transportu aminokyselin: *cystinurie, Hartnupova choroba*

#### 8.7.6. Dědičné metabolické poruchy

- Dědičné metabolické poruchy (DMP) jsou molekulární geneticky podmíněné choroby, které ovlivňují metabolické dráhy v těle, protože, díky genetickému defektu, chybí v metabolické dráze určitá klíčová součást. Fyziologická funkce metabolické dráhy je tak narušena a vyústí v různé patologické projevy dané choroby. Důsledkem genetického defektu je chybná tvorba příslušné bílkoviny.
- Postižené bílkoviny mohou být enzymy, krevní bílkoviny, strukturní bílkoviny buněčné membrány, receptor, regulační protein.
- Nejčastějším případem jsou enzymopatie, jejichž výsledkem je, že se netvoří produkt reakce enzymem katalyzované, nebo se neodbourává příslušný substrát, nebo se substrát nemůže přeměnit na produkt a odbourává se náhradní reakcí.
- DMP se mohou laboratorně diagnostikovat na úrovni nukleové kyseliny (moderní přístup), proteinu nebo substrátu (původní postupy).
- Kongenitální (vrozená) choroba může být dědičná nebo získaná (v intrauterinním vývoji)

## OBSAH:

Kapitola 8 Dusíkaté látky nebílkovinné povahy .....	8-1
8.1. Močovina .....	8-1
8.1.1. Metody stanovení močoviny .....	8-2
8.1.1.1. Neenzymové metody .....	8-2
8.1.1.2. Enzymové metody .....	8-2
8.1.2. Klinické poznámky .....	8-3
8.2. Kreatin a kreatinin .....	8-4
8.2.1. Metody stanovení kreatininu .....	8-4
8.2.1.1. Reakce Jaffé .....	8-4
8.2.1.2. Enzymové reakce .....	8-7
UV test .....	8-8
8.2.2. Klinické poznámky .....	8-8
8.2.3. Clearance endogenního kreatininu .....	8-9
8.2.4. Klinické poznámky .....	8-10
8.2.5. Odhad glomerulární filtrace z hodnot sérového kreatininu .....	8-11
8.3. Kyselina močová .....	8-12
8.3.1. Metody stanovení kyseliny močové .....	8-13
8.3.1.1. Redoxní neenzymové metody .....	8-13
8.3.1.2. Enzymové metody .....	8-13
8.3.2. Klinické poznámky .....	8-13
8.4. Některé další dusíkaté látky .....	8-14
8.4.1. Amoniak .....	8-14
8.4.1.1. Metody stanovení amoniaku .....	8-14
8.4.2. Aminokyseliny .....	8-15
8.4.2.1. Metody stanovení aminokyselin .....	8-16
8.5. Dědičné metabolické poruchy .....	8-16
8.5.1. Principy laboratorní diagnostiky dědičných metabolických poruch .....	8-17
8.5.2. Poruchy metabolismu aminokyselin a jejich příčiny .....	8-18
8.6. Ostatní látky s nebílkovinným dusíkem .....	8-21
8.7. Stručné shrnutí kapitoly .....	8-22
8.7.1. Močovina .....	8-22
8.7.2. Kreatinin .....	8-22
8.7.3. Kyselina močová .....	8-22
8.7.4. Amoniak .....	8-23
8.7.5. Aminokyseliny .....	8-23
8.7.6. Dědičné metabolické poruchy .....	8-23