

Laboratorní diagnostika u pacientů s onemocněním močového aparátu

Vyšetření krve

Nejčastějším a netypičtějším nálezem u renálních pacientů je azotemie. **Kreatinin** je nejlepším nepřímým markerem glomerulární filtrace a je jedním z hlavních ukazatelů v IRIS klasifikaci chronických renálních onemocnění. Tato látka vzniká rozkladem kreatinu a kreatinfosfátu ve svalech. Normální denní produkce se pohybuje mezi 45-65 mg/kg živé hmotnosti. Hladina kreatininu může být ovlivněna množstvím svalové hmoty. Proto jsou hladiny kreatininu fyziologicky nižší u mláďat a vyšší u dobře osvalených jedinců, zejména samců. Vyšší hladiny kreatininu mohou být typicky pozorovány u závodních greyhoundů, aniž by tito psi trpěli renální insuficiencí. Kreatinin je rozpustný ve vodě. V organismu není nijak metabolizován a vylučuje se výhradně glomerulární filtrací. Úroveň exkrece je relativně konstantní. Poločas rozpadu kreatininu v plazmě se pohybuje okolo 3 hodin. Zvýšená hladina kreatininu v krvi hovoří o narušení více než 65% normální funkce glomerulů. Se sníženou hladinou kreatininu se setkáváme u pacientů s portosystémovým zkratem a u koček s hypertyreózou, což může omezovat detekci renálního poškození.

Urea je produktem ornitinového cyklu v játrech. Aminokyseliny účastníci se produkce močoviny pocházejí z endogenních a exogenních (dietních) proteinů. Urea je nejprve filtrována v glomerulech a následně pasivně reabsorbována v tubulech. Hladina močoviny není dobrým ukazatelem glomerulární filtrace. Pokud dojde ke sníženému průtoku krve v tubulech vlivem dehydratace nebo hypovolémie, dochází k vyšší úrovni tubulární reabsorpce a zvýšení hladiny močoviny v periferní krvi. Produkce a exkrece urey není konstantní. Hladina urey se může zvyšovat po vysoceproteinové dietě, při gastrointestinálním krvácení, u procesů s vysokou katabolickou aktivitou (hladovění, infekce horečka), po podání steroidů a azathioprinu, po podání tetracyklinových antibiotik. Sníženou hladinu pozorujeme u závažných hepatopatií, nízkoproteinové dietě a u pacientů s portosystémovými zkraty.

Cystatin C je malý polypeptid volně filtrovaný glomeruly, je kompletně reabsorbován v proximálních tubulárních buňkách a následně katabolizován na jednotlivé aminokyseliny. Cystatin C je ve tkáních konstantně produkován a jeho produkce není ovlivněná věkem pohlavím ani dietou. Z toho vyplývá, že sérová hladina cystatinu C je poměrně spolehlivým markerem glomerulární filtrace. Existují však studie, podle kterých lze předpokládat, že ovlivňujícím faktorem mohou být zánětlivé reakce nebo neoplastické procesy.

Metody posouzení glomerulární filtrace

Pro posouzení **ledvinné clearance** jsou používány některé specifické látky, které nejsou vázány na plazmatické proteiny a jsou vylučovány pouze glomerulární filtrací jako kreatinin, inulin, iohexol a injekce radioizotopů. Test glomerulární filtrace inulinu je považován za zlatý standart testování glomerulární filtrace. Iohexol je jodové, ve vodě rozpustné kontrastní médium, které je běžně dostupné a netoxické. V organismu nedochází k jeho metabolizaci, téměř vůbec se neváže na plazmatické proteiny a během 24 hodin je 100% této látky vyloučeno do moči. Jeho nevýhodou je, že je nutno podat celkem velké množství iohexolu. U velkého psa je to 300mg/kg. Ke klinickým účelům je vhodný tzv. model dvou odběrů po aplikaci iohexolu. U psů se krev odebírá 5 a 120 minut po aplikaci a u koček 20 a 180 minut. Clearance iohexolu není ovlivněna věkem, ale uvádí se, že u malých psů může být clearance iohexolu o něco vyšší než u velkých psů. Použití radioizotopů nám umožňuje posoudit glomerulární filtraci nejen pomocí stanovení plazmatického clearance, ale také pomocí dynamické renální scintigrafie.

Posouzení tubulárních funkcí

Vodní deprivací test je doporučen u pacientů, u kterých nejsme schopni odhalit příčinu syndromu polyurie/polydipsie běžnými metodami. Nejčastěji jej provádíme u pacientů s hypostenurií (USG pod 1.007), u kterých předpokládáme neurogení *diabetes insipidus* nebo psychogenní polydipsii. Tento test je kontraindikovaný u pacientů s azotémií, slabých a dehydratovaných pacientů. Před zahájením vyšetření by měl být kompletně vyprázdněn močový měchýř a odebraná moč podrobena veškerým vyšetřením. Poté je znemožněn přístup pacienta k vodě a zastavena infuzní terapie. Test je založen na hodnocení hmotnosti zvířete specifické hmotnosti moči a osmolarity séra v pravidelných cca 4 hodinových intervalech po dobu 24 hodin. Maximální stimulace vyplavení ADH přichází v době, kdy zvíře ztratilo vlivem dehydratace 5% své hmotnosti. Pacienti s *diabetes insipidus* jsou dehydratováni mnohem dříve než zdravá zvířata. U zdravých psů a koček v této době stoupá specifická hmotnost moči nad 1.045. Po podání syntetický analogů ADH (vazopresin, dezmozpresin) se v případě primární polydipsie nezvýší USG zatímco u klasických případů *diabetes insipidus* dojde ke zvýšení specifické hmotnosti.

Frakční exkrece elektrolytů

Tato hodnota vyjadřuje podíl filtrovaných elektrolytů vylučovaných do moči. Frakční exkrece sodíku může být využita jako metoda pro rozlišení primární renální a prerenální azotemie. Frakční exkrece elektrolytů je velmi inter- a intraindividuálně variabilní a měla by být vždy vztahována ke koncentraci elektrolytů v plazmě a ke klinickým nálezům. V případě sodíku by frakční exkrece měla být nižší než 1% a pro draslík je to méně než 25%. Tento test byl využíván pro diagnostiku Fanconioho syndromu. Jeho klinická relevance je však poměrně nízká.

$$FE = \frac{U_{ex} P_{creat}}{P_{ex} U_{creat}}$$

Vyšetření moči

Vyšetření moči je zásadní procedurou pro získání diagnózy, posouzení progresu onemocnění a může podávat také informace o odpovědi na zahájenou terapii. Zároveň slouží jako poměrně citlivý screening renálních funkcí u asymptomatických pacientů bez rozvinuté azotémie. Většinu vyšetření, které je nutné z moči provést, je možné uskutečnit ve vlastní laboratoři. Některá vyšetření je vhodnější odeslat do externích akreditovaných laboratoří. Základním vybavením laboratoře na vyšetřujícím pracovišti je centrifuga, mikroskop a refraktometr, čtecí zařízení pro dipstick proužky a pHmetr nejsou zcela nezbytné.

Pro hodnocení nálezů je důležité znát metodu použitou k odběru moči. Nejméně výtěžný pro hodnocení je vzorek ze **spontánní mikce**, kde můžeme detekovat vyšší protein, leukocyty, epitelie a bakterie, které nepocházejí z močového měchýře, ledvin nebo ureterů, ale z vývodných močových cest a pohlavních orgánů. Ve vzorcích odebraných **cystocentézou** je běžná detekce mírné hematurie, tento vzorek je však nevhodnější pro hodnocení močového sedimentu a kultivaci. **Transuretrální katetrizace** může vést k zavlečení infekce do močového měchýře a vzorky, které jsou takto odebrané, obsahují vysoký počet buněk z vývodných močových cest.

Moč by měla být odebírána před **zahájením terapie** (podání antibiotik, zahájení infuzní terapie) a měla by být analyzována do šedesáti minut po odběru. K odběru se používají zásadně čisté sterilní a ničím nekontaminované odběrovky. Složení moči může být fyziologicky velmi variabilní a odlišnosti jsou ovlivněny denní dobou, dietou a podáním některých léků. Například podání kortikosteroidů může způsobovat sníženou specifickou hmotnost moči a proteinurii. Antibiotika mohou maskovat infekci a podání intravenózních koloidů může falešně zvyšovat specifickou hmotnost moči.

Rutinní vyšetření moči by mělo zahrnovat makroskopické zhodnocení, měření specifické hmotnosti, biochemie moči pomocí distick metody a mikroskopické hodnocení močového sedimentu. Makroskopicky hodnotíme zejména **barvu**, která je velmi variabilní a je ovlivněna směsí nejrůznějších barviv (krev, hemoglobin, myoglobin, bilirubin...) a **zákal** moči. Moč bývá více zakalená, pokud obsahuje leukocyty, bakterie a vysokou hladinu proteinu. U některých patologických procesů zaznamenáváme specifický **zápach** moči. Např. zápach po amoniaku mohou způsobovat bakterie produkující ureázu, ovocný zápach můžeme detekovat u moči obsahující ketolátky. Indexem koncentrovanosti moči a důležitým parametrem pro hodnocení tubulární funkce je **specifická hmotnost moči**, kterou stanovujeme z moči před odstředěním. Pouze výrazně zakalená moč by měla být před měřením nejprve odstředěna. Důležitou informací je, že každý gram produkovaného proteinu na decilitr moči falešně zvyšuje specifickou hmotnost o 0,003-0,005 a v případě

glykosurie o 0,004-0,005. Humánní refraktometry mohou u koček falešně zvyšovat specifickou hmotnost moči. U štěňat je specifická hmotnost moči fyziologicky nižší.

Největším přínosem ve vyšetření moči je **biochemie moči**. Nejrozšířenějším způsobem je provedení semikvantitativní analýzy pomocí komerčních dipstick proužků. Hodnocení může být pouze vizuální dle barevné škály jednotlivých reakcí (tato metoda je však velmi subjektivní) nebo jej lze provést instrumentálním scannerem. Výhody scanneru tkví v objektivním hodnocení všech vyšetřovaných vzorků a v možnosti pořízení záznamu. Vyšetřuje se dobře promísená, čerstvá a neodstředěná moč.

Měření **pH** pomocí dipstick metody je poněkud nepřesné. Obecně nalézáme falešně zvýšené pH. Pokud je pH moči v konkrétním vzorku pro diagnostiku zásadní, je vhodnější použití pH metru.

Měření **glukózy** je naopak poměrně přesné. Pozitivní výsledky nalézáme, pokud je překročen renální reabsorpční práh nebo dochází k defektu renální tubulární funkce.

Bilirubin na jeden křížek a více je normální v moči psů s vyšší specifickou hmotností. U koček se vždy jedná o patologický nález.

Stejně tak, pokud zaznamenáme přítomnost **ketolátek**, jedná se vždy o patologický jev. Ketolátky mohou být občas falešně negativní, protože dipstick reagent reaguje pouze s acetoacetátem a acetonem ale ne s betahydroxybutyrátem.

Měření specifické hmotnosti metodou dipstick je vždy nepřesné, pro tento účel je nutné využití veterinárního refraktometru.

Krev v moči je detekována pozitivní reakcí činidla s hemem. Tato reakce detekuje hemoglobinurii, myoglobinurii a hematurii pomocí stejné barevné reakce, proto je nutné výsledky vždy vztahovat k vyšetření močového sedimentu.

Detekce **leukocytů** metodou dipstick je nepřesná a může být falešně pozitivní při přítomnosti tukových kapek a epitelíí močového traktu.

Činidlo pro detekci **proteinu** vykazuje nejvyšší reaktivitu s albuminem, který je predominantním typem proteinu při klinicky signifikantní proteinurii. Téměř nereaguje s globuliny a je falešně pozitivní při vysokém pH a ve vysoce koncentrované moči.

Proteinurie může být prerenálního, renálního a postrenálního původu. Důležitým aspektem je současné vyšetření močového sedimentu, jelikož jedinou příčinou pozitivního proteinu může být také aktivní močový sediment. Proteinurii zaznamenáváme, pokud je vylučováno více než 15-20mg proteinu/kg/den. Kvalitativní stanovení proteinů nám může pomoci při rozlišení tubulárního nebo glomerulárního poškození. **Glomerulární proteinurie** je typická vylučováním proteinů střední až velké molekulární hmotnosti, příkladem takového proteinu je albumin nebo imunoglobuliny. Při **tubulárním poškození** dochází k vylučování proteinů

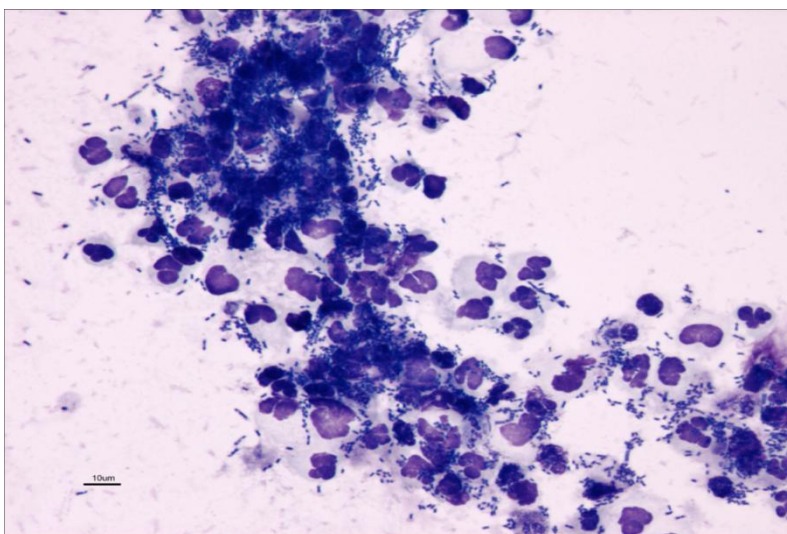
malé molekulární hmotnosti (méně než 60kD). Snížená reabsorpce je v tomto případě způsobena tubulárním poškozením nebo excesivním množstvím proteinu v plazmě, překračujícím renální práh.

Raná fáze renálního selhávání může být zachycena nálezem **mikroalbuminurie**, která je časným ukazatelem vaskulárního endoteliálního poškození. K mikroalbuminurii dochází při hodnotách 1-30mg/dl. Mikroalbuminurie je kromě pacientů s renálním onemocněním občas přítomná i u pacientů s neoplazmiemi (lymfosarkom, osteosarkom) a u pacientů s dirofilariózou. Semikvantitativní stanovení mikroalbuminurie pomocí komerčních proužků se jeví jako rychlá, levná a poměrně senzitivní varianta vyšetření moči, ve které jsme detekovali přítomnost proteinu.

Další metodou posouzení úrovně glomerulární filtrace v moči je měření **poměru protein/kreatinin (UP/UC)**, který je fyziologický pokud je jeho hodnota menší než 0,4. Tato hodnota je poměrně konstantní, není ovlivněna věkem, dietou ani pohlavím. Přítomnost krve v moči a pyurie bez glomerulárního poškození by tuto hodnotu neměly ovlivňovat. UP/UC můžeme stanovit v externí laboratoři nebo pomocí speciálního proužku, který se však nejeví jako dostatečně spolehlivý při měření UP/UC u koček.

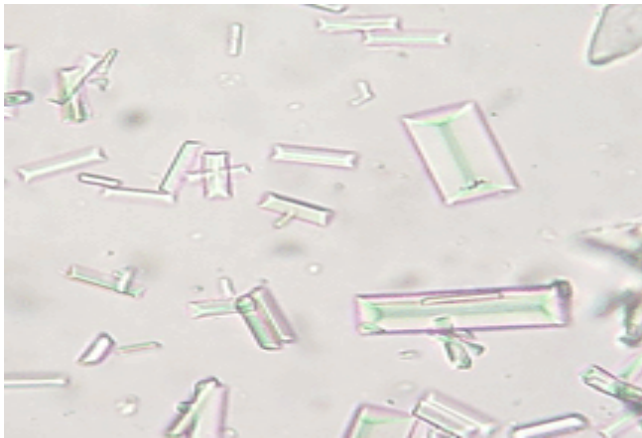
Pokud máme podezření na nádorové onemocnění dolních močových cest, je možné stanovení speciálních nádorových antigenů. Veterinární laboratoře nabízejí BTA (**bladder antigen test**). Senzitivita tohoto testu u psů s karcinomem přechodného epitelu se pohybuje okolo 90% a specifita okolo 78%. Falešně pozitivní výsledek hrozí v moči, která je kontaminovaná krví, hnisem a v moči s vysokým obsahem proteinu nebo glukózy.

Neméně přínosné je vyšetření nativního a barveného **močového sedimentu**. Nález **erytrocytů** může souviset s onemocněním močových cest, koagulopatiemi a vaskulárními abnormalitami, ale může být fyziologický v moči hárajících fen a po odběru cystocentézou. Nález více než pěti **leukocytů** na zorné pole je důkazem probíhajícího zánětu v močových cestách.



Pyurie

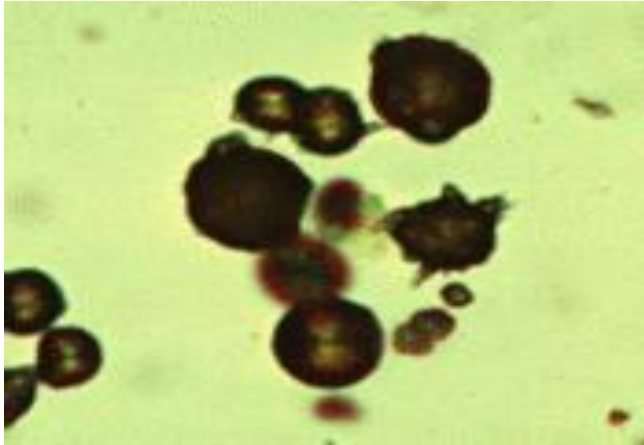
Fyziologickým nálezem je přítomnost **epitelií**. Ve vzorcích odebraných cystocentézou se setkáváme s buňkami přechodného epitelu a ve vzorcích odebraných transuretrální katetrizací a v moči ze spontánní mikce navíc nalézáme ještě dlaždicovité epitelie. Ve vzorcích odebraných všemi popsanými metodami se můžeme setkat s přítomností renálních tubulárních buňek. V některých případech mohou být popsané buňky nalézány s **dysplastickými změnami** nebo **kritérii malignity**. Fyziologickým nálezem může být malé množství zejména **struvitových krystalů**. **Kalciumoxalátové krystaly** mohou být mimo jiné nalézány při otravě etylenglykolem, **amoniumurátové krystaly** u pacientů s onemocněním jater, s poruchami metabolismu bílkovin a pacientů s portosystémovými zkraty. V nedávné době velmi aktuální otrava cyanurovou kyselinou se může projevit nálezem **melaminových krystalů**.



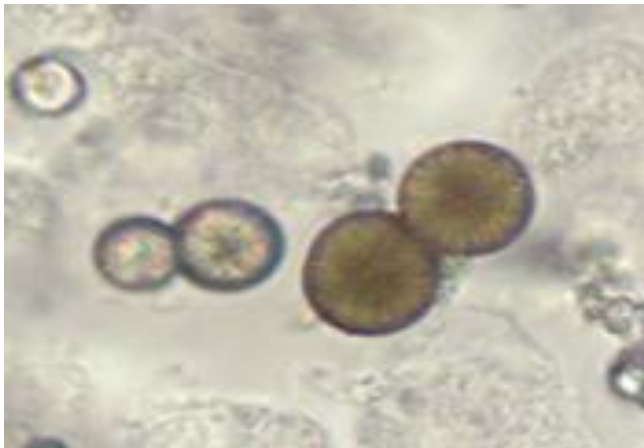
Struvitové krystaly



Kalcium oxalátové krystaly



Amonium urátové krystaly

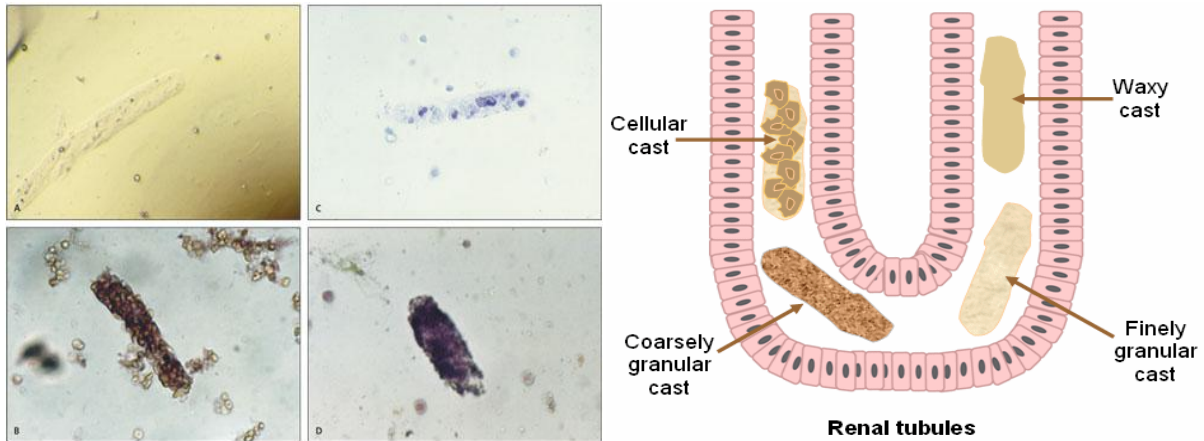


Melaminové krystaly

Nález **organismů** v močovém sedimentu může být za určitých okolností fyziologický například nález kokovitých bakterií v moči ze spontánní mikce. Ve vzorcích odebraných cystocentézou je **bakteriurie** vždy patologickým jevem. Poměrně raritními jsou v našich podmínkách nálezy **plísňových spor**, **parazitů** a jejich **vývojových stádií**.



Přítomnost malého počtu granulárních a hyalinních **válců** je považován za normální. Celulární a voskové válce jsou vždy patologickým jevem. Cylindrurie je charakteristickým důkazem tubulárního poškození. Dále můžeme v moči nalézat tukové kapénky, debris a spermie (i ve vzorcích odebraných cystocentézou).



Různé druhy válců

Schéma formování válců

Jako velmi nadějná metoda pro detekci akutního renálního poškození se jeví měření **močových enzymů**. Zejména **gamaglutamyltransferázy (GGT)** a **N-acetyl-beta-glukosaminidázy (NAG)**. NAG pochází z proximálních tubulárních lyzozomů a GGT z proximálního kartáčkového lemu. Měření těchto enzymů lze použít jako prevenci ireverzibilních změn při předpokládaném akutním poškození ledvin ať už v případech pozření nefrotoxických látek nebo při podávání nefrotoxických chemoterapeutik, aminoglykosidů, nesteroidních antiflogistik apod. K jejich elevaci dochází 12 hodin až 4 dny před rozvojem azotemie.

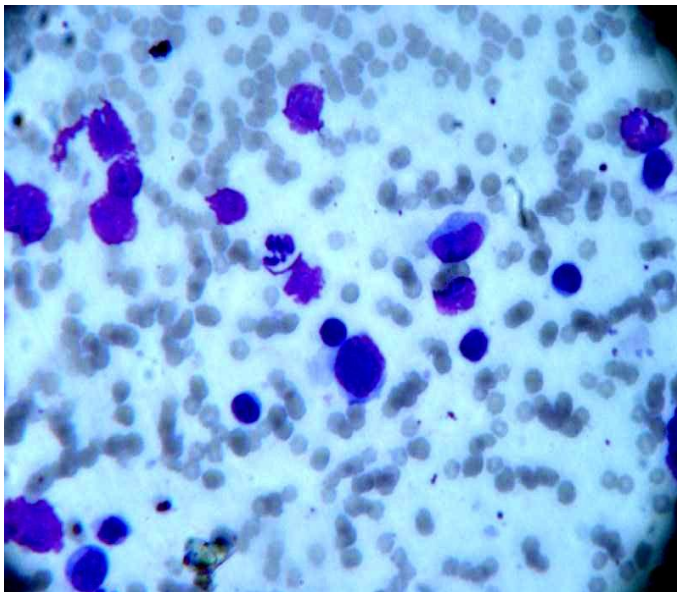
V laboratorní diagnostice onemocnění močového aparátu hraje významnou roli také **cytologie**. Posuzovat lze vzorky odebrané pomocí **tenkojehelné aspirační biopsie** nebo preparáty **obarveného močového sedimentu**. Cytologie je přínosná díky rychlému provedení, nízkým nákladům, a nízké invazivně oproti odběru klasických vzorků pro histopatologii. Její nevýhodou je odběr mnohdy nedostatečně reprezentativních vzorků a to zejména z lézí s nedostatečnou exfoliací (fibrózní útvary, sarkomy). Za normální cytologický nález v močovém sedimentu se považuje přítomnost malého počtu tubulárních epitelí, přechodových epitelí, skvamózních epitelí a u psů samců nález prostatických buněk, pokud tyto buňky nevykazují morfologické abnormality.



Skvamózní epitelie v nativním sedimentu

Patologickým jevem je přítomnost neoplastických buněk. Nejčastějšími tumory horních močových cest jsou lymfomy (hlavně u koček) a renální karcinomy.

Lymfom postihuje ledviny typicky bilaterálně a klasickým cytologickým nálezem jsou velké oválné buňky s velkým kulovitým jádrem a malým množstvím tmavě modré cytoplazmy. U koček mohou tyto buňky obsahovat malé vakuoly.



Renální lymfom