



## Chronické onemocnění ledvin (CKD)

# Prevence chronického onemocnění ledvin pravidelným screeningem albuminurie u rizikových skupin pacientů

## Úvod

Chronické onemocnění ledvin (CKD) je závažný zdravotní problém v souvislosti s různými civilizačními chorobami, jako jsou diabetes mellitus, hypertenze a obezita. Vzhledem k rostoucím nákladům na léčbu spojených s progresí CKD až do konečného stadia onemocnění ledvin (ESRF) a nutnosti renální substituční terapie, je CKD nejen příčinou předčasné úmrtnosti a zhoršené kvality života postižených jedinců, ale představuje také značnou zátěž pro společnost a vysoké výdaje na zdravotní péči.

Včasné odhalení poškození funkce ledvin pravidelným screeningem rizikových pacientů pomáhá v prevenci CKD. Ekonomicky efektivní vyšetření moči hraje zásadní roli při poskytování cenných informací pro screening, diagnostiku a sledování renálních poruch.

## Chronické onemocnění ledvin

CKD je systémové onemocnění, které je výsledkem různých chorob definovaných jako přetrvávající abnormality ve struktuře a/nebo funkci ledvin po dobu delší než tři měsíce. Klasifikace CKD je založena na příčině podle odhadované glomerulární filtrace (eGFR) a albuminurie [1].

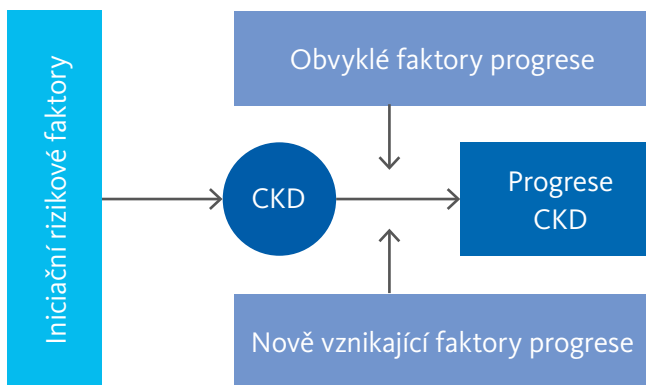
## Rizikové faktory chronického onemocnění ledvin

Rizikové faktory CKD lze rozlišit na iniciační, které zpočátku způsobují nástup CKD, a faktory progresu, které podporují rozvoj CKD až do konečného stadia onemocnění ledvin [2].

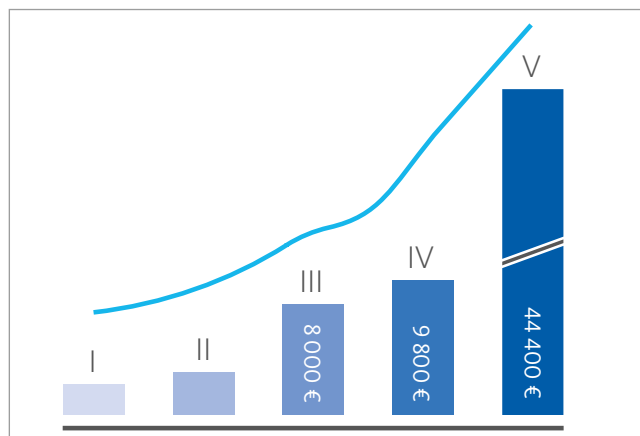
Hlavními příčinami nástupu onemocnění jsou diabetes mellitus a hypertenze, které způsobují přibližně dvě třetiny všech případů chronického onemocnění ledvin [2]. Kromě těchto faktorů jsou iniciačními rizikovými faktory obezita, přetrvávající obstrukce močových cest, chronické infekce dolních močových cest, intersticiální nefritida, glomerulonefritida, polycystická choroba ledvin, onkologická onemocnění, ale také věk, etnický původ a rodinná anamnéza CKD [3].

Mezi obvyklé faktory progresu patří afroamerický etnický původ, proteinurie, hypertenze, vysoký příjem bílkovin, obezita, anémie, dyslipidémie, kouření, nefrotoxiny a kardiovaskulární onemocnění.

Nedávné studie navíc odhalily další faktory progresu a markery, jakými jsou adiponektin, adrenomodulin, neutrofilní, s gelatínou asociovaný lipokalin (NGAL), genetický polymorfismus a další [2].



Obr. 1 Rizikové faktory a faktory progrese chronického onemocnění ledvin [2].



Obr. 2 Roční náklady na léčbu pacienta s CKD v různém stadiu progrese v Německu [6].

## Prevalence CKD

CKD představuje celosvětově významnou zdravotní zátěž díky přímému vlivu na mortalitu a morbiditu a nepřímému vlivu v podobě zvýšení rizika kardiovaskulárních onemocnění.

V roce 2017 bylo evidováno 697,5 milionu případů chronického onemocnění ledvin ve všech stadiích, což představuje globální prevalenci ve výši 9,1 % a 1,2 milionu úmrtí přímo souvisejících s CKD. V porovnání s rokem 1990 se globální prevalence všech věkových kategorií zvýšila o 29,3 % a úmrtnost všech věkových kategorií vzrostla o 41,5 %.

Vyšší riziko CKD koreluje s nízkými a středními sociodemografickými ukazateli (SDI), což působí další komplikace, protože tyto oblasti mají často omezené finanční prostředky na diagnostiku a léčbu CKD.

CKD má silný dopad na kvalitu života. Ztracená léta v důsledku nemoci (DALY) činí u pacientů s CKD v souhrnu 35,8 milionů let života, z toho téměř třetinu představuje diabetická nefropatie [4].

## Zdravotní a sociální náklady na CKD

Progrese CKD má kromě zhoršené kvality života pacientů také značné dopady na společnost a výdaje na zdravotní péči [29]. Příčinou je zvýšený počet hospitalizací, léčba symptomů souvisejících s CKD, sekundární onemocnění a s postupující progresí CKD i nutnost renální substituční terapie (RRT), jako je hemodialýza a/nebo transplantace ledvin.

Individuální náklady exponenciálně rostou s postupující progresí CKD a jejím stadiem [5]. V Německu činily roční individuální výdaje na zdravotní péči související s CKD 8 030 € ve 3. stadiu, 9 760 € ve 4. stadiu a 44 374 € v pátém stadiu s dialýzou [6].

## Budoucí vývoj

Zvyšující se prevalence CKD v posledních desetiletích koreluje také s vývojem prevalence hypertenze a diabetu, které jsou hlavními rizikovými faktory CKD. Od roku 1990 se počet případů hypertenze (systolický krevní tlak 140 mm Hg a vyšší) do roku 2015 zvýšil o 18,5 % [7] a u onemocnění diabetem dokonce o 41 % [8].

V různých studiích se proto předpokládá nárůst prevalence CKD [9, 10], což dále poukazuje na potřebu častého screeningu rizikových skupin pacientů.

## Analýza moči a diagnostika CKD

Moč je důležitým biologickým materiálem pro vyšetření abnormalit souvisejících s CKD, včetně přítomnosti proteinu, albuminu a kreatinu, jakož i poměru albumin/kreatinin (ACR) a poměru protein/kreatinin (PCR).

Tabulka 2 Referenční rozmezí

Parametr	Referenční rozsah
<b>PRO</b> Protein	< 0,3 g/l
<b>CRE</b> Kreatinin	1,0 – 1,5 mg/24 h
<b>PCR</b> Poměr protein/kreatinin	< 15 g/mol
<b>ACR</b> Poměr albumin/kreatinin	< 3 g/mol

### Proteinurie

Dlouhodobá abnormálně vysoká koncentrace proteinů v moči je patologického původu. V závislosti na příčině a postižených nefrologických strukturách lze patologickou proteinurii rozlišit na prerenální, renální a postrenální [11].

### Albumin

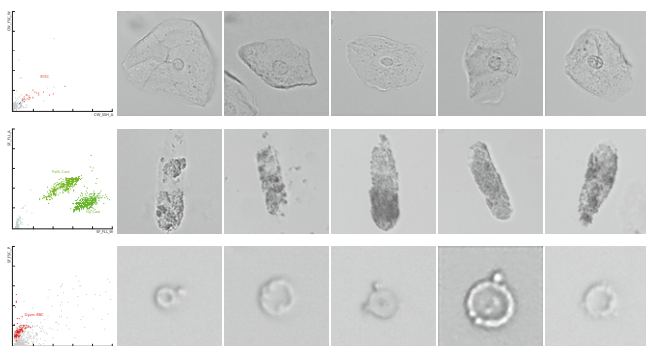
Je jedním z nejhodnějších krevních proteinů, který má zásadní význam pro homeostázu. Molekulová hmotnost albuminu je 66 kDa, což teoreticky umožňuje jeho přechod přes glomerulární kapilární stěnu a následnou reabsorpci z glomerulárního filtrátu proximálními tubulárními buňkami [12]. Při poškození glomerulů, např. v důsledku CKD, se albuminurie zvyšuje.

Nízká koncentrace albuminurie může být časným příznakem poškození glomerulů a chronického onemocnění ledvin, přičemž více než 50 % případů CKD může být přehlédnuto, pokud se albuminurie ignoruje [13]. Přetrvávající albuminurie je hlavním markerem poškození ledvin a je nezbytná pro sledování změn typu proteinurie.

Vzhledem k tomu, že moč vykazuje vysokou biologickou variabilitu jak v biochemickém složení, tak v množství, je nutné hladinu proteinu a albuminu standardizovat, aby se předešlo falešně nízkým nebo falešně vysokým výsledkům. To lze eliminovat analýzou sbírané moči za 24 hodin, nebo pomocí korelace proteinu a albuminu s koncentrací kreatininu v moči.

### Kreatinin

Je katabolit metabolismu bílkovin, který je vylučován ledvinami konstantní rychlostí v rozmezí 1,0 až 1,5 mg za 24 hodin v závislosti na věku a svalové hmotě, ale nezávisle na celkovém objemu moči. Poměry albumin/kreatinin (ACR) a protein/kreatinin (PCR) umožňují spolehlivější odhad zvýšeného vylučování proteinů do moči.



**Obr. 3** Močové elementy související s chronickým onemocněním ledvin zahrnují renální tubulární epitelie (RTEC, horní řada), hyalinní a patologické válečky (střední řada) a dysmorfní erytrocyty (dolní řada). Scattergramy byly získány z analýzy na UF-5000 a obrázky elementů pocházejí z UD-10.

## Vyšetření močového sedimentu

Kromě stanovení molekulárních složek moči lze analyzovat i buněčné a nebuněčné částice močového sedimentu průtokovou cytometrií, což podporuje diagnostiku renálních poruch.

### Renální tubulární epitelie (RTEC)

Pokrývají ledvinné tubuly od proximálního tubulu přes Henleovu kličku k distálnímu tubulu. Tyto epitelální buňky hrají zásadní roli při regeneraci ledvin, ale uvolňují také prozánětlivé molekuly, které podporují progresi chronického onemocnění ledvin [14]. Ačkoli v moči zdravých jedinců může být přítomno několik RTEC v důsledku běžné exfoliace, přítomnost  $\geq 15$  RTEC na 10 zorných polí signalizuje akutní onemocnění ledvin nebo tubulární poškození [15].

### Válce

Jsou důsledkem precipitace a agregace glykoproteinu uromodulinu, známého také jako Tamm-Horsfallův protein [16]. Tento protein je syntetizován výhradně renálními tubulárními epitelii v distální části Henleovy kličky [17]. Poškození ledvin indikuje přítomnost různých typů patologických válců, jako jsou erytrocytární u proliferativní glomerulonefritidy, leukocytytární u pyelonefritidy nebo intersticiální nefritidy, oválná tuková tělíska nebo tukové válečky u onemocnění souvisejících s proteinurii a granulární válečky a renální tubulární epitelie u mnoha onemocnění parenchymu [1].

### Dysmorfní erytrocyty

Představují hlavní projev hematurie. Na rozdíl od izomorfních erytrocytů, které mají jednotnou morfologii, jsou výsledkem krvácení do ledvinné pánvičky, močovodu nebo močového měchýře. Dysmorfní erytrocyty vykazují odchylky od diskoidního tvaru, které pocházejí z glomerulárního poškození [18]. Analyzátoři řady UF přesně detekují erytrocyty a upozorňují na přítomnost izomorfních a dysmorfních erytrocytů [19], což umožňuje rozlišit hematurii glomerulárního a neglomerulárního původu.

## Možnost pravidelného screeningu CKD pomocí rutinního vyšetření moči

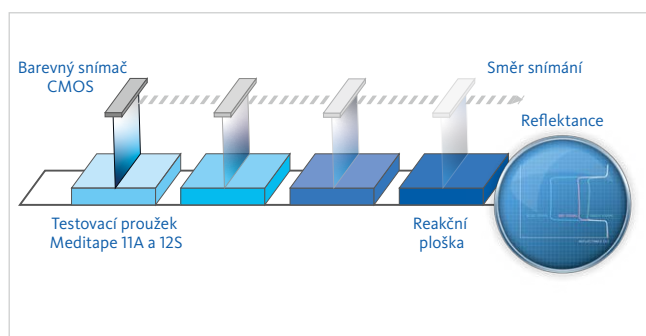
Pro hodnocení proteinurie i albuminurie jsou k dispozici různorodé technologie a analytické systémy. Vyšetření moči pomocí testovacích proužků je obecně považováno za málo senzitivní a specifické. Pro kvantitativní stanovení albuminurie se běžně používají imunochemické metody.

Radioimunoanalýza, imunonefelometrie a imunoturbidimetrie jsou metody, které jsou schopny detekovat albumin v moči již od koncentrace 16  $\mu\text{g/l}$ , 2  $\text{mg/l}$  nebo 6  $\text{mg/l}$ . Vysokou účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s detekčním limitem 2  $\text{mg/l}$  nabývá na důležitosti, protože na rozdíl od jiných metod detekuje různé druhy albuminu, včetně intaktního albuminu, fragmentů albuminu, agregátů albuminu a imunoreaktivního albuminu [20].

## Zlepšené odečítání testovacích proužků

Některé diagnostické proužky pro analýzu moči vykazují nízkou senzitivitu a specifitu pro mnoho močových abnormalit, ačkoliv se používají pro screeningové účely. V souvislosti s albuminurií byly při manuálním odečtu zjištěny nízké meze detekce > 30 mg/l [21], což zpochybňuje schopnost takových testovacích proužků přesně rozlišit mezi fyziologickou a patologickou albuminurií.

Významné zlepšení reflektometrického stanovení albuminu pomocí testovacích proužků s vázaným barvivem bylo dosaženo nahrazením klasických LED kamer obrazovým snímačem CMOS (komplementární polovodičový oxid kovu). Snímače CMOS jsou dobře známé v průmyslu, ale současně se široce uplatňují v diagnostických analyzátoch [22]. Snímače CMOS převádějí detekované fotony odražené od testovacího proužku díky uvolněným elektronům na elektrické signály, a tím rozpoznávají tři různé vlnové délky podle barevného kódu modelu RGB.

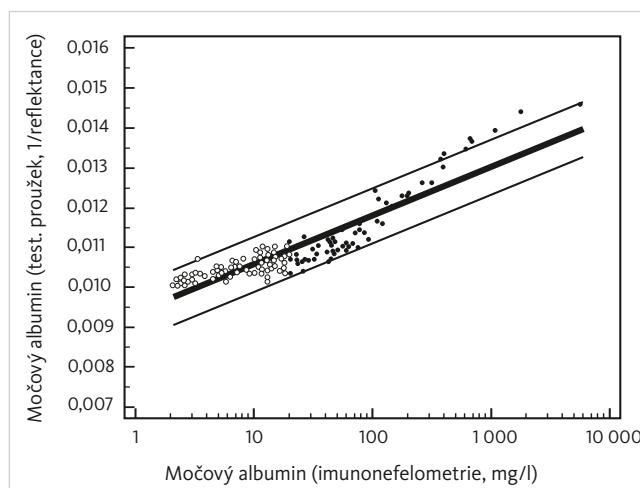


**Obr. 4** Technologie snímače CMOS pro vylepšené reflektometrické snímání reakčních plošek močových testovacích proužků.

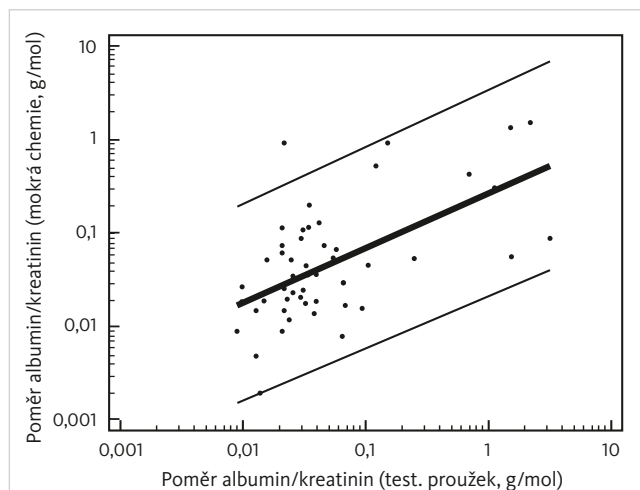
## Kvantitativní hodnocení albuminurie pomocí semikvantitativní metody

Použití testovacích proužků Meditape 11A na analyzátoru UC-3500 s technologií CMOS prokázalo potenciál pro vysoce citlivou detekci a kvantifikaci albuminurie pomocí reakční plošky založené na barvívu s afinitou k vazbě na albumin. Na základě hodnot reflektance lze koncentraci albuminu nejen odstupňovat, ale i kvantifikovat, a to s nízkým limitem detekce (LoD) od 5,5 mg/l [23].

Prokázána porovnatelnost hodnot albuminu získaných imunonefelometrií a testovacím proužkem dokazuje spolehlivost hodnot albuminu stanovených testovacím proužkem (obr. 5). Korelace hodnot albuminu s kreatininem získaným z testovacího proužku umožňuje stanovit jejich poměr ACR (obr. 6) a dále snižovat počet falešně vysokých hodnot albuminu. Proužky s reakční ploškou s afinitou k vazbě na albumin umožňují kvantitativní stanovení v rozmezí mírně zvýšené albuminurie s nízkým limitem detekce (LoD), srovnatelným s HPLC a imunochemickými metodami albuminurie [24].



**Obr. 5** Regresní analýza močového albuminu pomocí testovacích proužků Meditape 11A a imunonefelometrie. Bílé body představují vzorky v referenčním rozmezí, černé body představují vzorky, které horní referenční mez přesahují [23].



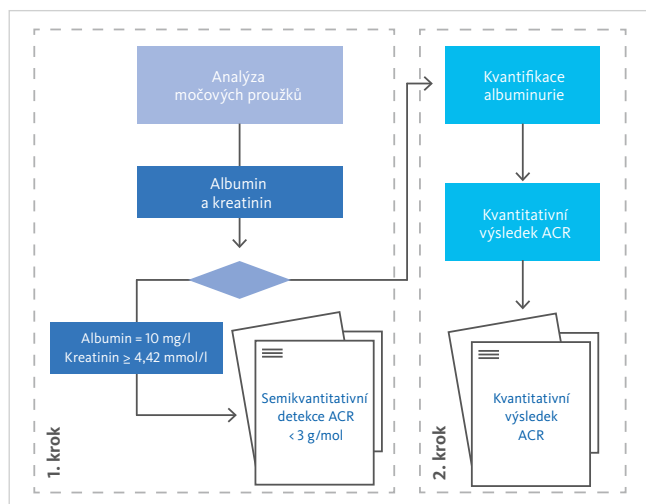
**Obr. 6** Regresní analýza močového albuminu pomocí testovacích proužků Meditape 11A a imunonefelometrie. Regresní analýza poměru albumin/kreatinin v moči pomocí testovacích proužků Meditape 11A a mokré chemie [23].

## Testování albuminu v moči testovacími proužky může nahradit kvantitativní metody

Nedávno byl sledován potenciál testovacího proužku, který by mohl sloužit jako semikvantitativní nástroj první volby pro rozhodování o kvantitativním stanovení močového albuminu a poměru albumin/kreatinin ACR.

Semikvantitativní detekce ACR se osvědčila jako spolehlivý test pro identifikaci pacientů bez patologických hodnot albuminurie, které není třeba podrobit kvantitativnímu měření. V laboratorních podmínkách byl pracovní postup pro screening albuminu optimalizován zařazením semikvantitativního měření ACR pomocí testovacích proužků Meditape 11A v kombinaci s automatickým analyzátozem UC-3500 [obr. 8]. Počet kvantitativních měření albuminu se přibližně o 40 % snížil [25].

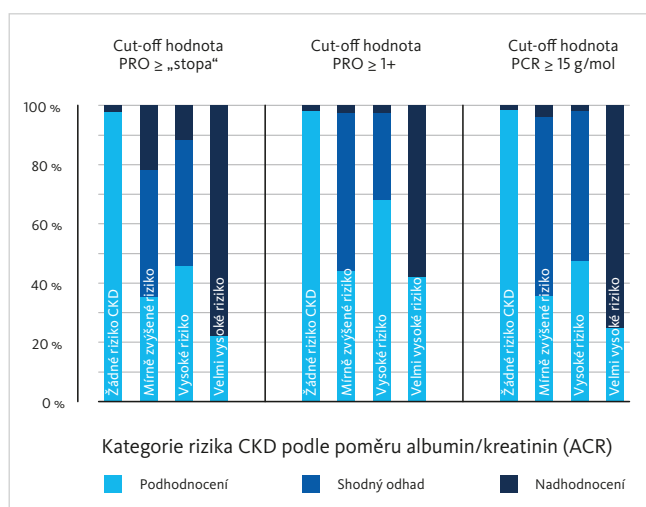
Implementace screeningu albuminurie pomocí testovacích proužků tak má nejen pozitivní dopad na pracovní postupy laboratoře, ale přináší také významné ekonomické úspory, které jsou opětovně investovány do pravidelného screeningu albuminurie u pacientů s rizikem rozvoje CKD [25, 26].



**Obr. 7** Zlepšení pracovního postupu screeningu albuminurie částečným nahrazením kvantitativních metod [25].

### Včasně odhalení při běžné zdravotní prohlídce

V rámci zdravotní péče byla nedávno hodnocena včasná detekce CKD, a to porovnáním výkonnosti vyšetření proteinurie pomocí testovacích proužků a ACR. Oba parametry byly hodnoceny pomocí testovacích proužků Meditape 11A v kombinaci s automatickým analyzátozem UC-3500. V souladu se směrnici KDIGO [1] byla albuminurie definována pomocí testovacího proužku jako  $ACR \geq 3 \text{ g/mol}$  a proteinurie jako  $\geq$  „stopa“ nebo  $PCR \geq 15 \text{ g/mol}$ .



**Obr. 8** Diagnostický výkon testovacího proužku na protein při klasifikaci rizika CKD ve srovnání s poměrem albumin/kreatinin v moči (ACR) [27].

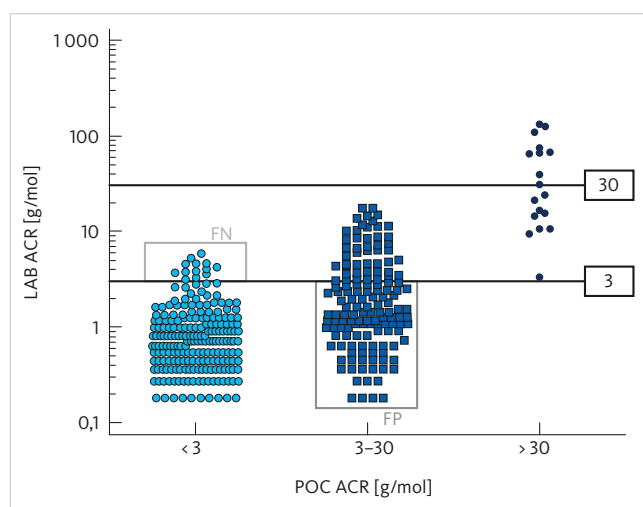
Byla prokázána korelace mezi rizikem vzniku CKD a výsledky ACR a proteinurie nebo PCR z testovacího proužku na 88,76 % ( $\kappa = 0,567$ ), resp. 92,06 % ( $\kappa = 0,683$ ). Hodnocení rizika CKD pouze na základě stanovení proteinurie testovacím proužkem vedlo k podhodnocení rizika, protože bylo opomenuto více než 30 % případů, které při screeningu ACR vykazují mírně zvýšené riziko CKD. Proto by se pro screening CKD v raných a asymptomatických stadiích v rámci primární péče mělo zvážit vyšetření ACR testovacím proužkem [27].

### Screening ACR pomocí testovacích proužků v místě primární péče

Vzhledem k tomu, že CKD představuje rostoucí zátěž zejména v rozvojových zemích [4], jsou ekonomicky efektivní screeningová řešení nesmírně důležitá. Díky testovacím proužkům Meditape 12S a poloautomatickému analyzátozem UC-1000 je technologie CMOS k dispozici i v místě primární péče.

Nedávné hodnocení diagnostického výkonu UC-1000 prokázalo vysokou diagnostickou přesnost ACR pro screening rizika vzniku CKD ve srovnání s imunoturbidimetrickými testy. Senzitivita 0,79, specifická 0,84, pozitivní prediktivní hodnota 0,39 a negativní prediktivní hodnota 0,97 umožňují spolehlivé vyloučení albuminurie, zatímco suspektní případy albuminurie vyžadují potvrzení pomocí imunochemických metod. Senzitivita se zvýšila až na 0,89 u jedinců ve věku 65+ trpících diabetem, hypertenzí a infekcí HIV [28].

Vysoký diagnostický výkon tohoto řešení v místě primární péče umožňuje vyloučit albuminurii, snížit počet zbytečných vyšetření a nastavit pravidelný a efektivní screening rizika CKD.



**Obr. 9** Shoda mezi měřením ACR na UC-1000 v místě primární péče ve srovnání s imunochemickými testy. LAB ACR: ACR stanovený kvantitativním imunochemickým testem. POC ACR: ACR získaný z UC-1000. FN: Falešně negativní. FP: Falešně pozitivní. [28].

## Literatura

- [1] **KDIGO (2012):** Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl.* 2013; 3: 1–150.
- [2] **Kronenberg F (2009):** Emerging risk factors and markers of chronic kidney disease progression. *Nat Rev Nephrol* 5(12): 677–89.
- [3] **Taal M and Brenner BM (2006):** Predicting initiation and progression of chronic kidney disease: developing renal risk scores. *Kidney Int* 70: 1694–1705.
- [4] **GBD Chronic Kidney Disease Collaboration (2020):** Global, regional, and national burden of chronic kidney disease 1990–2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet* 395: 709–33.
- [5] **Golestaneh L et al. (2017):** All-Cause Costs Increase Exponentially with Increased Chronic Kidney Disease Stage. *Am J Manag Care* 23(10): AM J Manag Care 23(10): 163–172
- [6] **Gandjour A et al. (2020):** Costs of patients with chronic kidney disease in Germany. *PLoS One* 15(4): e0231375.
- [7] **Forouzanfar MH et al. (2017):** Global Burden of Hypertension and Systolic Blood Pressure of at Least 110 to 115mmHg, 1990–2015. *JAMA* 317(2): 165–182
- [8] **Khan MAB et al. (2020):** Epidemiology of Type 2 Diabetes – Global Burden of Disease and Forecasted Trends. *Journal of Epidemiology and Global Health* 10(1): 107–111
- [9] **Kainz A, Hronsky M, Stel VS, Jager KJ, Geroldinger A, Dunkler D, Heinze G, Tripepi G and Oberbauer R (2015):** Prediction of prevalence of chronic kidney disease in diabetic patients in countries of the European Union up to 2025. *Nephrol Dial Transplant* 30: iv113–iv118.
- [10] **Hoerger TJ et al. (2015):** The future burden of CKD in the United States: a simulation model for the CDC CKD Initiative. *Am J Kidney Dis* 65(3): 403–11.
- [11] **Cassia MA et al. (2016):** Proteinuria and albuminuria at point of care. *Point of Care* 2(1): e8–e16
- [12] **Russo et al. (2007):** The normal kidney filters nephrotic levels of albumin that is retrieved by the proximal tubule cell: Retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int* 71: 504–513.
- [13] **Park JI et al. (2017):** Comparison of urine dipstick and albumin:creatinine ratio for chronic kidney disease screening: a population-based study. *PLoS One* 12: e0171106.
- [14] **Schnaper HW (2017):** The Tubulointerstitial Pathophysiology of Progressive Kidney Disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 24(2): 107–116.
- [15] **Schumann GB and Colón VF (1980):** Urine cytology. Part II: renal cytology. *Am Fam Physician* 21(4): 102–6.
- [16] **Bachmann S et al. (1985):** Ultrastructural localization of Tamm-Horsefall glycoprotein (THP) in rat kidney as revealed by protein A-gold immunocytochemistry. *Histochemistry* 83(6): 531–538
- [17] **Fairley JK et al. (1983):** Protein composition of urinary casts from healthy subjects and patients with glomerulonephritis. *Br Med J* 287(6408): 1838–1840
- [18] **Fairley KF and Birch DF (1982):** Haematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int* 21: 105–108.
- [19] **Yu Chu-Su et al. (2017):** Enhancing the Detection of Dysmorphic Red Blood Cells and Renal Tubular Epithelial Cells with a Modified Urinalysis Protocol. *Sci Rep* 7: 40521.
- [20] **Busby DE and Bakris GL (2004):** Comparison of commonly used assays for the detection of microalbuminuria. *J Clin Hypertens* 6 (11 Suppl 3): 8–12
- [21] **Decavele AS et al. (2012):** A sensitive test strip based albuminuria screening assay. *Clin Chem Lab Med* 50(4): 673–678
- [22] **Devadhasan JP and Kim S (2015):** Label free quantitative immunoassay for Hepatitis B. *Nanosci Nanotechnol* 15(1): 85–92.
- [23] **Delanghe JR et al. (2017):** Sensitive albuminuria analysis using dye-binding based test strip. *Clin Chim Acta* 471: 107–112
- [24] **Oyaert M and Delanghe JR (2019):** Semiquantitative, Fully Automated Urine Test Strip Analysis. *J Clin Lab Anal* 33(5): e22870
- [25] **Salinas M et al. (2019):** Urinary albumin strip assay as a screening test to replace quantitative technology in certain conditions. *Clin Chem Lab Med* 57(2): 204–209
- [26] **Herráez Carrera Ó and Jarabon Bueno MDM (2020):** Cost analysis of the automated examination of urine with the Sysmex UN-Series™ in a Spanish population. *Pharmacoecoon Open* 4: 605–613.
- [27] **Nah EH et al. (2021):** Screening of Chronic Kidney Disease in Primary Health: Comparison of the Urine Dipstick Albumin-to-Creatinine Ratio and Dipstick Proteinuria. *Ann Public Health Reports* 5(1): 152–159
- [28] **Currin S et al. (2021):** Diagnostic accuracy of semiquantitative point of care urine albumin to creatinine ratio and urine dipstick analysis in a primary care resource limited setting in South Africa. *BMC Nephrology* 22: 103
- [29] **Evans PD and Taal MW (2011):** Epidemiology and causes of chronic kidney disease. *Medicine* 43: 402–406.