

Kyselina oxalová – významný uremický toxín

M. Mydlík^{1,2}, K. Derzsiová¹

¹ IV. interná klinika Lekárskej fakulty UPJŠ a FN L. Pasteura, Košice, Slovenská republika, prednosta prof. MUDr. Ivan Tkáč, PhD.

² Ústav experimentálnej medicíny Lekárskej fakulty UPJŠ, Košice, Slovenská republika, prednosta MUDr. Alojz Bomba, DrSc.

Práca bola prednesená pri príležitosti udelenia Čestnej ceny Akad. T. R. Niederlanda a Čestného členstva Českej lekárskej spoločnosti prvému autorovi tejto práce na XIII. kongrese Slovenskej lekárskej spoločnosti 23. apríla 2009 v Bratislave a na XLVIII. východoslovenských lekárskech dňoch 15. mája 2009 v Košiciach.

Súhrn: Úvod: Kyselina oxalová je významný uremický toxín, ktorý sa zúčastňuje na patogenéze uremického syndrómu. Cieľom práce je zhrnutie výsledkov, ktoré sme získali pri štúdiu kyseliny oxalovej v biologických tekutinách (v plazme, slinách, moči a v dialyzáte) u chorých s chronickými chorobami obličiek (CKD), 1.–5. štádium a po transplantácii obličky. *Výšetrené súbory chorých a metódy:* Bolo vyšetrených 28 zdravých jedincov, 112 chorých s CKD 1.–4. štádia, 39 hemodialyzovaných a 27 chorých počas CAPD. Okrem toho bolo vyšetrených 21 chorých po transplantácii obličky. V retrospektívnej štúdii sme použili nasledujúce terapeutické metódy: maximálna vodná diuréza, diéta s obsahom NaCl 2 g/24 hod a 15 g/24 hod, i.v. podanie 20 mg furosemidu, liečba nahradzujúca funkcie obličiek [CAPD, hemodialýza (HD), hemofiltrácia (HF) a postdilučná hemodiafiltrácia (HDF)], perorálne podanie lieku s obsahom železa a vitamínu C a transplantácia obličky. Kyselina oxalová bola stanovená spektrofotometrickou metódou s použitím oxalát oxidázy bez interferencie vitamínu C. Vitamín C bol stanovený spektrofotometrickou metódou. *Výsledky:* U 61 chorých s CKD 1.–4. štádium a u 21 chorých po transplantácii obličky boli zistené priame závislosti kyseliny oxalovej v plazme od kreatinínu v sére ($r = 0,904$, $p < 0,001$, resp. $r = 0,943$, $p < 0,001$). Napriek významne zvýšenej koncentrácii kyseliny oxalovej v plazme u chorých s CKD 3.–4. štádia ($23,1 \pm 10 \mu\text{mol/l}$) nebol zistený významný rozdiel v hodnote kyseliny oxalovej v slinách medzi kontrolnou skupinou ($n = 13$) ($126,5 \pm 18 \mu\text{mol/l}$) a skupinou chorých s CKD 3.–4. štádia ($n = 24$) ($133,9 \pm 23,7 \mu\text{mol/l}$). Vylučovanie kyseliny oxalovej počas maximálnej vodnej diurézy do moču u zdravých jedincov ($n = 15$) ($37,5 \pm 17,4$ na $110,2 \pm 49,3 \mu\text{mol/4 hod}$) a po intravenóznom podaní furosemidu (CKD chorí 3.–4. štádium, $n = 15$) ($34,5 \pm 5,5$ na $66,7 \pm 8,1 \mu\text{mol/3 hod}$) sa významne zvýšilo, ale nebolo ovplyvnené zvýšeným obsahom NaCl v diéte (CKD chorí 3.–4. štádium, $n = 12$). Obsah vitamínu C 60 mg v jednej tabletke lieku Sorbifer® Durules® nemal vplyv na ďalšie zvýšenie uremickej hyperoxalémie u hemodialyzovaných chorých. Štvorhodinová HD, HF a HDF významne znížili koncentráciu kyseliny oxalovej v plazme, ale najvýznamnejšie zníženie bolo zistené po HDF (63,3%). *Záver:* Výsledky tejto štúdie svedčili o tom, že liečba nahradzujúca funkcie obličiek nie je dostatočne účinná na trvalé zníženie významného uremického toxínu, kyseliny oxalovej.

Kľúčové slová: uremický toxín – kyselina oxalová – vitamín C – chronické choroby obličiek (CKD) – maximálna vodná diuréza – sodíková diuréza – kyselina oxalová v slinách – liečba nahradzujúca funkcie obličiek – transplantácia obličky

Oxalic acid – important uremic toxin

Summary: *Introduction:* Oxalic acid is thought to be a significant uremic toxin that participates in the pathogenesis of uremic syndrome. *Aim of the study* was to summarise results which we obtained during the study of oxalic acid in biological fluids (plasma, saliva, urine and dialysate) in patients suffering from chronic kidney diseases (CKD), stage 3–5 and after renal transplantation. *Patients and methods:* In the retrospective study were investigated 28 healthy subjects, 112 CKD stage 1–4 patients, 39 haemodialysis patients and 27 CAPD patients. Besides 21 patients were investigated after renal transplantation. We used the following therapeutic methods: maximal water diuresis, diet with low (2 g/day) and high (15 g/day) sodium chloride intake, administration intravenous furosemide (20 mg) and renal replacement therapy [CAPD, haemodialysis (HD), haemofiltration (HF) and postdilution haemodiafiltration (HDF)] and renal transplantation. Oxalic acid was determined by spectrophotometric method using oxalate oxidase which is free from vitamin C interference. Vitamin C was determined by spectrophotometric method. *Results:* In CKD patients and those after renal transplantation direct relationships between plasma oxalic acid and serum creatinine were found ($r = 0.904$ and 0.943 , respectively, $P < 0.001$). Despite of high plasma oxalic acid in uremic patients ($23.1 \pm 10 \mu\text{mol/l}$), there was no significant difference in salivary oxalic acid between control subjects ($126.5 \pm 18 \mu\text{mol/l}$) and CKD stage 3–4 patients ($133.9 \pm 23.7 \mu\text{mol/l}$). The urinary excretion of oxalic acid during maximal water diuresis in healthy subjects ($n = 15$) (from 37.5 ± 17.4 to $110.2 \pm 49.3 \mu\text{mol/4 hours}$) and after intravenous furosemide (CKD stage 3–4, $n = 15$) (from 34.5 ± 5.5 to $66.7 \pm 8.1 \mu\text{mol/3 hours}$) increased significantly, but was not affected by high intake of NaCl in diet (CKD stage 3–4, $n = 12$). One tablet of Sorbifer® Durules® containing 100 mg Fe^{2+} and 60 mg vitamin C did not lead to further increase of uremic hyperoxalemia in haemodialysis patients. Four-hour HD, HF and HDF led to the significant decrease of plasma oxalic acid, but the most significant decrease was observed during HDF (63.3%). *Conclusion:* The results of this study indicate, that renal replacement therapy is not effective for permanent reduction of elevated plasma levels of oxalic acid – important uremic toxin.

Key words: uremic toxin – oxalic acid – vitamin C – chronic kidney disease (CKD) – maximal water diuresis – sodium diuresis – salivary oxalic acid – renal replacement therapy – renal transplantation

Úvod

Uremický toxín je substancia, ktorej chemická štruktúra je známa, je možné ju kvantitatívne stanoviť a je významne zvýšená u chorých s chronickými chorobami obličiek (CKD), 3.–5. štádium. Okrem toho je v priamej závislosti aspoň s jedným z hlavných ukazovateľov urémie. V súčasnej dobe je známych 92 uremických toxínov a jedným z nich je kyselina oxalová (KO), o ktorej sa predpokladá, že participuje na patogenéze uremického syndrómu. Kyselina oxalová splňuje základné kritéria pre uremický toxín, ako je to uvedené na tab. 1 [1–6].

Kyselina oxalová je konečným produktom niektorých aminokyselín a kyseliny askorbovej [7,8]. Na jej syntéze sa zúčastňuje najmä kyselina askorbová a glyoxalát, ktorý sa tvorí z glycínu a glykolátu [8,9]. Na vzniku oxalémie u chorých s CKD participuje v 10% oxalát, ktorý sa rezorbuje z potravy [9]. Z organizmu sa oxalát vylučuje obličkami, prevažne glomerulovou filtráciou a v malej miere aj tubulárnou sekréciou, na začiatku proximálnych tubulov [7,10]. Okrem toho sa v malom množstve vylučuje aj črevom, zvlášť pri CKD 4.–5. štádiu [11].

Hyperoxalémia je jeden z konštantných príznakov prítomných pri chronickom zlyhaní obličiek, CKD 3.–5. štádium, ale jej patogenéza doteraz nebola do detailov objasnená. Kyselina oxalová u chorých s CKD sa tvorí vo zvýšenom množstve [10] a ukladá sa do rôznych tkanív ako oxalát vápenatý [4,9,12,13]. Hyperoxalémia poškodzuje srdce, periférne cievy a svaly, kožu a kĺby [14,15], vedie k retinopatii, arthropatii a k tvorbe obličkových kameňov, spôsobuje zmenu plazmatickej aktivity LDH [4,9].

K tomu, aby sa v metabolizme glyoxalátu zabránilo vzniku oxalátu, je potrebný vitamín B₆, ktorý katalyzuje jeho metabolickú premenu na glycín. Táto metabolická premena sa nazýva „záchranná metabolická cesta“ [8]. Napriek tejto významnej úlohe vitamínu B₆ nie je tento vitamín dostatočne

Tab. 1. Kyselina oxalová splňuje kritéria pre uremický toxín.

1. Chemická štruktúra kyseliny oxalovej je známa.
2. Kyselinu oxalovú je možné kvantitatívne stanoviť v biologických tekutinách.
3. Kyselina oxalová v plazme je významne zvýšená u chorých s CKD 3.–5. štádium, v porovnaní so zdravými jedincami a je v priamej závislosti od kreatinínu v sére.
4. Zvýšená koncentrácia kyseliny oxalovej je v priamej závislosti s akcelerovanou arteriosklerózou srdca a ciev.
5. Kyselina oxalová v plazme u chorých s CKD znižuje reprodukciu endotelálnych buniek a ich migráciu, funkcie ktoré sú významné pre inhibíciu arteriosklerózy.

účinný v liečbe hyperoxalémie u chorých s CKD 4.–5. štádium [9,16]. V liečbe hyperoxalémie sa odporúča znížiť dávku vitamínu C, napr. u hemodialyzovaných chorých na 60 mg/24 hod, pretože táto dávka nepotencuje už prítomnú uremickú hyperoxalémiu [9,17–19]. Najefektívnejšia liečba hyperoxalémie je transplantácia obličky. Sedemdesiatdva hodín po transplantácii obličky hyperoxalémia nie je prítomná, ale vzniká významná hyperoxalúria, ktorá môže byť nebezpečná pre precipitáciu oxalátových kryštálov v transplantovanej obličke [10].

Cieľ

Cieľom tejto retrospektívnej štúdie bolo vyšetriť KO u chorých s CKD 1.–4. štádium a po transplantácii obličky, vyšetriť KO a vitamín C v slinách u chorých s CKD 3.–4. štádium, vyšetriť vplyv maximálnej vodnej diurézy u zdravých jedincov, sodíkovej diurézy a furosemidu u chorých s CKD 3.–4. štádium, na vylučovanie kyseliny oxalovej do moču. Okrem toho cieľom bolo vyšetriť vplyv odporúčanej dávky vitamínu C (60 mg/24 hod) na hyperoxalémiu u hemodialyzovaných chorých a vplyv liečby nahrádzajúcej funkcie obličiek na sekundárnu uremickú hyperoxalémiu.

Súbor chorých a metódy

V prvej časti štúdie bola vyšetrená KO u 61 chorých s CKD 1.–4. štádium. Z nich 38 mali chronickú glomerulonefritídu a 23 tubulointersticiálnu nefritídu. Medzi nimi bolo 25 žien a 36 mužov, priemerného veku 53 ± 5 rokov. Okrem toho bolo vyšetrených

21 chorých po transplantácii obličky (10 žien a 11 mužov, priemerného veku 42 ± 3 rokov), CKD 1.–4. štádium. Chorí boli po transplantácii obličky 1 mesiac až 14 rokov.

V druhej časti štúdie bolo vyšetrených 37 jedincov, nefajčiarov. Z nich 13 (10 žien a 3 muži, priemerného veku 43 ± 8 rokov) s normálnou glomerulovou filtráciou tvorili kontrolnú skupinu. Skupinu chorých s CKD 3.–4. štádium tvorili 24 chorých (12 žien a 12 mužov, priemerného veku 43 ± 10 rokov). Odber celkových slín bol uskutočnený ráno nalačno, po minimálnom 10-hodinovom hladovaní a po exogénnej stimulácii dentaflexom. V tom istom čase bola odobratá krv na vyšetrenie z kubitálnej veny. Koncentrácie KO a vitamínu C boli vyšetrené v plazme a slinách v oboch skupinách.

V tretej časti štúdie bol vyšetrený vplyv maximálnej vodnej diurézy u 15 zdravých jedincov (29 ± 5 rokov), vplyv sodíkovej diurézy u 12 chorých s CKD 3.–4. štádium (47 ± 4 rokov) a vplyv furosemidu u 15 chorých s CKD 3.–4. štádium (35 ± 6 rokov), na vylučovanie sodíka, KO a vitamínu C do moču. Vylučovanie vyššie uvedených ukazovateľov bolo vyšetrené za podmienok maximálnej vodnej diurézy (po vypití 22 ml nesladeného slabého čaju/kg hmotnosti) [20,21], diéty s nízkym obsahom NaCl (2 g/24 hod), diéty s vysokým obsahom NaCl (15 g/24 hod) a po intravenóznom podaní 20 mg furosemidu. Furosemid bol i.v. podaný po 3-hodinovom kontrolnom zbernom období moču a potom nasledovali tri 3-hodinové zberné obdobia moču. U oboch skupín chorých s CKD

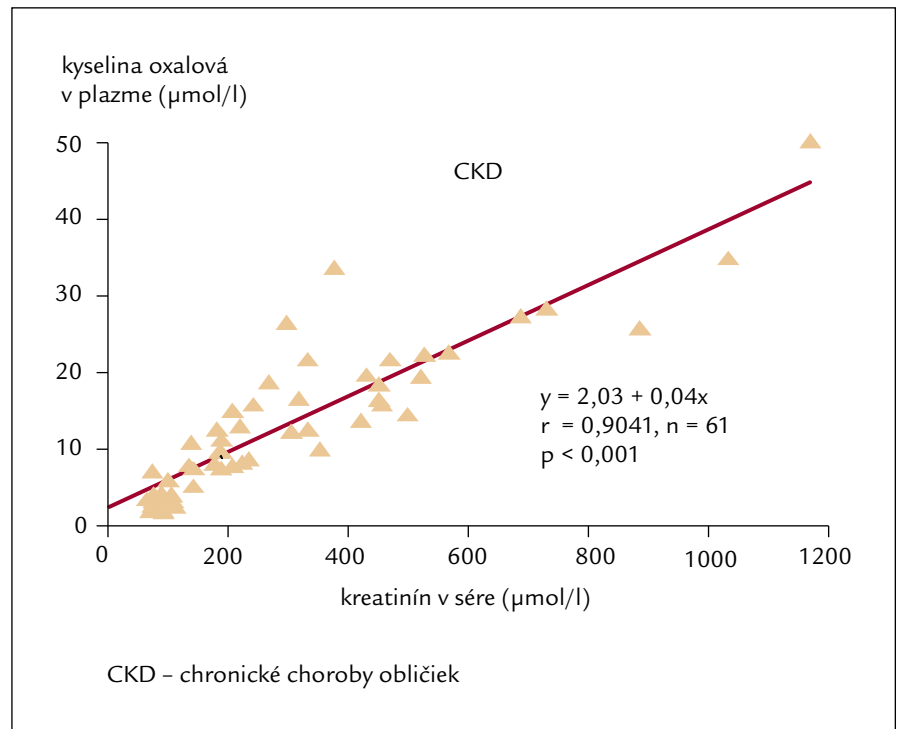
3.–4. štádia bola priemerná hodnota močoviny v sére $24,5 \pm 6,2$ mmol/l, kreatinínu v sére 461 ± 25 μ mol/l, KO v plazme $22,1 \pm 3,8$ μ mol/l a vitamínu C v plazme $63,5 \pm 9,5$ μ mol/l.

V štvrtej časti štúdie cieľom bolo posúdiť vplyv odporúčanej dávky vitamínu C (60 mg/24 hod) na uremickú hyperoxalémiu. Bolo vyšetrených 24 hemodialyzovaných chorých (12 žien a 12 mužov, priemerného veku 49 ± 5 rokov). Z nich 15 chorí mali chronickú glomerulonefritídu, 6 chorí chronickú tubulointersticiálnu nefritídu a 3 chorí analgetickú nefropatiu. Všetci chorí boli liečení erytropoetínom (EPO) a dostávali per os 20 mg pyridoxínu/24 hod, 5 mg kyseliny listovej/týždeň a 60 mg vitamínu C/24 hod. Táto časť štúdie pozostávala z troch 4-týždňových období. V prvom období chorí nedostávali liek obsahujúci železo ani vitamín C. Počas druhého obdobia chorí boli liečení liekom Sorbifer® Durules® – 7 tbl./týždeň. Jedna tabletketa Sorbiferu® Durules® obsahovala 100 mg Fe^{2+} a 60 mg vitamínu C. V treťom štvortýždňovom období chorí opäť nedostávali liek obsahujúci železo ani vitamín C.

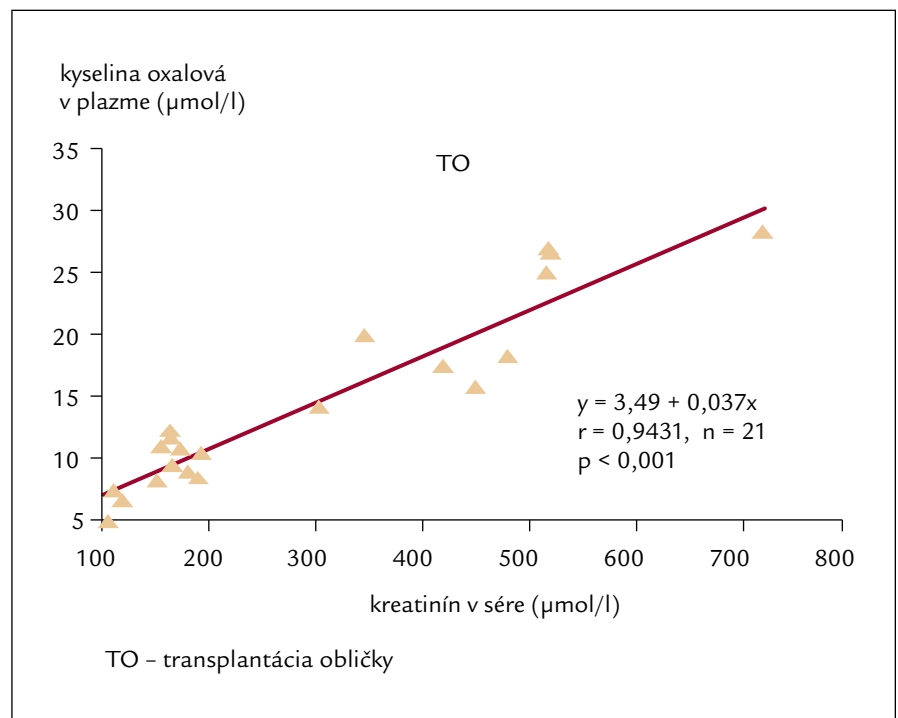
V piatej časti štúdie bol vyšetrený vplyv rôznych liečebných metód nahradzujúcich funkcie obličiek (CAPD, hemodialýza, hemofiltrácia a postdilučná hemodiafiltrácia) na uremickú hyperoxalémiu u dialyzovaných chorých. Bolo vyšetrených 27 chorých počas CAPD s použitím peritoneálneho dialyzačného roztoku s obsahom 1,5% glukózy. Liečba CAPD pozostávala zo 4 výmien 2 litrov peritoneálneho dialyzačného roztoku. Všetci vyšetrení chorí boli v dobrom klinickom stave ($\text{Kt/V} = 2,1 \pm 0,3$), bez významného uremického syndrómu a bez peritonitídy. Medzi nimi bolo 12 žien a 15 mužov, priemerného veku $48,5 \pm 5,7$ rokov. Príčiny chronického zlyhania obličiek boli chronická glomerulonefritída u 14 chorých, tubulointersticiálna nefritída u 10 chorých a diabetická nefropatia u 3 chorých. Chorí mali diétu bez obmedzenia biel-

kovín, ovocia a zeleniny. Dvanásť chorí boli liečení EPO. Všetci chorí dostávali per os pyridoxín 5 mg/24 hod bez liečby EPO a 20 mg/24 hod počas liečby EPO a neboli suplementovaní vitamínom C.

Okrem toho bolo vyšetrených 15 hemodialyzovaných chorých (8 žien a 7 mužov, priemerného veku $45,5 \pm 2,5$ rokov) počas štandardnej hemodialýzy, hemofiltrácie (HF) a postdilučnej hemodiafiltrácie (HDF). Z nich 11 mali chronickú



Graf 1. Priama závislosť kyseliny oxalovej v plazme od kreatinínu v sére u chorých s chronickými chorobami obličiek, 1.–4. štádium.



Graf 2. Priama závislosť kyseliny oxalovej v plazme od kreatinínu v sére u chorých po transplantácii obličky.

Tab. 2. Kyselina oxalová a vitamín C v plazme a slinách u chorých s CKD 3.–4. štádium.

Skupina	Vitamín C v plazme ($\mu\text{mol/l}$)	Vitamín C v slinách ($\mu\text{mol/l}$)	Kyselina oxalová v plazme ($\mu\text{mol/l}$)	Kyselina oxalová v slinách ($\mu\text{mol/l}$)
CKD 3.–4. štádia	44,6 $\pm$ 20,8	7,7 $\pm$ 5,5*	23,5 $\pm$ 10,3***	133,9 $\pm$ 23,7
kontrolná	56,2 $\pm$ 15,1	4,5 $\pm$ 1,5	4,4 $\pm$ 1,3	126,5 $\pm$ 18,0

CKD – chronické choroby obličiek; * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs kontrolná skupina

Tab. 3. Vplyv maximálnej vodnej diurézy na vylučovanie sodíka, vitamínu C a kyseliny oxalovej do moču u zdravých jedincov.

Zberné obdobie moču	V (ml/4 hod)	U_{Na} (mmol/4 hod)	$U_{\text{vitamín C}}$ ($\mu\text{mol/4 hod}$)	$U_{\text{kyselina oxalová}}$ ($\mu\text{mol/4 hod}$)
kontrolné	382,3 $\pm$ 117,6	26,8 $\pm$ 13,1	86,9 $\pm$ 52,1	37,5 $\pm$ 17,4
MVD	1147,0 $\pm$ 441,5**	26,4 $\pm$ 8,2	255,0 $\pm$ 110**	110,2 $\pm$ 49,3**

MVD – maximálna vodná diuréza; ** $p < 0,01$ vs kontrolné zberné obdobie, V – objem moču/4 hod

Tab. 4. Vylučovanie sodíka, vitamínu C a kyseliny oxalovej do moču u chorých s CKD 3.–4. štádium, za podmienok diéty s nízkym obsahom NaCl (2 g/24 hod) a vysokým obsahom NaCl (15 g/24 hod).

Obsah NaCl v diéte	V (ml/24 hod)	U_{Na} (mmol/24 hod)	$U_{\text{vitamín C}}$ ($\mu\text{mol/24 hod}$)	$U_{\text{kyselina oxalová}}$ ($\mu\text{mol/24 hod}$)
2 g/24 hod	1691 $\pm$ 220	120,6 $\pm$ 13,2	172,2 $\pm$ 22,1	350,1 $\pm$ 26,5
15 g/24 hod	2132 $\pm$ 275**	183,8 $\pm$ 17,6**	180,9 $\pm$ 17,6	344,9 $\pm$ 27,6

** $p < 0,01$ vs diéta s obsahom 2 g NaCl/24 hod, V – diuréza/24 hod

glomerulonefritídu a 4 tubulointerstiálnu nefritídu. Všetci chorí boli v stabilizovanom stave ($Kt/V = 1,5 \pm 0,2$), boli liečení EPO a suplementovaní pyridoxínom 20 mg/24 hod a vitamínom C 50–60 mg/24 hod. Jednotlivé 4-hodinové hemodialýzy (prietok krvi 300 ml/min) boli uskutočnené s použitím dialyzátora Clirans T 175 LM (Terumo, celulózoová membrána). Hemofiltrácie a HDF boli vykonané s použitím prístroja Fresenius ABG2 a kapilárneho hemofiltru HF 80 (Fresenius AG, Bad Homburg, Nemecko, polysulfónová membrána s plochou 1,8 m²). Počas 4-hodinovej HF a HDF bolo použitých 18 litrov substitučního roztoku. Počas vyššie uvedených eliminačných metód boli odobraté vzorky krvi z arteriálnej a venózneho časti v intervaloch 15, 60, 240 min a súčasne aj vzorky z filtrátu počas HF. Vo všetkých vzorkách bola vyšetrená KO a vitamín C. Okrem toho bol vypočítaný klírens močoviny a KO počas HD, HF a HDF a sieving koeficient kyseliny oxalovej počas HF [22].

Vitamín C v plazme, moči a peritoneálnom dialyzáte bol vyšetrený spektrofotometrickou metódou (referenčný rozsah vitamínu C v plazme: 28–85 $\mu\text{mol/l}$) [23]. Kyselina oxalová v tých istých vzorkách a v hemofiltráte bola vyšetrená spektrofotometrickou metódou s použitím oxalát oxidázy bez interferencie vitamínu C (referenčný rozsah v plazme: 2,0–5,5 $\mu\text{mol/l}$) [24].

Štatistická analýza výsledkov bola uskutočnená s použitím komerčného štatistického programu Statgraphics a Arcus Quickstat Biomedical Version 1.1 (Addison Wesley Longman Ltd., Cambridge, England). Na výpočet štatistickej významnosti medzi vyšetrenými ukazovateľmi bol použitý párový test ANOVA.

Výsledky

Boli zistené priame závislosti KO v plazme od kreatinínu v sére u chorých s CKD 1.–4. štádia (kreatinín v sére: 60–1180 $\mu\text{mol/l}$; KO v plazme: 2,0–50 $\mu\text{mol/l}$) a u chorých po transplantácii obličky (kreatinín v sére:

100–750 $\mu\text{mol/l}$; KO v plazme: 5,0–25,0 $\mu\text{mol/l}$) (grafy 1 a 2) [25].

Koncentrácia vitamínu C v slinách v kontrolnej skupine a u chorých s CKD 3.–4. štádia bola veľmi nízka, až nemerateľná, ale bola významne vyššia v skupine chorých s CKD. Kyselina oxalová v plazme u chorých s CKD 3.–4. štádia bola významne zvýšená v porovnaní s kontrolnou skupinou. Koncentrácia KO v slinách bola v oboch skupinách niekoľkonásobne vyššia ako v plazme, ale nezistil sa medzi nimi významný rozdiel (tab. 2). Hodnota pH slín u chorých s CKD 3.–4. štádia bola významne alkalická (8,0 $\pm$ 0,5) v porovnaní s kontrolnou skupinou (7,1 $\pm$ 0,3) ($p < 0,01$). Okrem toho sa zistila priama závislosť amoniaku v slinách od močoviny v slinách ($r = 0,732$, $p < 0,01$) a nepriama závislosť KO v slinách od pH slín ($r = -0,527$, $p < 0,01$) [26].

Maximálna vodná diuréza u zdravých jedincov viedla ku zvýšenému vylučovaniu vitamínu C a KO do moču, ale neovplyvnila vylučovanie sodíka

Tab. 5. Vylučovanie sodíka, vitamínu C a kyseliny oxalovej do moču u chorých s CKD 3.–4. štádium, po intravenóznom podaní 20 mg urosemidu (F).

Zberné obdobie moču (3 hod)	U _{vitamín C} (μmol/3 hod)	U _{kyselina oxalová} (μmol/3 hod)
kontrolné	58,5 ± 10,5	34,5 ± 5,5
3 hod po F	116,3 ± 14,3**	66,7 ± 8,1**
6 hod po F	66,3 ± 10,2	42,5 ± 7,2*
9 hod po F	43,5 ± 9,3	31,0 ± 6,5

*p < 0,05; **p < 0,01 vs kontrolné zberné obdobie pred i.v. podaním furosemidu

Tab. 6. Vplyv lieku Sorbifer® Durules® (100 mg Fe²⁺, 60 mg vitamín C) na hodnoty hematokritu, železa v sére, vitamínu C a kyseliny oxalovej v plazme u hemodialyzovaných chorých.

Obdobie štúdie (4 týždne)	Hematokrit	Železo v sére (μmol/l)	Vitamín C v plazme (μmol/l)	Kyselina oxalová v plazme (μmol/l)
začiatok štúdie	0,31 ± 0,03	22,3 ± 5,1	90,4 ± 22,5	39,7 ± 11,1
1. obdobie	0,31 ± 0,02	16,8 ± 5,9 ^a	58,9 ± 12,5 ^a	37,7 ± 12,5
2. obdobie	0,34 ± 0,02*	20,1 ± 7,3*	84,9 ± 11,7*	38,3 ± 10,8
3. obdobie	0,30 ± 0,02 ^b	15,9 ± 3,6 ^b	67,1 ± 12,2 ^b	37,8 ± 11,2

1. obdobie – 4 týždne bez suplementácie železom a vitamínom C

2. obdobie – 4 týždne liečba Sorbiferom® Durules® 1 tbl/24 hod

3. obdobie – 4 týždne bez suplementácie železom a vitamínom C

^ap < 0,05 – 1. obdobie vs začiatok štúdie, *p < 0,05 – 2. obdobie vs 1. obdobie, ^bp < 0,05 – 3. obdobie vs 2. obdobie

Tab. 7. Vitamín C a kyselina oxalová počas CAPD s použitím peritoneálneho dialyzačného roztoku s obsahom 1,5% glukózy (n = 27).

Ukazovateľ	Sérum/plazma	Peritoneálny dialyzát	Peritoneálny klírens (ml/min)	Peritoneálny transfer
1. močovina	17,0 ± 5,3 (mmol/l)	15,7 ± 5,4 (mmol/l)	5,5 ± 0,6	34,2 ± 12,9 (mmol/6 h)
2. kreatinín	661,3 ± 160,4 (μmol/l)	574,7 ± 158,0 (μmol/l)	5,2 ± 0,6	1244,2 ± 384,1 (μmol/6 h)
3. vitamín C	74,2 ± 24,6 (μmol/l)	62,8 ± 21,6 (μmol/l)	5,0 ± 0,6 ^b	136,4 ± 53,7 (μmol/6 h)
4. kyselina oxalová	23,6 ± 7,4 (μmol/l)	16,5 ± 5,5 (μmol/l)	4,2 ± 1,2 ^a	37,5 ± 12,8 (μmol/6 h)

Množstvo peritoneálneho dialyzátu: 2 153,3 ± 230,8 ml/6 hod, ^bp < 0,05, ^ap < 0,01 vs peritoneálny klírens močoviny.

Tab. 8. Kyselina oxalová v plazme počas hemodialýzy (HD), hemofiltrácie (HF) a postdilučnej hemodiafiltrácie (HDF) u hemodialyzovaných chorých.

KO v plazme	HD (4 hod)	HF (4 hod/18 L)	HDF (4 hod/18 L)
1. pred	40,3 ± 9,8	42,7 ± 8,8	43,3 ± 6,8
2. po	18,7 ± 4,5**	23,5 ± 5,2**	15,9 ± 3,7**
klírens močoviny (ml/min)	250,5 ± 21,5	85,8 ± 4,2	230,1 ± 20,2
klírens KO (ml/min)	133,2 ± 17,2 ^a	63,7 ± 8,3 ^a	158,7 ± 16,7 ^a
SC KO	–	0,77 ± 0,01	–

**p < 0,01 vs hodnoty pred, ^ap < 0,01 vs klírens močoviny, prietok krvi: 300 ml/min, prietok dialyzačného roztoku: 500 ml/min, KO – kyselina oxalová, SC – sieving koeficient

(tab. 3). Diéta s vysokým obsahom NaCl (15 g/24 hod) u chorých s CKD 3.–4. štádia viedla ku zvýšenému vylučovaniu sodíka do moču, ale nemala vplyv na vylučovanie vitamínu C a KO

do moču (tab. 4). Intravenózne podanie 20 mg furosemidu chorým s CKD 3.–4. štádia viedlo ku zvýšenému vylučovaniu KO a vitamínu C do moču (tab. 5) [27,28].

Štvortýždňové podávanie jednej tabletky/24 hod Sorbiferu® Durules® (100 mg Fe²⁺ a 60 mg vitamínu C) hemodialyzovaným chorým malo za následok signifikantné zvýšenie hodnoty

hematokritu, koncentrácie železa a vitamínu C v sére, resp. plazme, ale nemalo vplyv na prítomnú uremickú hyperoxalémiu (tab. 6) [29].

Priemerná hodnota vitamínu C v plazme u chorých počas CAPD bola v referenčnom rozsahu a KO v plazme bola u všetkých chorých počas tejto liečby signifikantne zvýšená. Peritoneálny klírens KO bol 76,9 % z klírensu močoviny a peritoneálny transfer, t.j. strata danej substancie do peritoneálneho dialyzátu/6 hod, bol najvyšší u močoviny a najnižší u KO. Množstvo odstráneného oxalátu pri použití peritoneálneho dialyzačného roztoku s obsahom 1,5 % glukózy bol $150,0 \pm 51,8 \mu\text{mol}/24 \text{ hod}$, t.j. $1050,0 \pm 362,6 \mu\text{mol}/\text{týždeň}$ (tab. 7) [30,31].

Kyselina oxalová v plazme sa významne znížila po HD, HF a HDF u hemodialyzovaných chorých, ale najvýznamnejšie zníženie bolo zistené po HDF (63,3 %). Hodnota klírensu KO u hemodialyzovaných chorých počas HDF predstavovala 68 % z klírensu močoviny (tab. 8) [32,33].

Diskusia

Zistená priama závislosť KO v plazme od kreatinínu v sére, ukazovateľa uremického syndrómu, u chorých s CKD 1.–4. štádia a u chorých po transplantácii obličky bola v súlade s literárnymi údajmi [9,12,24,25,34]. Kyselina oxalová v slinách v kontrolnej skupine bola v referenčnom rozsahu, v súhlase s literárnym údajom [35], ale bola 10–30-násobne vyššia ako v plazme. Nebol zistený významný rozdiel v koncentrácii KO v slinách medzi kontrolnou skupinou a skupinou chorých s CKD 3.–4. štádia, napriek významnému rozdielu KO v plazme u týchto skupín. Pravdepodobne príčinou tohto zistenia je významne alkalické pH slín u chronických uremikov. Tento predpoklad čiastočne potvrdzuje zistená nepriama závislosť KO v slinách od pH slín. V zhode s literárnymi údajmi sme zistili veľmi nízke, až nemerateľné, hodnoty vitamínu C v slinách v oboch vyšetrovaných skupinách [26,35–38].

Vylučovanie KO a vitamínu C do moču bolo závislé od vodnej diurézy, sodíková diuréza neovplyvnila ich vylučovanie. Furosemid je diuretikum, ktoré inhibuje renálny tubulárny transport elektrolytov a vody. Biologický polčas furosemidu za fyziologických podmienok je 1–2,5 hod. U chorých s CKD 3.–5. štádia sa predlžuje až na 14 hod [39,40]. U našich chorých s CKD 3.–4. štádia biologický polčas furosemidu bol 6 hod. Intravenózne podanie furosemidu chorým s CKD 3.–4. štádia viedlo k zvýšenému vylučovaniu KO do moču, v dôsledku zníženej rezorpcie vody [28,37,38,41]. Opakované podanie veľkých dávok furosemidu (250 mg/24 hod) môže viesť ku zníženej tubululárnej reabsorpcii vody a KO a sekundárne ku zníženiu uremickej hyperoxalémie. Toto je pozitívny vedľajší účinok furosemidu u chorých s CKD 3.–5. štádia.

Odporúčaná dávka vitamínu C 60 mg/24 hod, ktorá sa nachádza v jednej tabletke Sorbifer® Durules® (100 mg Fe^{2+} , 60 mg vitamín C) bola adekvátne pre udržanie koncentrácie železa a vitamínu C v plazme, v referenčnom rozsahu u hemodialyzovaných chorých aj počas liečby EPO a nevedla k ďalšiemu zvýšeniu už prítomnej uremickej hyperoxalémie [29]. Hyperoxalémia a oxalóza kostnej drene boli príčinou rezistencie na liečbu EPO u chorého s urolitiázou v renálnej insuficiencii a tiež u dialyzovaného pacienta [14,42].

Kyselina oxalová v plazme u CAPD chorých bola signifikantne zvýšená. CAPD je liečba nahrádzajúca funkcie obličiek, ktorá významne neovplyvnila koncentráciu KO v plazme, napriek významnému kontinuálnemu odstraňovaniu oxalátu do peritoneálneho dialyzátu [30,31].

Klírens KO vzťahovaný ku klírensu močoviny bol počas HD 58,1 %, počas HF bol 74,2 % a počas postdilučnej HDF 69 %. Sieving koeficient KO počas HF vzťahovaný ku sieving koeficientu močoviny bol 77 %. Najvýznamnejšie zníženie KO v plazme sme zistili počas

postdilučnej HDF. Ani jedna z mimotelových eliminačných metód nevedla k trvalému zníženiu KO v plazme u dialyzovaných chorých. Dôvodom tejto skutočnosti je, že endogénna syntéza KO je aspoň dva razy väčšia ako súčasné možnosti jej odstraňovania pomocou CAPD a rôznych mimotelových eliminačných metód [32,33,43].

Záver

V súčasnej dobe je možné iba čiastočne ovplyvniť sekundárnu hyperoxalémiu u chorých s CKD 3.–5. štádia nasledujúcimi terapeutickými metódami: primeraná bielkovinová diéta, suplementácia vitamínom B_6 na zabránenie jeho deficitu v plazme a erytrocytoch, dlhodobé použitie kľúčkových diuretik (napr. furosemidu) [27], denná hemodialýza, dlhodobé používanie HF, predilučnej alebo postdilučnej HDF [43] a transplantácia obličky [10,44].

Literatúra

1. Vanholder R, Argilés A, Baurmeister U et al. Uremic toxicity: present state of the art. *Int J Artif Organs* 2001; 24: 695–725.
2. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int* 2003; 63: 1934–1943.
3. Vanholder R, Glorieux G, De Smet R et al. Low water-soluble uremic toxins. *Adv Ren Replace Ther* 2003; 10: 257–269.
4. Wills MR. Uremic toxins, and their effect on intermediary metabolism. *Clin Chem* 1985; 31: 5–13.
5. Levin RI, Kantoff PW, Jaffe EA. Uremic levels of oxalic acid suppress replication and migration of human endothelial cells. *Atherosclerosis* 1990; 10: 198–207.
6. Recht PA, Tepedino GJ, Sieck NW et al. Oxalic acid alters intracellular calcium in endothelial cells. *Atherosclerosis* 2004; 173: 321–328.
7. Costello JF, Smith M, Stolarski C et al. Extrarenal clearance of oxalate increases with progression of renal failure in the rat. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 1098–1104.
8. France NC, Holland PT, Wallace MR. Contribution of dialysis to endogenous oxalate production in patients with chronic renal failure. *Clin Chem* 1994; 40: 1544–1548.
9. Massry SG, Glassock RJ. *Textbook of Nephrology*, 2 volume. 3rd ed. Baltimore: Williams & Wilkins 1995.
10. Worcester EM, Fellner SK, Nakagawa Y et al. Effect of renal transplantation on

- serum oxalate and urinary oxalate excretion. *Nephron* 1994; 67: 414–418.
11. Hatch M, Freel RW, Vaziri ND. Intestinal excretion of oxalate in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 1339–1343.
 12. Boer P, van Leersum L, Hené RJ et al. Plasma oxalate concentration in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis* 1984; 4: 118–122.
 13. Salyer WR, Keren D. Oxalosis as a complication of chronic renal failure. *Kidney Int* 1973; 4: 61–66.
 14. Celasun B, Safali M, Yenicesu M. Secondary oxalosis of bone in a dialysis patient. *Scand J Urol Nephrol* 1995; 29: 211–214.
 15. Nakazawa R, Hamaguchi K, Hosaka E et al. Cutaneous oxalate deposition in a hemodialysis patient. *Am J Kidney Dis* 1995; 25: 492–497.
 16. Costello JF, Sadovnic MC, Smith M et al. Effect of vitamin B6 supplementation on plasma oxalate and oxalate removal rate in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 1018–1024.
 17. Makoff R. Vitamin replacement therapy in renal failure patients. *Miner Electrolyte Metab* 1999; 25: 349–351.
 18. Rath S, Kern W, Lau K. Vitamin C-induced hyperoxaluria causing reversible tubulointerstitial nephritis and chronic renal failure: a case report. *J Med Case Report* 2007; 1: 155.
 19. Ogawa Y, Machida N, Jahana M et al. Major factors modulating the serum oxalic acid level in hemodialysis patients. *Front Biosci* 2004; 9: 2901–2908.
 20. Schück O. Fractional sodium excretion in patients with chronic renal failure with respect to the therapy. *Nephron* 1982; 30: 95–96.
 21. Schück O. *Nefrologia pro praktické lékaře*. 1. vyd. Praha: Scientia Medica 1993: 156–158.
 22. Krämer BK, Pickert A, Hohmann C et al. In vivo clearance and elimination of nine marker substances during hemofiltration with different membranes. *Int J Artif Organ* 1992; 15: 408–412.
 23. Hořejší J, Fassati M, Jícha J et al. Základy chemického vyšetřování v lékařství. 4. vyd. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství 1964.
 24. Rolton HA, McConnell KN, Modi KS et al. A simple, rapid assay for plasma oxalate in uraemic patients using oxalate oxidase, which is free from vitamin C interference. *Clin Chim Acta* 1989; 182: 247–254.
 25. Mydlík M, Derzsiová K, Pribylincová V et al. Urinary excretion of oxalic acid in chronic renal failure and after kidney transplantation. *Przegląd Lek* 1996; 53 (Suppl 3): 65–69.
 26. Mydlík M, Derzsiová K, Jenča A et al. Salivary oxalic acid and ascorbic acid in chronic renal failure. *Proc Selected Papers of the XIII International Congress on Nutrition and Metabolism in Renal Disease*. Merida (Mexico) February 28–March 4, 2006. In: Trevino-Becerra A, Pineda-Sanches E, Trínida-Ramos P (eds). Bologna, Italy, Medimond S. r. l. 2006, 39–44.
 27. Mydlík M, Derzsiová K, Žemberová E. Influence of water and sodium diuresis and furosemide on urinary excretion of vitamin B6, oxalic acid and vitamin C in chronic renal failure. *Miner Electrolyte Metab* 1999; 25: 352–356.
 28. Mydlík M, Derzsiová K, Žemberová E et al. Vplyv furosemidu na vylučovanie kyseliny oxalovej, vitamínu C a vitamínu B6 pri chronickom zlyhaní obličiek. *Vnitr Léč* 1998; 44: 127–131.
 29. Derzsiová K, Mydlík M, Boldizsár J et al. Perorálne použitie železa s vitamínom C u hemodialyzovaných chorých. *Vnitr Léč* 2001; 47: 210–214.
 30. Mydlík M, Derzsiová K, Šváč J et al. Peritoneal clearance and peritoneal transfer of oxalic acid, vitamin C and vitamin B6 during continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Artif Organs* 1998; 22: 784–788.
 31. Mydlík M, Derzsiová K, Sulková S et al. Peritoneálny klírens a peritoneálny transfer kyseliny oxalovej a kyseliny askorbovej počas kontinuálnej ambulantnej peritoneálnej dialýzy (CAPD). *Akt Nefrol* 1995; 1: 25–28.
 32. Mydlík M, Derzsiová K. Renal replacement therapy and secondary hyperoxalaemia in chronic renal failure. *Kidney Int* 2001; 59 (Suppl 78): S304–S307.
 33. Costello JF, Sadovnic MJ, Cottington EM. Plasma oxalate levels rise in hemodialysis patients despite increased oxalate removal. *J Am Soc Nephrol* 1991; 1: 1289–1298.
 34. Marangella M, Vitale C, Petrarulo M et al. The clinical significance of assessment of serum calcium oxalate saturation in the hyperoxaluria syndromes. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (Suppl 8): 11–13.
 35. Wahl R, Kallee E. Oxalic acid in saliva, teeth and tooth tartar. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1994; 32: 821–825.
 36. Mäkilä E. Salivary Vitamins. *Int Z Vitamin Forsch* 1968; 38: 260–269.
 37. Mäkilä E, Kirveskari P. A study of ascorbic acid in human saliva. *Arch Oral Biol* 1969; 14: 1285–1292.
 38. Bates JF, Hughes RE, Hurley RJ. Ascorbic acid status in man: measurements of salivary, plasma and white blood cell concentration. *Arch Oral Biol* 1972; 17: 1017–1020.
 39. Blacow NW, Wade A (eds). *Martindale. The Extra Pharmacopoeia*. 26th ed. London: The Pharmaceutical Press 1972.
 40. Dzúrik R, Dzúriková V. *Diuretická liečba*. 2. vyd. Martin: Osveta 1981.
 41. Boer P, Beutler JJ, van Rijn HJ et al. Urinary oxalate excretion during intravenous infusion of diuretics in man. *Nephron* 1990; 54: 187–188.
 42. Sahun G, Acikalin MF, Yalcin AU. Erythropoietin resistance as a result of oxalosis in bone marrow. *Clin Nephrol* 2005; 63: 402–404.
 43. Dell'Aquila R, Feriani M, Mascalonzi E et al. Oxalate removal by differing dialysis techniques. *ASAIO J* 1992; 38: 797–800.
 44. Mydlík M, Derzsiová K. Oxalic acid as a uremic toxin. *J Ren Nutr* 2008; 18: 33–39.

prof. MUDr. Miroslav Mydlík, DrSc.
www.fnlp.sk
e-mail: k.derzsiova@fnlp.sk

Doručeno do redakce: 25. 4. 2010