

# Morfološke promjene u bioptatima bubrega odraslih bolesnika s proteinurijom

---

Hrgović, Tomislav

Master's thesis / Diplomski rad

2020

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:087030>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-06**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Tomislav Hrgović**

**Morfološke promjene u bioptatima bubrega  
odraslih bolesnika s proteinurijom**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Patologija s patofiziologijom Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen u Kliničkom bolničkom centru u Zagrebu pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Stele Bulimbašić.

Zahvala: Zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Steli Bulimbašić na uloženom trudu i vremenu, potpori i stručnom vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada.

## SADRŽAJ

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. UVOD .....                                                                                          | 1  |
| 1.1 NEFRON .....                                                                                       | 1  |
| 1.1.2 STVARANJE MOKRAĆE IZ GLOMERULARNOG FILTRATA .....                                                | 1  |
| 1.1.3 GLOMERULARNO – BAZALNA MEMBRANA.....                                                             | 2  |
| 1.1.4. PATOGENEZA GLOMERULARNIH BOLESTI .....                                                          | 3  |
| 1.1.5. KLINIČKI POKAZATELJI GLOMERULARNIH BOLESTI .....                                                | 7  |
| 1.2. LABORATORIJSKA ANALIZA BUBREŽNIH BOLESTI .....                                                    | 9  |
| 1.2.1. UZORAK URINA – VRSTE UZORAKA I PREDANALITIČKI ČIMBENICI KOJI<br>UTJEČU NA ANALIZU URINA.....    | 12 |
| 1.2.2. PROTEINURIJA.....                                                                               | 13 |
| 1.2.2.1. VRSTE PROTEINURIJA .....                                                                      | 14 |
| 1.2.2.2. KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA PROTEINURIJE.....                                        | 15 |
| 1.2.2.3. IMUNOKEMIJSKE METODE ZA ODREĐIVANJE PROTEINA –<br>NEFELOMETRIJA.....                          | 17 |
| 1.3. BIOPSIJA BUBREGA.....                                                                             | 19 |
| 1.3.1. MIKROSKOPSKA ANALIZA BUBREŽNOG HISTOLOŠKOG PREPARATA.....                                       | 20 |
| 2. OBRAZLOŽENJE TEME .....                                                                             | 21 |
| 3. MATERIJALI I METODE .....                                                                           | 22 |
| 4. REZULTATI.....                                                                                      | 24 |
| 4.1 UKUPAN BROJ BIOPSIJA, RASPODJELA PO SPOLU I VRSTI MATERIJALA .....                                 | 24 |
| 4.2 RASPON STAROSTI PACIJENATA, INTERVALI STAROSTI PACIJENATA .....                                    | 24 |
| 4.3 UKUPAN BROJ PACIJENATA S PROTEINURIJOM UZ RASPODJELU<br>VRIJEDNOSTI PO STAROSNIM INTERVALIMA ..... | 26 |
| 4.4 PATOHISTOLOŠKE DIJAGNOZE BIOPSIJA BUBREGA I UČESTALOST<br>PROTEINURIJE .....                       | 26 |
| 5. RASPRAVA.....                                                                                       | 32 |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 6. ZAKLJUČAK .....         | 45 |
| 7. LITERATURA.....         | 46 |
| 8. SAŽETAK.....            | 50 |
| 8. SUMMARY .....           | 51 |
| 9. PRILOG .....            | 52 |
| 9.1 POPIS SKRAĆENICA ..... | 52 |

## **1.UVOD**

### **1.1 NEFRON**

Bubreg je parni organ mokraćovodnog sustava smješten retroperitonealno. Osnovnu funkcionalnu jedinicu bubrega čini nefron. Uloga nefrona je proizvodnja mokraće, a u jednom bubregu nalazi se oko 1,2 milijuna nefrona. Početni dio nefrona čini bubrežno tjelešće, sastavljeno od mreže kapilara ulegnute u Bowmanovu čahuru. Mreža kapilara, slično klupku, predstavlja glomerul. Na bubrežno tjelešće nastavlja se bubrežni kanalić (tubul), dugački dio u kojemu se iz tekućine koja je filtrirana iz glomerula stvara konačna mokraća (Guyton i Hall, 2012; Berne i Levy, 1996).

#### **1.1.2 STVARANJE MOKRAĆE IZ GLOMERULARNOG FILTRATA**

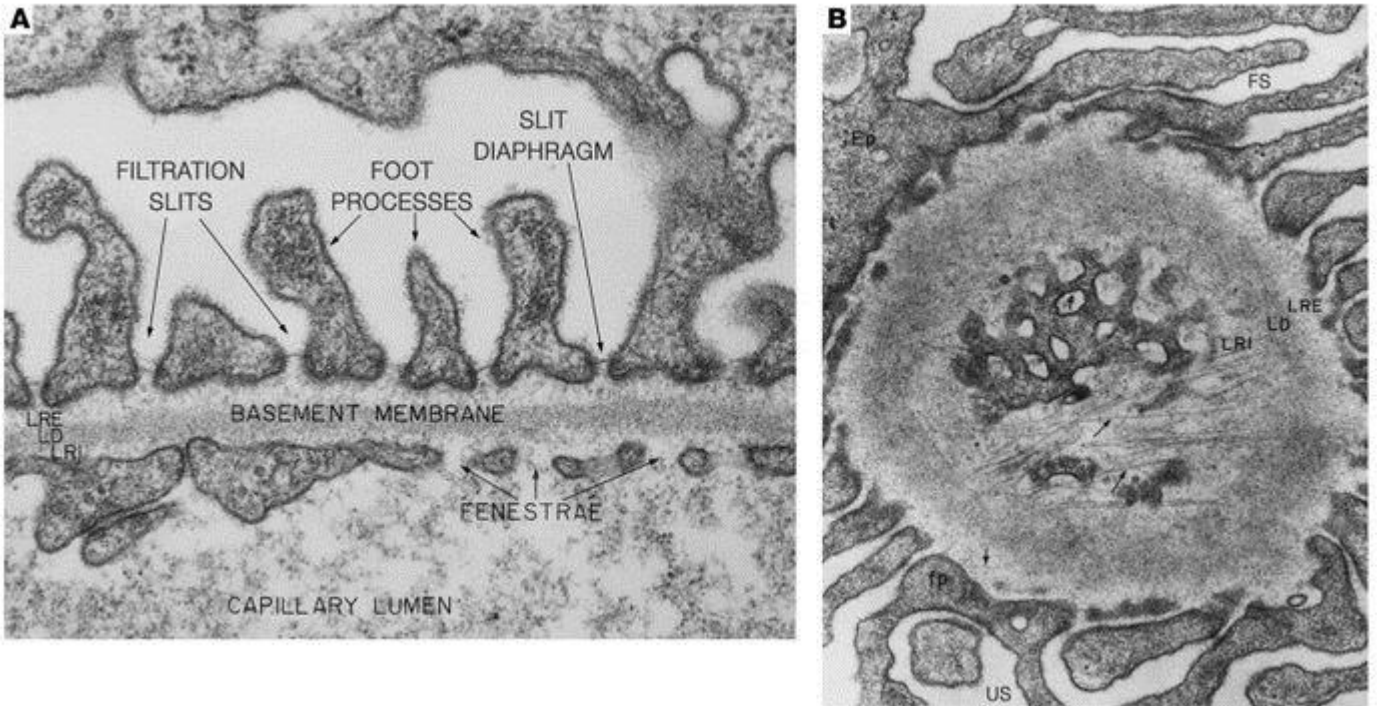
Krv aferentnom arteriolom utječe u glomerularne kapilare. Iz glomerularne kapilare tekućina i tvari male molekulske mase filtriraju se u prostor omeđen Bowmanom čahurom (kapsulom), stvarajući primarnu mokraću ili glomerularni filtrat. Tvari velike molekulske mase, poput bjelančevina, zaostaju u krvi te se u maloj koncentraciji nalaze u fiziološkom filtratu te stanice poput eritrocita. Osim o veličini, prolazak tvari kroz glomerule ovisi i o naboju tvari. Tvari s negativnim nabojem teže prolaze kroz glomerularnu membranu jer se odbijaju od negativno nabijenih struktura u slojevima glomerularno-bazalne membrane (Guyton i Hall, 2012).

Glomerularni filtrat ulazi u proksimalni kanalić gdje podliježe procesima reapsorpcije i ekskrecije. Rezultat tog procesa je vrlo mala koncentracija određenih tvari u mokraći, primjerice aminokiselina, glukoze i elektrolita, odnosno mokraća različitog biokemijskog sastava od glomerularnog filtrata. Sastav se dodatno mijenja prolaskom kroz Henleovu petlju. Henleova petlja sastoji se od tankog silaznog te tankog i debelog uzlaznog krata, za koje je karakteristična reapsorpcija vode i elektrolita (Na, Cl, K, Mg, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Distalni kanalić i sabirna cijev su završni segmenti u procesu stvaranja konačne mokraće, koji svojim mehanizmima dovode do reapsorpcije i sekrecije pojedinih tvari (elektroliti, voda, ureja) (Damjanov i sur., ured., 2014).

Sastav konačne mokraće ovisi o funkcionalnosti nefrona i njegovih mehanizama, ali i o stanju organizma. Tlak, koncentracija elektrolita u izvanstaničnoj tekućini, acidobazni status, hormoni i brojni drugi parametri sudjeluju u regulaciji stvaranja i izlučivanja mokraće. Sastav mokraće nije apsolutan i ovisi o intraindividualnim i interindividualnim čimbenicima. Primjerice, ovisi o ishrani osobe, dobi i fizičkoj aktivnosti. Međutim, određene tvari se u fiziološkim uvjetima ne pojavljuju u mokraći te njihova prisutnost može ukazati na patološke procese u organizmu. Primjerice, pojava proteina u razini većoj iznad fiziološke (proteinurija) ukazuje na moguće poremećene dijelove struktura glomerularne membrane (Štraus i Čvorišćec, 2009).

### **1.1.3 GLOMERULARNO – BAZALNA MEMBRANA**

Tvari iz glomerularnih kapilara filtriraju se u bubrežne kanaliće prolaskom kroz glomerularno-bazalnu membranu. Glomerularno-bazalna membrana je barijera kroz koju prolaze voda i u njoj otopljene tvari male molekulske mase, a velike tvari poput bjelančevina i staničnih elemenata zaostaju. Sastavljena je od tri sloja: endotel, bazalna membrana i epitelne stanice (podociti)(Slika 1). Endotel prekriva lumen glomerularnih kapilara, a specifičan je po brojnim pukotinama (fenestre). Okružuje ga bazalna membrana, struktura sastavljena od proteoglikanskih i kolagenskih fragmenata (tip IV kolagen). Između njih se nalazi prostor koji omogućuje filtraciju malih molekula. Kao i endotel, bazalna membrana svojim negativnim nabojem (proteoglikani) odbija bjelančevine. Osim veličine, negativni naboj bjelančevina je također uzrok njihove slabe propusnosti. Bazalna membrane glomerula posjeduje brojna specifična svojstva koja ju razlikuju od bazalnih membrane kapilara u ostalim organskim sustavima. Podociti čine završni dio GBM. To su epitelne stanice s dugačkim izdancima nalik nožicama između kojih se nalaze pukotinaste pore. One omogućuju daljni prolazak primarnog filtrata (Guyton i Hall, 2012).



**Slika 1.** Prikaz glomerularno-bazalne membrane elektronskom mikroskopijom ( preuzeto s: Farquhar, 2016).

#### 1.1.4. PATOGENEZA GLOMERULARNIH BOLESTI

Etiologija glomerularnih bolesti je kompleksne prirode, od primarnih bolesti do sekundarnih bolesti s brojnim uzročnicima. Nasljedni genetski i metabolički poremećaji, brojni toksini i lijekovi s izraženom nefrotoksičnošću, promjene u cirkulaciji krvi kroz bubrege, infekcije – neki su od čimbenika koji narušavaju strukturu glomerula te dovode do oštećenja bubrega. Zbog poremećene strukture glomerularne membrane, glomeruli postaju propusniji te se brojne tvari sada nalaze u mokraći (Galešić i sur., ured., 2014).

Brojne su podjele glomerularnih bolesti, ali se detaljan mehanizam još uvijek ne poznaje (Sethi i sur., 2016). Podjela se najčešće temelji na patohistološkoj razini, prema kojoj se dijele na upalne i neupalne. Opći naziv za upalne bolesti je glomerulonefritis, a ovisno koji dio bubrega je zahvaćen upalom i proliferacijom stanica tako će se i nazvati glomerulonefritis. Primjer neupalne glomerularne bolesti je amiloidoza. Karakterizirana je odlaganjem amiloida, bjelančevina



fibrilirane građe u glomerulima.. AL ili primarna amiloidoza nastaje kao posljedica taloženja monoklonskih lakih lanaca, koji su u ovom slučaju fibrilarna komponenta koja uzrokuje glomerularnu bolest i rezultira proteinurijom, a stupanj proteinurije ovisi o dijelu bubrega koji je zahvaćen. U slučaju AL amiloidoze, Bence-Jones proteini su oni koji se povećano izlučuju mokraćom zbog čega se ne može koristiti test-trakica koja je osjetljiva najviše na albumin. Sekundarna amiloidoza, AA amiloidoza, javlja se uslijed infekcija ili kroničnih upalnih bolesti jer AA amiloid reaktant upalne faze. Zbog razgradnje AA amiloida, dolazi do nakupljanja njegovog prekursora u raznim dijelovima bubrega (Papa i Lachmann, 2018; Damjanov i sur., ured., 2014)

Primarne glomerularne ozljede često su imunosne prirode, uslijed nastajanja imunih kompleksa. Uočljivi su na imunoflorescentnoj i elektronskoj mikroskopiji, a sastoje se od imunoglobulina, komplementa i ostalih proteina imunosnog sustava. Uslijed odlaganja protutijela u glomerulu, aktiviraju se sistemske i bubrežne imunosne komponente. Aktivira se komplement (litički C5b-9 kompleks) te stanična citotoksičnost ovisna o protutijelima. Uzrok poremećaja može biti autoimunost ili reakcija na strane antigene. Bolest gustih depozita (nekad nazivan membranoproliferativni glomerulonefritis tip II) nastaje uslijed alternativnog puta aktivacije komplementa. Imunokompleksi su vjerojatni uzrok i primarne i sekundarne membranske glomerulopatije, a protutijela često nastaju in situ u bubrezima. Proteinurija je u najvećem broju slučajeva simptomatska, u obliku nefrotskog sindroma ponekad praćenog hematurijom (Floege i Feehaly, 2018; Galešić i sur., ured., 2014).

Akutni glomerulonefritis je oblik akutnog oštećenja bubrega u kojem se često nakupljaju imunokompleksi nastali vezanjem protutijela na antigene, a koji dovodi do nefritičkog sindroma (Galešić i sur., ured., 2014). Progresivno se nakupljaju i talože u glomerulima, glomerularne stanice proliferiraju te se glomeruli začepļuju usred upalne reakcije. Bjelančevine se nakupljaju u mokraći, funkcija bubrega se pogoršava te postepeno dovodi do bubrežnog zatajenja (Damjanov i sur., ured., 2014; Guyton i Hall, 2012). Može nastati kao posljedica infekcije – akutni postinfekcijski glomerulonefritis. Histološkim pregledom uočava se infiltracija upalnih stanica poput neutrofila i izrazito povećani glomeruli. Javlja se blaži oblik proteinurije (Galešić i sur., ured., 2014).

IgA-nefropatija ili Bergerova bolest je karakterizirana odlaganjem IgA u obliku cirkulirajućih

imunokompleksa u mezangiju. Promatrajući histološki preparat svjetlosnom mikroskopijom, u većini slučajeva se vidi proliferacija mezangija s povećanim brojem stanica, a u težim oblicima se mogu uočiti i stanični polumjeseci. Ukoliko se u sklopu IgA nefropatije nađu segmentalne skleroze odn. ožiljci, to će se odraziti najčešće blažim oblikom proteinurije (Damjanov i sur., ured., 2014). Lupusni nefritis primjer je patološkog stanja uzrokovanog zbog reagiranja imunološkog sustava na autoantigene. Nastaje u sklopu autoimune bolesti SLE. Može se manifestirati na različite načine, od blage eritrociturije do teškog oštećenja bubrežnog parenhima. Najčešće se vidi slika eritrociturije i proteinurije koja može biti i nefrotskog ranga (obično uz sliku sekundarnog membranskog lupus nefritisa) (Galešić i sur., ured., 2014).

Poremećaj mogu izazvati i odlaganja protutijela koja nisu dio imunokompleksa. Paucimuni glomerulonefritis je stanje najčešće povezano s ANCO-m (ANCA = antineutrofilna citoplazmatska protutijela), a u kojem se imunofluorescentim bojenjem ne pronalaze imuni kompleksi i komplement (Damjanov i sur., ured., 2014).

Stanična imunost rjeđe uzrokuje primarne glomerularne ozljede, ali doprinosi u etiologiji. U nekim vrstama glomerulopatija limfokini posreduju u bolesti te dovode do proteinurije i gubitka nožica podocita. Primjerice, bolest minimalnih promjena (BMP) je idiopatski sindrom u djece i odraslih koji rezultira masivnom proteinurijom zbog poremećene strukture podocita. Može se raditi i o sekundarnoj BMP koja je češća u odraslih, a može se naći u sklopu paraneoplastičkog sindroma, reakcija na neke lijekove isl. Gubitak proteina može biti toliko velik da se u mokraći nalazi i do 40 g proteina. Elektronskom mikroskopijom uočava se difuzni gubitak nožica podocita (Damjanov i sur., ured., 2014; Guyton i Hall, 2012). Fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS) jedan je od vodećih uzroka idiopatskih nefrotskih sindroma i podocitopatija velike incidencije. Histološki se očituje gubitkom nožica podocita i odvajanjem podocita od GBM, što za posljedicu ima proteinuriju. Ovisno o količini uništenih podocita, veći je i stupanj proteinurije. Smatra se da je limfokin iz limfocita T odgovoran za patologiju ovih bolesti jer se nakon imunosupresivne terapije pojavljuje remisija bolesti. Često se ponovo javlja u pacijenata s transplattiranim bubregom. Sekundarni oblik FSGS-a nastaje kao posljedica drugih bubrežnih ili sistemnih bolesti. U velikom broju slučajeva povezana je s arterijskom hipertenzijom, pretilošću i virusnom infekcijom. Ukoliko je pacijentu uklonjen jedan bubreg ili je

bubrežna bolest dovela do toga da je jedan dio glomerula nefunkcionalan zbog čega ostali glomeruli postaju preopterećeni, može se razviti sekundarni FSGS. Blažeg je tijeka od primarnog oblika FSGS, uz manju incidenciju nefrotskog sindroma i s blažim stupnjem proteinurije (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014).

Neimunosni uzroci glomerulopatija su također brojni. Primjer genskog poremećaja je Alportov sindrom. To je nasljedna bolest u kojoj dolazi do mutacije u genu za sintezu kolagena IV, važne komponente GBM. Prva je manifestacija eritrociturija koja može biti udružena s blažom proteinurijom. Proteinurija nefrotskog ranga se najčešće javlja u kasnijim uznapredovalim stadijima.

Metabolička primarna glomerularna ozljeda nastaje kao posljedica genske sklonosti nakupljanja patoloških metabolita ili kao stečeni oblik. Dijabetička nefropatija je kompleksna bolest koja dovodi do oštećenja krvnih žila i samog parenhima bubrega i česti je uzrok kroničnih bubrežnih oboljenja. Neregulirana glikemija, LDL kolesterol i sistemska hipertenzija dovode do proliferacije mezangija, glomeruloskleroze i glomerularne hipertenzije. Narušava se struktura GBM te ona počinje propuštati albumin i ostale proteine u mokraću. Jedan od ranih pokazatelja utjecaja dijabetesa na bubrege je mikroalbuminurija. Zbog toga je kod dijabetičara laboratorijska analiza urina barem jednom godišnje vrlo važna stavka u kontroli dijabetesa i dijabetičke nefropatije, posebice kod dijabetesa tipa II. Mikroalbuminurija sama dodatno oštećuje glomerule i tubule, ali djeluje i kardiovaskularni sustav povećavajući mogućnosti za razvojem arterijske hipertenzije. S vremenom, kako se bubreg sve više oštećuje napreduje i proteinurija/albuminurija koja se već može detektirati i običnim test-trakicama. U konačnici DN dovodi do bubrežnog zatajenja (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014).

Lijekovi ili ostali toksini uzrokuju toksičnu ozljedu, a uslijed poremećenog protoka krvi javlja se i ishemijska primarna glomerularna ozljeda. Uslijed povećanog tlaka i protoka krvi javlja se mehanički poremećaj, koji za posljedicu ima glomerularnu hipertenziju i narušavanje glomerularne strukture. Neimunosni uzroci često dovode i do nekroze kanalića, uništavajući epitelne stanice koje se odvajaju od GBM i nakupljaju u kanalićima. (Galešić i sur., ured., 2014; Guyton i Hall, 2012).

### **1.1.5. KLINIČKI POKAZATELJI GLOMERULARNIH BOLESTI**

Pri sumnji na glomerularnu bolest, tijekom kliničkog pregled pacijenta uzimaju se u obzir anamneza i široki spektar mogućih simptoma. Glomerularne bolesti, ovisno o bubrežnoj patologiji i posljedično kliničkoj slici pacijenta, dijele se na pet skupina: nefrotski sindrom, akutni nefritički sindrom, brzoprogresivni glomerulonefritis, asimptomatska hematurija i/ili proteinurija i kronična bubrežna insuficijencija (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014).

Nefrotski sindrom je karakteriziran proteinurijom većom od 3,5 g u 24 h urinu, a u nekim slučajevima i još obilnijim proteinurijama. Budući da se u najvećoj mjeri gubi albumin, odnosno prisutna je hipoalbuminemija, dolazi do pojave edema po cijelom tijelu. Iako etiologija nije u potpunosti razjašnjena, kao mogući mehanizam uzima se povećana retencija NaCl-a koja dovodi do "prepunjenosti krvotoka". Odnosno, voda, tvari i elektroliti otopljeni u njoj se ne izlučuju te se u povećanoj mjeri zadržavaju u organizmu. Povećava se koloidno-osmotski tlak plazme i razvija hipertenzija, tekućina izlazi u intersticij te nastaje edem. Nefrotski sindrom uzrokuju bolesti koje dovode do povećane propusnosti GBM, poput kroničnog glomerulonefritisa, bolesti minimanih promjena i FSGS. (Guyton i Hall, 2012). Nefrotski sindrom ima posljedica i na koagulacijski sustav povećavajući rizik od tromboembolijskih događaja preko povećane razine prokoagulacijskih faktora (faktor V, fibrinogen), snižene razine antikoagulacijskih faktora poput proteina S i pospješene agregacije trombocita. Komplikacija nefrotskog sindrom je i hiperlipidemija s lipidurijom zbog povećane sinteze, a smanjenog kataboliza molekula VLDL-a, IDL-a, LDL-a, ukupnog kolesterola i ostalih. Kombinacija povećanog rizika od tromboembolijskog događaja i hiperlipidemije je aterogena i predstavlja opasnost od kardiovaskularnih komplikacija (Floege i sur., 2018; Galešić i sur., ured., 2014).

Akutni nefritički sindrom karakteriziran je naglom pojavom hematurije s eritrocitnim cilindrima, hipertenzijom, smanjenjem GFR zbog zatajenja funkcije bubrega. Javlja se blaži oblik proteinurije koja postepeno postaje naglašenija kako eritrociti oštećuju bubrege. Osjetan je porast koncentracije kreatinina i ureje u serumu. Kao posljedica se javljaju edemi i otekline zbog

“prepunjenosti krvotoka”. Sinonim za ovo stanje je akutni glomerulonefritis, a javlja se kao rezultat infekcije i autoimunih bolesti poput lupus nefritisa (Galešić i sur., ured., 2014).

Brzoprogresivni glomerulonefritis je stanje nalik akutnom nefritičkom sindromu. Također se javljaju proteinurija, hematurija i bubrežno zatajenje, ali je sam tijekom bolesti sporiji bez razvoja edema. Karakteriziraju ga razvoj upalnih polumjeseca zbog raspada GBM i prodora upalnih komponenti i fibrina u glomerule. Bez adekvatne terapije, u roku par tjedana ili mjeseci može napredovati u kroničnu bubrežnu insuficijenciju s terminalnom fazom (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014).

Kronična bubrežna insuficijencija je stanje u kojem se kroz duže vrijeme razvija disfunkcija i oštećenje bubrega, a kao zadnji stupanj ili terminalna faza se javlja kronično bubrežno zatajenje. Rezultira oligurijom ili anurijom uslijed smanjenja glomerularne filtracije. Metaboliti koji su inače otpadni produkti i većinski se izlučuju urinom poput ureje, kreatinina i amonijaka, zadržavaju se u organizmu i uzrokuju posljedice u brojnim organskim sustavima. Pacijent je na doživotnoj dijalizi ili se podvrgava transplataciji bubrega. Jedan od prognostičkih markera za razvoj kroničnog bubrežnog zatajenja je i porast proteinurije u pacijenta – porast proteina iznad 5 g u dnevnom urinu može biti znak upozorenja (Floege i Feehaly, 2018; Galešić i sur., ured., 2014).

Asimptomatska hematurija podrazumijeva mikrohematuriju, uočljivu tek pri mikroskopskom pregledu mokraćnog sedimenta. Uzroci mogu biti IgA nefropatija, Alportov sindrom i neke druge glomerularne bolesti, ali i patološka stanja poput tumora i kamenca. Predstavlja slučajan nalaz pri pregledu urina, kao i asimptomatska proteinurija (proteini u 24 h-urinu do 3,5 g). Asimptomatska hematurija i proteinurija prisutni su uz normalnu funkciju bubrega, ali mogu biti jedan od ranijih pokazatelja glomerularne bolesti (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014).

## 1.2. LABORATORIJSKA ANALIZA BUBREŽNIH BOLESTI

Laboratorijski panel dijagnostičkih pretraga u sklopu ispitivanja bubrežne funkcije pacijenta dijele se na pretrage u krvi (serum, plazma) i urinu.

U serumu se mogu promatrati biokemijski, koagulacijski i imunološki i brojni drugi parametri provođenjem brojnih laboratorijskih metoda. Primjerice, spektrofotometrijske, imunokemijske i elektroforetske tehnike (Štraus i Čvorišćec, 2009).

Biokemijski parametri koji se određuju su elektroliti (natrij, kalij, kalcij, fosfor, magnezij, kloridi), glukoza, otpadni produkti metabolizma (kreatinin, ureja, urati, amonijak) i ukupni proteini. Ukoliko je poremećena funkcija bubrega, dolazi do porasta koncentracije kreatinina i ureje. Oni su ujedno jedni i od najvažnijih biokemijskih parametra za procjenjivanje bubrežne funkcije. Prate se njihove koncentracije i omjeri koncentracije u serumu, izračunava klirens na temelju kojeg se procjenjuje i/ili određuje glomerularna filtracija (GFR). Budući da bubreg ima važnu ulogu u održavanju acido-bazne ravnoteže, ispituje se i acido-bazni status krvi (Štraus i Čvorišćec, 2009; Burtis i sur., 2008).

Bubrežna patologija u velikom broju slučajeva dovodi do smanjene koncentracije ukupnih proteina zbog njihovog povećanog gubitka urinom. Serumski proteini mogu se razdvojiti elektroforetskim tehnikama, a danas su najčešće metode izbora zonska elektroforeza na agaroznom ili poliakrilamidnom gelu i kapilarna elektroforeza. Nefrotski sindrom uzrokovat će smanjeni pik albuminske, beta i gama-globulinske frakcije zbog pojačanog izlučivanja mokraćom te posljedično relativno povećanje alfa 2 frakcije u kapilarnoj elektroforezi. Ukoliko je povećana gama globulinska frakcija s primjetnim ostrim monoklonskim pikom prilikom kapilarne elektroforeze serumskih proteina, radi se imunofiksacija u imunotipizacije monoklonskog proteina. Njome se može dokazati prisustvo kappa ili lamda lakih lanaca uz određenu tešku klasu lanaca, tj. Bence-Jones proteina. Zbog njihove povećane koncentracije u krvi, povećano će izlučivati urinom i uzrokovati paraproteinuriju (Ciapini, 2010; Štraus i Čvorišćec, 2009). U

serumu se, u svrhu diferencijalne dijagnoze proteinurija, mogu određivati koncentracije pojedinih proteina kao markera bubrežnih bolesti. Primjerice, korisno je određivanje beta-2-mikroglobulina koji se zbog svoje male molekularne mase filtrira kroz GBM, ali reapsorbira u tubulima. U slučaju oštećenja glomerula, doći će do povećane koncentracije u serumu zbog smanjene filtracije kroz GBM. Oštećenjem tubula ne dolazi do reapsorpcije, beta-2-mikroglobulin se izlučuje u mokraći i uzrokuje proteinuriju (Štraus i Čvorišćec, 2009).

Imunološki parametri koji se mogu određivati u sklopu laboratorijske analize primarne ili sekundarne bubrežne bolesti su koncentracije imunoglobulina u serumu, laki lanci ili Bence-Jones proteini u serumu i urinu, komponente komplemента i ostali. U IgA nefropatiji koncentracija IgA u serumu je jako povećana kod polovice bolesnika (Galešić i sur., ured., 2014). Komponente komplemента zbog prekomjerne aktivacije mogu se taložiti i nakupljati u glomerulima pa su u nekim slučajevima koncentracije pojedinih komponenti u serumu vrlo niske, poput bolesti gustih depozita (DDD). Također, ispituje se prisustvo autoantitijela u serumu na određene komponente GBM ili drugih dijelova glomerula uslijed autoimunih oboljenja. Primjerice, ANCA-protutijela u sklopu dijagnoze sistemskog vaskulitisa, koja nakon nekog vremena oštećuju i bubreg uzrokujući nekrotizirajući pauciimuni glomerulonefritis. U dijagnozi Goodpastureovog sindroma, u serumu će se određivati protutijela na GBM. Prilikom sumnje na sistemski eritemski lupus i lupus nefritis, u serumu će se ispitivati prisutno antinuklearnih antitijela, anti-ds DNA protutijela (Galešić i sur., ured., 2014). U slučaju transplatiranog bubrega, za patohistološku dijagnozu bit će ključan podatak analize HLA protutijela imunološkim (serološki test, ELISA) i testovima molekularne dijagnostike koji će otkriti moguću senzibilizaciju primatelja. Utvrđuje se moguće prisustvo autoantitijela ili aloantitijela IgM ili IgG klase što može rezultirati dijagnozom akutnog ili kroničnog humoralnog odbacivanja. HLA protutijela na HLA antigene davatelja nazivaju se donor ili davatelj specifična antitijela (DSA), a pretežito su to citotoksična protutijela. Ukoliko su testovi negativni, mogućnost odbacivanja transplatiranog bubrega kao dijagnoze kod pacijenta s transplatiranim bubregom je manja (Yamamoto i sur., 2016; Štraus i Čvorišćec, 2009).

Fibrinogen je protein koji se sintetiza u jetri, a ima važnu ulogu u zgrušavanju krvi. Određuje se koagulometrijski. Ovaj koagulacijski parametar može se promatrati u sklopu bubrežne bolesti jer

se u slučaju nefrotskog sindroma nalazi povećana koncentracija u krvi kao posljedica jetrene kompenzije zbog gubitka albumina mokraćom (Štraus i Čvorišćec, 2009).

U hematološkom laboratoriju promatrat će se kompletna krvna slika. Uz određene primarne ili sekundarne bubrežne bolesti, veže se karakteristična krvna slika. Primjerice, lupus rezultira anemijom, leukopenijom i trombocitopenijom (Galešić i sur., ured., 2014).

U slučaju sumnje na poliomavirus nefropatiju ili slična virusom uzrokovana nefrotska oštećenja, metodama molekularne dijagnostike iz pune krvi izolira se, detektira i kvantificira virusna DNA.

Analiza urina obuhvaća kvalitativne i kvantitativne metode. Prvi korak u obradi uzorka urina je kvalitativna analiza koja započinje fizikalnim pregledom mokraće – boja, miris i izgled. Mokraća zdravih osoba žute je boje, bistra i bez mirisa. Bilo kakvo odstupanje u navedenim parametrim može ukazati na patološku aktivnost (Janković i sur., ured, 2018).

Nakon fizikalnog pregleda, slijedi kemijski pregled testnim trakama. Pomoću njih ispituju se relativna volumna masa i pH mokraće te prisutnost sastojaka koji u fiziološkim uvjetima, uslijed očuvane i funkcionalne GBM, se ne nalaze u mokraći – glukoza, eritrociti, hemoglobin, nitriti, leukociti, ketonski spojevi, bilirubin, proteini. Neki parametri, poput bilirubina i proteina, mogu se u tragovima nalaziti i u zdravoj mokraći, ali se ne mogu dokazati testnom trakom pa su negativni. Uslijed povećane koncentracije nekog od navedenih parametara, doći će do obojenja testne trake te se usporedbom s referentom skalom navedenoj na originalnom pakiranju uspoređuje intenzitet obojenja. Načelo metode dokazivanja karakteristično je za svaki određeni parametar. Primjerice, proteini se dokazuju „proteinskom greškom indikatora“, odnosno preko amino skupine se vežu na anionske skupine indikatora, pomiču konstantnu ravnoteže prema ioniziranom obliku indikatora što dovodi do promjene boje. Osjetljivost testne trake je od otprilike 300 mg proteina u 24-satnom urinu, stoga se njome ne može otkriti mikroalbuminurija. Također, najviše je osjetljiva na albumin pa se njome ne mogu dokazati tubularne i paraproteinurije. Za bubrežnu patologiju veliki značaj predstavljaju nalaz mikro ili makrohaturije i proteinurije (Krishnan i Levin, 2019; Štraus i Čvorišćec, 2009).

Mikroskopski pregled mokraćnog sedimenta posljednji je korak kvalitativne analize mokraće. Vrlo je važna dijagnostička pretraga kojom se mogu dokazati prisustvo tvari i stanica koje



makroskopski nije vidljivo – različite vrste cilindara, epitelne stanice, leukociti i eritrociti, kristali, bakterije, gljivice i paraziti.. Prisutnost ovih parametara može ukazati na bubrežnu primarnu patologiju, tumore i kamence unutar mokraćnog sustava, infekcije urogenitalnog sustava i slično (Krishnan i Levin, 2019).

Kvantitativna analiza urina zahtijeva različitu vrstu uzorka urina od uzorka za kvalitativne pretrage. Najčešće je uzorak izbora 24-satni urin, ali za neke pretrage se može koristiti i prvi jutarnji urin. U njemu se mogu određivati kreatinin, ureja, elektroliti i proteini. Važan podatak su koncentracije ukupnih proteina, albumina, mikroalbumina i kreatinina. Danas se preporuča računanje omjera koncentracija albumina i kreatinina (ACR) ili ukupnih proteina i kreatinina (PCR) kao specifičniji i osjetljiviji pokazatelj bubrežne patologije, kojima se korigira utjecaj koncentracije urina na određivanje koncentracije proteina i smanjuju intraindividualni i brojni drugi mogući interferirajući faktori. Zbog problematike vezane oko skupljanja 24-satnog urina, za računanje ovih omjera mogu se koristiti i „random“ uzorci urina, ali preporuča se korištenje prvog jutarnjeg urina – što je i velika prednost korištenja ovih omjera (Krishnan i Levin, 2019; Štraus i Čvorišec, 2009). Prednost leži i u tome što se neke bubrežne bolesti, primjerice, dijabetička nefropatija, mogu u svojoj ranoj fazi uspješno i točno detektirati uz ACR (Liu i sur., 2019).

Laboratorijske pretrage najčešće nisu dovoljne za postavljanje konačne dijagnozu, ali su važne u cjeloukupnoj kliničkoj obradi pacijenta. Mogu ukazati na rana patološka zbivanja unutar bubrega. Patološka stanja koja indiciraju pretrage u laboratoriju su: akutno bubrežno zatajenje, kronične bubrežne bolesti, mokraćni/bubrežni kamenci, sistemska stanja koja dovode do sekundarnih bubrežnih bolesti, upalne bolesti poput akutnog glomerulonefritisa, nefrotički sindrom (Štraus i Čvorišec, 2009).

### **1.2.1. UZORAK URINA – VRSTE UZORAKA I PREDANALITIČKI ČIMBENICI KOJI UTJEČU NA ANALIZU URINA**

Budući da stupanj izlučivanja proteina tijekom dana varira, važno je kada se i koji uzorak uzima (Floege i Feehally, 2018). Uzorak urina skuplja se u za to posebne spremnike, odnosno suhe posude jednokratne namjene koje moraju biti sterilne. Ovisno o vrsti pretrage koja je zadana za određenog pacijenta, mogu se izvoditi kvalitativne ili kvantitativne pretrage. Posljedično,

razlikuje se i vrsta uzorka urina koja se od pacijenta zahtijeva. Za kvalitativne pretrage (fizikalni i kemijski pregled mokraće) preporučen je srednji mlaz prvog jutarnjeg urina, nakon osmosatnog odmora preko noći. Potreban je minimalni vremenski razmak u roku od 4 sata od zadnjeg pražnjenja mjehura (Janković i sur., ured., 2018). Zbog toga će ovakav uzorak biti najpogodniji za većinu kvalitativnih analiza – u najvećoj koncentraciji sadrži sve sastojke mokraće koji mogu biti analiti (Ilić i Lalić, 2005).

Drugi jutarnji urin je uzorak izbora čest kod ambulantnih pacijenata, a koji je skupljen u periodu od 2 do 4 sata nakon prvog jutarnjeg urina. Na kvalitetu uzorka mogu utjecati egzogeni faktori poput prehrane (Ilić i Lalić, 2005).

Slučajni ili “random” uzorak urina je vrsta uzorka koja ne zahtijeva u kojem vremenskom periodu se sakuplja urin, koliki će biti volumen skupljenog urina te pripremu pacijenta u vidu gladovanja ili informiranja kako se uzorak urina pravilno skuplja (Ilić i Lalić, 2005.). Ovakav uzorak ne bi trebao biti stariji od 30 minuta, a koristi se dokazivanje staničnih elemenata. Može se koristiti u akutnim ili hitnim stanjima (Janković i sur., ured., 2018).

Uzorci urina za kvantitativne pretrage, primjerice određivanje proteinurije u 24-satnom urinu, zahtijeva točno određeni vremenski period i volumen sakupljene mokraće. Najčešće se skupljanje 24-satnog urina započinje bacanjem prvog jutarnjeg urina, a zatim se skuplja urin u razmaku od 24 sata zaključno s prvim jutarnjim urinom sljedećeg dana. Koristi se poseban spremnik za mokraću koji sadrži konzervanse. Osim 24-satnog, mogu se upotrijebiti i 4- ili 12-satni urin, ovisno o traženoj pretrazi (Štraus i Čvorišec, 2009).

### **1.2.2. PROTEINURIJA**

Mokraća zdravih osoba sadrži, ovisno o metodi određivanja, oko 0,05 – 0,15 g/24 satnom urinu. Proteinurija je povećana koncentracija proteina u urinu koja se očituje obojenjem test trake te koncentracijom većom od 150 mg proteina u 24-satnom urinu. Proteini koji se fiziološki izlučuju mokraćom su proteini male molekularne mase (retinol-vezujući protein, beta-2-mikroglobulin), albumin u količinama do 30 mg, Tamm-Horsfallov protein i ostali. Tamm-Horsfallov protein je mukoprotein kojeg luče tubuli bubrega. Najveću frakciju zauzima albumin, koji ima brojne uloge u tijelu i najznačajniji je protein. Što je veća proteinurija, veća je i albuminurija jer se gubitak

proteina prvenstveno povezuje s gubitkom albumina. Prema KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) smjernicama, ovisno o količini albumina i proteina koji se luče u dnevnom urinu, razlikuju se tri stanja bubrežnog oboljenja. Normalna do blago povećana proteinurija podrazumijeva količinu albumina u 24-h urinu manju od 30 mg, a ukupnih proteina manju od 150 mg. U umjereno pojačanoj proteinuriji luči se od 30-300 mg albumina, odnosno 150-500 mg ukupnih proteina. Teška ili masivna proteinurija označava količine albumina i ukupnih proteina veće od 300, odnosno 500 mg. Osim albumina, proteini koji se mogu pojačano izlučivati mokraćom su Bence-Jones proteini, fibrinogen, globulini, hemoglobin, mioglobin i drugi. Razina albumina do 300 mg u mokraći naziva se mikroalbuminurijom. Jedan je od mogućih ranijih simptoma bubrežnih bolesti, ali se običnim test trakama ne može detektirati. Zbog toga se koriste posebne imunokromatografske testne trake (Krishnan i Levin, 2019).

#### **1.2.2.1. VRSTE PROTEINURIJA**

Postoji više vrsta proteinurija. Prema uzroku dijele se na organske proteinurije, paraproteinurije i funkcionalne proteinurije. Organske proteinurije prema mjestu nastanka dijele se na predbubrežne, bubrežne i poslije bubrežne. Predbubrežna proteinurija je sekundarna pojava sistemnih patoloških stanja poput hipertenzije, odnosno poremećaja kardiovaskularnog sustava ili te bolesti jetre. Poslijebubrežna proteinurija je pojava proteina u mokraći zbog patoloških događanja u mjehuru ili ostatku mokraćnog sustava (Štraus i Čvorišćec, 2009).

Na razini nefrona mogu biti glomerularne ili tubularne, a najčešće se radi o glomerularnom oštećenju - što se posljedično može očitovati na razini patohistološke analize (Guyton i Hall, 2012). Tubularne proteinurije česta su komplikacija u pacijenata s transplatanim bubregom ili prilikom infekcija unutar tubularnog sustava (Galešić i sur., ured., 2014).

Glomerularne proteinurije nastaju kao posljedica razaranja glomerula i filtracije proteina velike molekulske mase (albumin, IgG, transferin). S druge strane, tubularne proteinurije karakterizirane su većom koncentracijom proteina male molekulske mase (alfa1-mikroglobulin, beta2-mikroglobulin, NAG). Glomerularna funkcija je očuvana, kroz GBM propuštaju se proteini male molekulske mase, ali zbog tubularno-intersticijskog oštećenja ti se proteini u tubulima ne reapsorbiraju kao što se to fiziološki događa (Berne i Levy, 1996).

Paraproteinurija, “overflow” ili proteinurija “u suvišku”, je patološka pojava izlučivanja velikih količina proteina zbog njihove “prepunjenosti” u krvotoku, a kao posljedica male molekulske mase se zatim u pojačanoj mjeri filtriraju kroz GBM. Najpoznatiji primjer paraproteinurije je Bence-Jones proteinurija u multiplom mijelomu. Budući da dolazi do proliferacije jednog klona plazma stanice koje pojačano luče lake lance imunoglobulina u krvotok i posljedično u glomerule, oni zbog svoje manje molekulske mase (20-30 kDa) lako filtriraju kroz membranu te detektiraju u urinu. Moguće prisustvo ovakve proteinurije može ukazati negativan nalaz proteina na test trakici koja je dominantno osjetljiva na albumin (Floege i Feehally, 2018; Štraus i Čvorišec, 2009).

Proteinurija ima veliki klinički i dijagnostički značaj. Jedan je od glavnih biljega bubrežnih bolesti te je prognostički biljeg. Dovodi do još veće bubrežne insuficijencije potičući upalne reakcije. Većina bubrežne patologije očituje se proteinurijom, koja je i jedan od najranijih pokazatelja bolesti. Prilikom sumnje na bilo koju vrstu bubrežne bolesti, obavezno je uputiti pacijenta na laboratorijsko ispitivanje proteinurije (Burtis i sur., 2008). Međutim, proteinurija nije strogo vezana uz patološku etiologiju. Odnosno, pojava nekih vrsta proteinurija (benigne proteinurije) ne mora predstavljati kliničku značajnost. Funkcionalna proteinurija nastaje u slučajevima velike fizičke aktivnosti, pojavi vrućice, nakon kirurškog zahvata ili kod trudnica. Prolazna idiopatska proteinurija predstavlja proteinuriju nepoznate etiologije koja je samo akutne naravi. Ortostatska proteinurija česta je kod adolescenata te se pojavljuje samo u uspravnom položaju, a s vremenom nestane (Krishnan i Levin, 2019).

#### **1.2.2.2. KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA PROTEINURIJE**

Proteinurija se u laboratoriju detektira testnim trakicama, a kvantificira određivanjem proteina u 24-satnom urinu. Uzorak za analizu mogu biti i 4-satni ili 12-satni urin.

Mokraća zdravih osoba sadrži do 0,07 g/L proteina, koncentraciju koja se testnom trakom ne detektira. U slučaju proteinurije, zbog veće koncentracije proteina u mokraći pozitivan rezultat očituje se obojenjem test trakice. Proteinurijom se najčešće podrazumijeva povećana koncentracija albumina u mokraći. Metoda dokazivanja zasniva se na proteinskoj grešci indikatora, tetrabromfenol plavilom, koji je najviše osjetljiv na albumin. Vezanjem na anionske

skupine indikatora i mijenjanjem konstante ravnoteže ioniziranog i neioniziranog oblika indikatora, proteini dovode do promjene boje indikatora. Metoda nije osjetljiva za sve vrste proteinurija, poput Bence-Jonesove ili mikroalbuminurije. Proteinurija dokazana testnom trakom treba se potvrditi kvantitativnom metodom određivanja u 24-satnom urinu (Floege i Feehally, 2018; Janković i sur., ured., 2004).

Proteinurija i vrste proteinurije mogu se dokazati i elektroforezom urina, primjerice zonskom SDS-elektroforezom na agarozu iz 24-satnog urina. Proteini putuju električnim poljem te će se razdvojiti ovisno o molekularnoj masi. Molekule manje molekularne mase putuju brže. Koristeći kontrolni uzorak, koji sadrži proteine male molekulske mase te najznačajnije proteine velike molekulske mase (albumin, transferin, imunoglobulini), uspoređuju se vrpce dobivene elektroforezom urina pacijenta. Ovisno o detektiranom proteinu, može se zaključiti radi li se o tubularnoj ili glomerularnoj proteinuriji. Ukoliko vrpce nisu prisutne, to može uputiti na benignu ili fiziološku proteinuriju (Ciapini, 2010).

Kvantitativno se mogu određivati pojedinačni proteini poput albumina ili ukupni proteini. Iako neke smjernice preporučuju određivanje albumina, postoje brojni slučajevi poput paraproteinurije ili tubularnih proteinurija u kojima albumin nije dominantni protein koji se gubi mokraćom. U slučaju glomerularnih oštećenja i povećane propusnosti GBM, osjetljivije su i specifičnije metode koje određuju albumin. Ipak, i metode za određivanje ukupnih proteina najviše su osjetljive na albumin. Zbog toga će se u slučaju sumnje na tubularno oštećenje ili pojavu nekih drugih proteina osim albumina u mokraći koristiti imunokemijske metode za određivanje točno tih proteina. Imunokemijske metode, poput nefelometrije i turbidimetrije, i HPLC se također mogu koristiti za određivanje i albumina, kao i bilo kojeg tipa pojedinačnog proteina. Upravo su imunokemijske tehnike najčešće metode izbora za određivanje albuminurije ili proteinurije (Krishnan i Levin, 2019; Benz de Bretagne i sur., 2018).

Osim imunokemijskih tehnika, mogu se koristiti kemijske metode poput Kjeldahlove metode, spektrofotometrijske metode i metode koje vežu boje. Kjeldahlova metoda je točna, ali zastarjela metoda u kojoj se mjeri proteinski dušik s pretpostavkom da proteini imaju 16 posto dušika. Metoda je dugotrajna i zahtijeva korištenje brojnih, potencijalno opasnih kemikalija poput koncentrirane sulfatne kiseline, natrijevog hidroksida i drugih. Ukupni proteini u mokraći mogu

se odrediti i na denzitometru nakon taloženja s trikloroocetnom ili sulfosalicilnom kiselinom, princip na kojem se temelje turbidimetrijske metode. Boje koje se mogu koristiti za vezanje na proteine su Comassie Brilliant Blue, Ponceau i pirogalol crveni. Sve su ove metode manje osjetljive na tubularne proteine, a najviše osjetljive na albumin. Limit detekcije ovih metoda je od 50 do 100 mg/L (Krishnan i Levin, 2019; Lamb i sur., 2009; Štraus i Čvorišćec, 2009).

### **1.2.2.3. IMUNOKEMIJSKE METODE ZA ODREĐIVANJE PROTEINA – NEFELOMETRIJA**

Imunokemijske reakcije se zasnivaju na reakciji antigena i protutijela. Jednostavne su i osjetljive metode te vrlo praktične za rutinsku upotrebu u kliničkim laboratorijima. U slučaju određivanja proteina u urinu, protein koji se određuje će biti antigen, a kao reagens će se koristiti protutijelo koje se veže za epitop, tj. vezno mjesto tog proteina. Brojne su imunokemijske metode danas u upotrebi u kliničkim laboratorijima, a mogu se podijeliti u dvije skupine. Izravne ili direktne, poput imunonefelometrije i imunoturbidimetrije, mjere antigen na temelju reakcije s primarnim antitijelom i ne zahtijevaju uporabu molekula poput enzima ili fluorokroma pomoću kojih će se naknadno detektirati. Posredne, indirektne ili obilježene metode odvijaju se u dva koraka. Nakon primarne reakcije antigena koji se određuje i protutijela za taj antigen, odvija se i sekundarna ili indikatorska reakcija pomoću koje analizator zatim skuplja i obrađuje podatke. Primjerice, detekcijsko protutijelo sadrži fluorokrom koji nakon reakcije s primarnim protutijelom uzrokuje pojavu fluorescencije koju analizator registrira. Danas se rjeđe koriste u rutini za određivanje proteinurije, poput radioimunokemijske RIA metode. (Štraus i Čvorišćec, 2009).

Imunonefelometrija i imunoturbidimetrija su spektrofotometrijske imunokemijske metode. Nefelometrija određuje koncentraciju antigena, primjerice albumina, na temelju rasapa zrake svjetlosti nakon što naiđe na kompleks antigen – protutijelo. S druge strane, turbidimetrija se temelji na analizi apsorpcije zrake svjetlosti prouzrokovane tvorbom kompleksa Ag-At. . Intenzitet rasapa ili apsorpcije svjetlosti proporcionalan je koncentraciji proteina u uzorku urina. Imunonefelometrija je osjetljivija reakcija od imunoturbidimetrije. Osjetljivost metode ovisit će i o osjetljivosti protutijela koje se koristi kao reagens i analizatoru koji se koristi. Studije pokazuju različite limite detekcije za ove metode Limit detekcije za imunoturbidimetriju može biti 5 mg/L, što dokazuje da su imunokemijske metode značajno osjetljivije od ostalih metoda za mjerenje

proteina u urinu, turbidimetrijskih ili metoda s korištenjem boja (Paloheimo i sur., 1987). Općenito, granica detekcije nefelometrije za serumske proteine je od 0,1 do 10 mg/L, a za proteine u mokraći i niža (Štraus i Čvorišćec, 2009).

Suprotno od određivanja serumskih proteina, za određivanje proteina u urinu ne postoji referentni mjerni postupak niti standardni materijal prema kojemu bi se ostale metode normalizirale i standardizirale. Problem, osim brojnih proteina koji mogu uzrokovati proteinuriju predstavljaju i različiti oblici molekula proteina koji mogu biti prisutni, posebice albumina i globulina. Osim albumina koji se detektira imunokemijskim metodama, postoje i varijante molekula albumina koje nemaju vezna mjesta za protutijela korištena kao reagensi, fragmenti molekula albumina nastali proteolizom u tubulima bubrega te ostali oblici molekula albumina koje su podlijegle mogućim posttranslacijskim modifikacijama (Speeckaert i sur., 2011; Štraus i Čvorišćec, 2009). Isto tako, prilikom skladištenja i liofiliziranja uzorka može doći do fragmentacije ili polimerizacije molekule albumina. Za razliku od imunokemijskih metoda, HPLC mjeri i oblik albumina koji nema vezno mjesto za određeno protutijelo pa se ne može detektirati imunokemijskim metodama (Krishnan i Levin, 2019; Lamb i sur., 2009). U mnogobrojnim slučajevima u praksi i istraživanjima niže vrijednosti albumina, u mikroalbuminuriji i albuminuriji, su detektirane s HPLC-om nego imunonefelometrijom (Markó i sur., 2008; Owen i Roberts, 2005). Nedostatak SE HPLC-a, koji razdvaja molekule proteina po veličini, je manjkava specifičnost u slučajevima razlikovanja albumina od globulina ili nekih proteina slične veličine (Krishnan i Levin, 2019).

Budući da sve metode za određivanje proteinurije pokazuju nedostatke u slučajevima osjetljivosti i specifičnosti, usporedba među laboratorijima i kontrola metoda su ključan korak u dobivanju točnih i pouzdanih rezultata za određivanje proteina u urinu. Isto tako, ne postoji značajna korelacija u rezultatima između metoda – zbog toga je vrlo važno da se albuminurija/proteinurija u pacijenta kroz vrijeme prati istom metodom (Krishnan i Levin, 2019; Boutten i Delatour, 2018).

### **1.3.BIOPSIIJA BUBREGA**

Perkutana biopsija invazivan je dijagnostički postupak u kojemu se pacijentu najčešće iglom izvadi komadić tkiva bubrega. Uzorak bubrega zatim podliježe histološkoj analizi, a u svrhu postavljanja dijagnoze na temelju promatranja bubrežnog parenhima. Postupku biopsije prethodi opsežna priprema pacijenta za taj pregled. Nakon hospitalizacije pacijenta, obvezno je provesti laboratorijsku pretragu koja uključuje KKS, PV, INR, urin, urinokulturu te uputiti pacijenta zbog čega se provodi biopsija te koje su njene prednosti i mane. Produljeni PV, APTV ili TV trebaju se korigirati. Pacijent treba biti na tašte i praznog mjehura. Ukoliko bolesnik prima terapiju koja utječe na koagulaciju krvi, primjerice klopidogetrel ili acetilsalicilnu kiselinu, par dana prije izvođenja postupka treba prestati s terapijom.

Postupak izvođenja biopsija traje 20-30 min. Pretežito se bioptira donji lijevi pol bubrega. Pacijent leži na trbuhu, označi se mjesto uboda koje se potom dezinficira i očisti. Nakon što je pacijent primio lokalnu anesteziju, liječnik pomoću ultrazvuka uvodi iglu s kojom se izvadi tkivo. Preporučeno je izvaditi 2 uzorka tkiva bubrežne srži. Nakon što je biopsija završila, bolesnik najmanje 4 sata leži nad kompresijskim jastukom u bočnom položaju. Laboratorijski nalazi, posebice koagulacijske pretrage poput PV i INR, promatraju se tokom 24 sata nakon biopsije. Uz koagulaciju, prate se i prvi urin nakon biopsije i KKS. Pretraga biopsije rijetko sa sobom nosi dodatne komplikacije, čak ni kod imunokompromitiranih. Može biti prisutna mikrohematurija, a rizični čimbenici su ženski spol i mlađa dob (Galešić i sur., ured., 2014).

Indikacije za bubrežnu biopsiju su: nefrotski sindrom, brzoprogresivni nefrotski sindrom, transplattirani bubreg, limfomi ili metastaze u bubregu . Individualna obrada pacijenta je obavezna, a pomoću nje se procjenjuje je li pacijent sposoban za podvrgavanje postupku biopsije. Promatraju se simptomi, znakovi i laboratorijski nalazi. Neka stanja, poput adultne polistocistične bubrežne bolesti, trudnoća i arterijske hipertenzija mogu biti kontraindikacije za biopsiju bubrega (Galešić i sur., ured., 2014).

Osim toga, bubrežna biopsija je vrijedna dijagnostička metoda u razlikovanju malignih od benignih tumorskih masa i diferencijalnoj histološkoj dijagnozi bubrežnih bolesti, s vrlo velikom pouzdanošću (Shannon i sur., 2008).



### **1.3.1. MIKROSKOPSKA ANALIZA BUBREŽNOG HISTOLOŠKOG PREPARATA**

Histološki uzorak tkiva bubrega promatra se na razini svjetlosne, imunofluorescentne i elektronske mikroskopije. Na svjetlosnoj mikroskopiji se definira postoji li patološka promjena glomerula, tubula, intersticija ili krvnih žila, radi li se o poremećaju prisutnom u manjem dijelu materijala (fokalni nalaz) ili difuzno. U glomerulima se također gleda radi li se o zahvaćanju samo manjeg dijela jednog glomerula (segmentalno) ili je promjenom zahvaćen veći dio glomerula (globalno). Važno je odrediti postoji li infiltracija upalnim stanicama, koje su vrste i gdje se sve nalaze. Također je važno vidjeti postoji li odlaganje stranog materijala unutar glomerula ili drugih struktura, prisustvo kristala ili promjena koje ukazuju na infekciju određenim virusima.

U slučaju nalaza patoloških promjena kvantificira se i intenzitet oštećenja odnosno akutnih promjena te stupanj kroničnih promjena.

Imunofluorescentna mikroskopija se koristi za dokaz vezanja imunoglobulina, komplementa i lakih lanaca na strukture bubrega, a ako postoji, opisuje se mjesto vezanja, karakter vezanja (granularni, linearni, mrljasti pozitivitet) i njegova jačina.

Elektronska mikroskopija se koristi za potvrdu preliminarne dijagnoze i preciznije određivanje mjesta vezanja imunih kompleksa, a njome se mogu vidjeti i odlaganja stranog materijala (npr. amiloida). Elektronskom mikroskopijom se mogu otkriti i promjene koje nisu vidljive na svjetlosnoj mikroskopiji kao što je npr izolirano oštećenje podocita (bolest minimalnih promjena). Također se mogu naći i neki infektivni uzročnici (npr. Poliomavirus).

Nakon što je materijal analiziran na sve tri razine, donosi se zaključno mišljenje ili kad je to moguće i precizna dijagnoza.

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

U radu se istražuje učestalost i vrijednosti proteinurije u odraslih pacijenata te povezanost s patohistološkim nalazima i dijagnozom postavljenom u bioptatima nativnih i transplantiranih bubrega.

### 3. MATERIJALI I METODE

U rad su uključeni odrasli pacijenti, kojima je tijekom 2019. (01.01.-31.12.2019.) u KBC Zagreb učinjena biopsija vlastitog (nativnog) ili transplantiranog bubrega. Za analizu su korišteni podaci dobiveni iz bolničkog informacijskog sustava, a uključivali su osnovne kliničke podatke (dob, spol, vrstu materijala), nalaze laboratorijskih pretraga (vrijednosti proteinurije) te nalaz biopsije bubrega.

S obzirom na dob, pacijenti su podijeljeni u 7 skupina: starosti 19-29 godina; 30-39 godina; 40-49 godina; 50-59 godina; 60-69 godina; 70-79 godina te 80 godina i starije.

Prema vrsti materijala radilo se o biopsijama nativnog ili transplantiranog bubrega.

Svi pacijenti uključeni u rad, imali su određenu vrijednost proteinurije u 24 satnom urinu. Uredan nalaz podrazumijevao je vrijednost proteinurije manje od 0,15 g u 24 sata. Blaga proteinurija je definirana kao vrijednost 0,15-1g, umjerena 1-3,5 grama, a značajna veća od 3,5 grama u 24 satnom urinu. Ovisno o kliničkoj prezentaciji, pacijenti s proteinurijom su nadalje podijeljeni u dvije skupine: skupinu gdje je proteinurija bila vodeći simptom i zbog kojeg je učinjena biopsija bubrega te na skupinu gdje je proteinurija bila dodatni simptom.

Biopsije bubrega učinjene su pod kontrolom ultrazvuka, rjeđe pod kontrolom CT-a. Nakon prijema na patologiju svježi uzorci su preliminarno pregledani pod lupom i podijeljeni tako da je za sve tri metode analize (svjetlosna mikroskopija, imunofluorescentna mikroskopija i elektronska mikroskopija) u uzorcima bilo glomerula. Uzorci za svjetlosnu mikroskopiju su fiksirani u formalinu te rutinski procesuirani u histoprocessoru. Nakon procesuiranja, uzorci su uklopljeni u parafin i serijski rezani na više razina. Serijski rezovi su nakon toga bojani različitim metodama: rutinskim bojanjem hematoksilinom i eozinom (HE bojanje), PAS, Mallory trikrom, elastica metodom te Jones srebrnim bojanjem. Obojani preparati su pregledani svjetlosnim mikroskopom te su u uzorcima analizirane promjene svih dijelova bubrežnog parenhima: promjene glomerula, tubula i intersticija i krvnih žila.

Materijal za imunofluorescentnu mikroskopiju je svjež smrznut i od njega su napravljeni smrznuti rezovi koji su obrađeni imunofluorescentnim protutijelima na IgA, IgG, IgM, C3, C1q,

fibrinogen, kappa i lambda lake lance. Pod imunofluorescentnim mikroskopom analizirano je prisustvo vezanja protutijela za strukture bubrega: glomerule, tubule i krvne žile.

Uzorci za elektronsku mikroskopiju fiksirani su u glutaraldehidu, ručno procesuirani tehnikom obrade uzoraka za ultrastrukturnu analizu te uklopljeni u smolu. Iz uzoraka su učinjeni polutanki toluidinski rezovi te kasnije i reprezentativni ultratanki rezovi koji su fiksirani na bakrene mrežice, kontrastirani uranil acetatom i olovnim citratom te analizirani elektronskim mikroskopom na povećanjima od 1000-50000x. Analizirao se izgled struktura glomerula i njihove eventualne abnormalnosti, prisustvo imunih depozita ili odlaganje fibrilarnog materijala. Određena je i debljina glomerularnih bazalnih membrana. Također su analizirani tubuli i intersticij, peritubularne kapilare te dostupne arteriole i manje arterije (Walker, 2009).

S obzirom na analizu na sve tri razine, donesena je konačna dijagnoza odnosno zaključno mišljenje.

Nađeni rezultati su prikazani apsolutnim brojem i postotkom (kvalitativne varijable- spol, vrsta materijala i dijagnoze) odnosno rasponom i medijanom (kvalitativne varijable – dob i razine proteinurije ). Rezultati su prikazani u obliku grafikona i tablica.

## 4. REZULTATI

Provedena je obrada patohistoloških analiza bioptata bubrega koje su učinjene 2019. godine u Kliničkom bolničkom centru Rebro. Kriterij za odabir pacijenata je bila dob/starost iznad 18 godina, kako je i sam naslov uputio da se radilo o bioptatima bubrega odraslih pacijenata.

### 4.1 UKUPAN BROJ BIOPSIJA, RASPODJELA PO SPOLU I VRSTI MATERIJALA

Ukupan broj biopsija bubrega, odnosno ukupan broj uzoraka koji su uključeni u obradu rezultata je 152.

Od 152 uzoraka, 87 je od pacijenata muškog spola (57,24%), a 65 od pacijenata ženskog spola (42,76%). Biopsija bubrega uključivala je obradu 89 materijala nativnih bubrega (58,55%), a 63 (41,44%) materijala transplahiranih bubrega. Tablica 1. prikazuje koliko je nativnih i transplahiranih materijala bubrega od muških pacijenata, a koliko od ženskih pacijenata.

**Tablica 1.** Prikaz broja materijala transplahiranih (Tx) i nativnih (N) bubrega ovisno o spolu pacijenata - muški spol (M) ili ženski spol (Ž).

| VRSTA MATERIJALA | M  | Ž  |
|------------------|----|----|
| Tx               | 41 | 22 |
| N                | 46 | 43 |

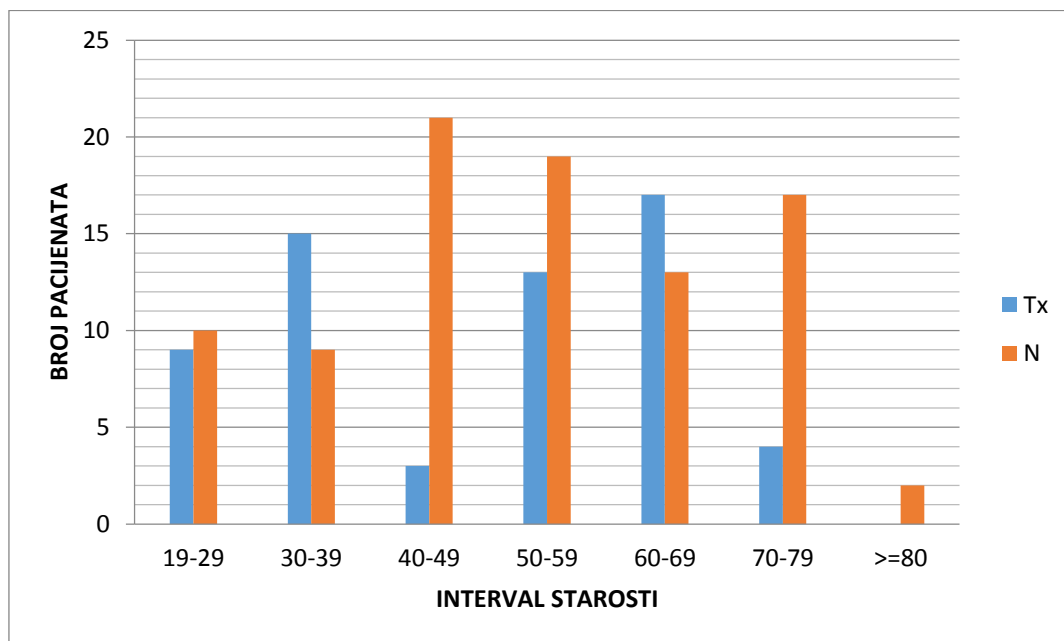
### 4.2 RASPON STAROSTI PACIJENATA, INTERVALI STAROSTI PACIJENATA

Raspon starosti pacijenata je od 19 do 82 godine. Prosječna starost pacijenata je 50 godina. Starosne skupine pacijenata su : 19-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, 70-79 i 80 ili više godina ( $\geq 80$ ). Broj pacijenata unutar određenog intervala starosti prikazan je u tablici 2.

**Tablica 2.** Prikaz intervala starosti i broja pacijenata za određeni interval starosti

| INTERVAL STAROSTI | BROJ PACIJENATA |
|-------------------|-----------------|
| 19-29             | 19              |
| 30-39             | 24              |
| 40-49             | 24              |
| 50-59             | 32              |
| 60-69             | 30              |
| 70-79             | 21              |
| ≥ 80              | 2               |

Na slici 2 može se vidjeti koliko je pacijenata, ovisno imaju li transplatirani bubreg ili ne (materijal nativnog bubrega), unutar određenog intervala starosti.



**Slika 2.** Prikaz intervala starosti za pacijente s biopsijom transplatiranog (Tx) i nativnog (N) bubrega

### 4.3 UKUPAN BROJ PACIJENATA S PROTEINURIJOM UZ RASPODJELU VRIJEDNOSTI PO STAROSNIM INTERVALIMA

Od obrađenih 152 nalaza za pacijente koji su imali biopsiju bubrega, proteinurija je pronađena za 126 pacijenata (Tablica 3). Od toga je u 81 slučajeva proteinurija bila dodatni simptom, a u 45 slučajeva vodeći simptom. 42 puta je proteinurija bila u sva tri ranga – do 1 g, 1-3,5 g i >3,5 g. Minimalna proteinurija je iznosila 0,18 g, a maksimalna proteinurija 18 g. Medijan je 3,34 g.

*Tablica 3 - Prikaz broja proteinurija i vrijednosti proteinurija po starosnim intervalima*

| STAROSNI INTERVAL | PROTEINURIJA | PROTEINURIJA KAO VODEĆI SIMPTOM | PROTEINI < 1 g | PROTEINI 1-4 g | PROTEINI >3,5 g | PROSJEČNA PROTEINURIJA (g) |
|-------------------|--------------|---------------------------------|----------------|----------------|-----------------|----------------------------|
| 19-29             | 15           | 4                               | 7              | 6              | 2               | 1,91                       |
| 30-39             | 19           | 9                               | 7              | 4              | 9               | 3,71                       |
| 40-49             | 21           | 6                               | 6              | 8              | 7               | 3,41                       |
| 50-59             | 27           | 8                               | 9              | 10             | 8               | 3,11                       |
| 60-69             | 27           | 10                              | 11             | 8              | 7               | 2,98                       |
| 70-79             | 15           | 7                               | 2              | 5              | 8               | 4,25                       |
| >=80              | 2            | 1                               | 0              | 1              | 1               | 10,4                       |
| <b>UKUPNO</b>     | <b>126</b>   | <b>45</b>                       | <b>42</b>      | <b>42</b>      | <b>42</b>       |                            |

### 4.4 PATOHISTOLOŠKE DIJAGNOZE BIOPSIJA BUBREGA I UČESTALOST PROTEINURIJE

U tablici 4 nalaze se rezultati biopsije bubrega s učestalošću ponavljanja u ukupno obrađenih 152 bioptata bubrega. Nađeno je 40 različitih dijagnoza, a najučestalije su IgA-nefropatija (14), fokalna segmentalna glomeruloskleroza (13) i akutno tubularno oštećenje (12). Tablica 5 prikazuje učestalost dijagnoza ovisno o vrsti materijala (nativni ili transplantirani). Tablica 6 prikazuje dijagnoze povezane s nalazom proteinurije te vrijednosti proteinurije.

Histološki izgled najčešćih promjena povezanih s proteinurijom prikazan je slikama 3 i 4.

**Tablica 4 - Podjela patohistoloških dijagnoza biopsija bubrega. Dijagnoze koje se pojavljuju u najvećem broju su podebljane.**

| DIJAGNOZA      | BROJ      | DIJAGNOZA          | BROJ      | DIJAGNOZA    | BROJ |
|----------------|-----------|--------------------|-----------|--------------|------|
| AC pijelo      | 1         | <b>FSGS nespec</b> | <b>6</b>  | MGN prim     | 2    |
| ACO            | 16        | <b>FSGS prim</b>   | <b>3</b>  | MGN sek      | 4    |
| ACO i KHO      | 1         | <b>FSGS sek</b>    | <b>4</b>  | MPGN         | 3    |
| ACO i KP       | 1         | IC-GN              | 4         | Nefronoftiza | 1    |
| Alport sy      | 1         | <b>IgAN</b>        | <b>14</b> | nespec PR    | 2    |
| Amyl AA        | 1         | IN                 | 1         | PMN          | 4    |
| Amyl AL        | 3         | KCO                | 1         | postinf GN   | 2    |
| ANCA-GN        | 9         | KHO                | 7         | PVN          | 3    |
| <b>ATO</b>     | <b>12</b> | KHO susp           | 1         | SLE          | 1    |
| ATO i KP blage | 1         | KP                 | 6         | TBM          | 4    |
| BMP            | 5         | KP umj             | 1         | UN           | 1    |
| CNItoxi        | 1         | kriogl             | 1         | AHO          | 2    |
| DDD            | 1         | LCDD               | 1         |              |      |
| DN             | 9         | <b>LN</b>          | <b>12</b> |              |      |

*Legenda: AC pijelo - akutni pijelonefritis; ACO - akutno celularno odbacivanje; ACO i KHO - akutno celularno odbacivanje uz kronično humoralno odbacivanje; ACO i KP – akutno celularno odbacivanje i kronične promjene; Alport sy - Alportov sindrom; ANCA-GN -pauciimuni glomerulonefritis; ATO - akutno tubularno oštećenje; ATO i KP blage - akutno tubularno oštećenje uz blage kronične promjene; BMP - bolest minimalnih promjena; CNI tox – toksičnost kalcineurinskih inhibitora; DDD- bolest gustih depozita; DN - dijabetička nefropatija; FSGS nespec - nespecificirana fokalna segmentalna glomeruloskleroza; FSGS prim - primarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza; FSGS sek - sekundarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza; IC-GN - glomerulonefritis posredovan imunokompleksima; IgAN – IgA nefropatija; IN – intersticijski nefritis; KCO - kronično celularno odbacivanje; KHO - kronično humoralno odbacivanje; KHO - suspektno kronično humoralno odbacivanje; KP - kronične promjene; KP umj - umjerene kronične promjene; kriogl -krioglobulinemija; LCDD - bolest nakupljanja lakih lanaca; LN - lupus nefritis; MGN prim - primarni membranski glomerulonefritis; MGN sek - sekundarni membranski glomerulonefritis; MPGN – membranoproliferativni glomerulonefritis; nespec PR- nespecificne promjene; postinf GN - postinfektivni glomerulonefritis ; PVN – poliomavirus nefropatija; SLE - sistemski eritematozni lupus; TBM - bolest tankih bazalnih membrana; UN - uredan nalaz; AHO - akutno humoralno odbacivanje*



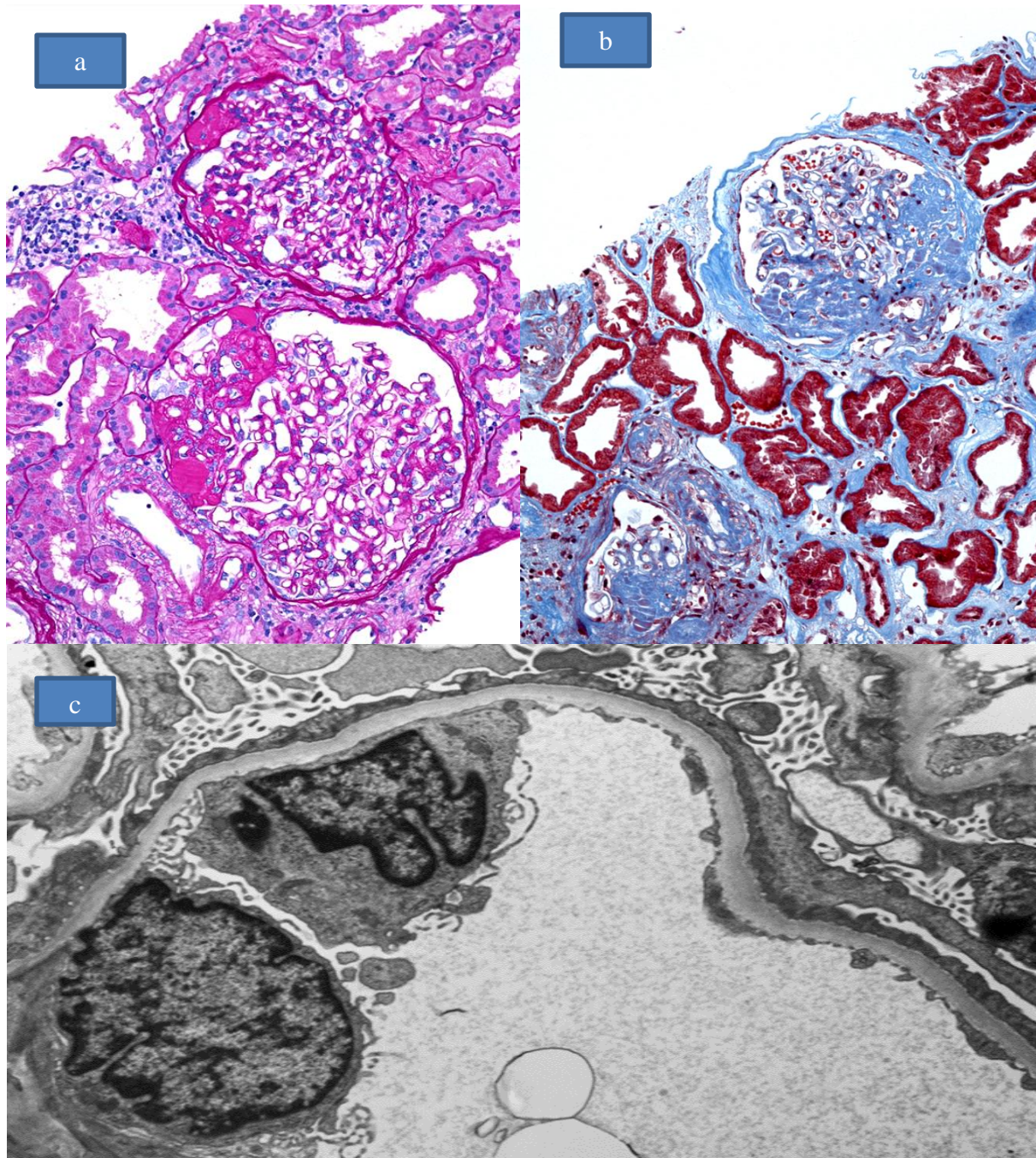
**Tablica 5 – Podjela patohistoloških dijagnoza ovisno o materijelu za biopsiju bubrega – nativni i transplatirani bubreg.**

| DIJAGNOZA      | NATIVNI BUBREG | TRANSPLATIRANI BUBREG | DIJAGNOZA    | NATIVNI BUBREG | TRANSPLATIRANI BUBREG |
|----------------|----------------|-----------------------|--------------|----------------|-----------------------|
| AC pijelo      | 1              | 0                     | KCO          | 0              | 1                     |
| ACO            | 0              | 16                    | KHO          | 0              | 7                     |
| ACO i KHO      | 0              | 1                     | KHO susp     | 0              | 1                     |
| ACO i KP       | 0              | 1                     | KP           | 2              | 4                     |
| Alport sy      | 1              | 0                     | KP umj       | 1              | 0                     |
| Amyl AA        | 1              | 0                     | kriogl       | 1              | 0                     |
| Amyl AL        | 3              | 0                     | LCDD         | 1              | 0                     |
| ANCA-GN        | 9              | 0                     | LN           | 11             | 1                     |
| ATO            | 0              | 12                    | MGN prim     | 2              | 0                     |
| ATO i KP blage | 0              | 1                     | MGN sek      | 3              | 1                     |
| BMP            | 5              | 0                     | MPGN         | 3              | 0                     |
| CNItoX         | 0              | 0                     | nefronoftiza | 1              | 0                     |
| DDD            | 1              | 0                     | nespec PR    | 0              | 2                     |
| DN             | 6              | 3                     | PMN          | 4              | 0                     |
| FSGS nespec    | 4              | 2                     | postinf GN   | 2              | 0                     |
| FSGS prim      | 2              | 1                     | PVN          | 0              | 3                     |
| FSGS sek       | 3              | 1                     | SLE          | 0              | 1                     |
| IC-GN          | 3              | 1                     | TBM          | 4              | 0                     |
| IgAN           | 13             | 1                     | UN           | 1              | 0                     |
| IN             | 1              | 0                     | AHO          | 0              | 2                     |

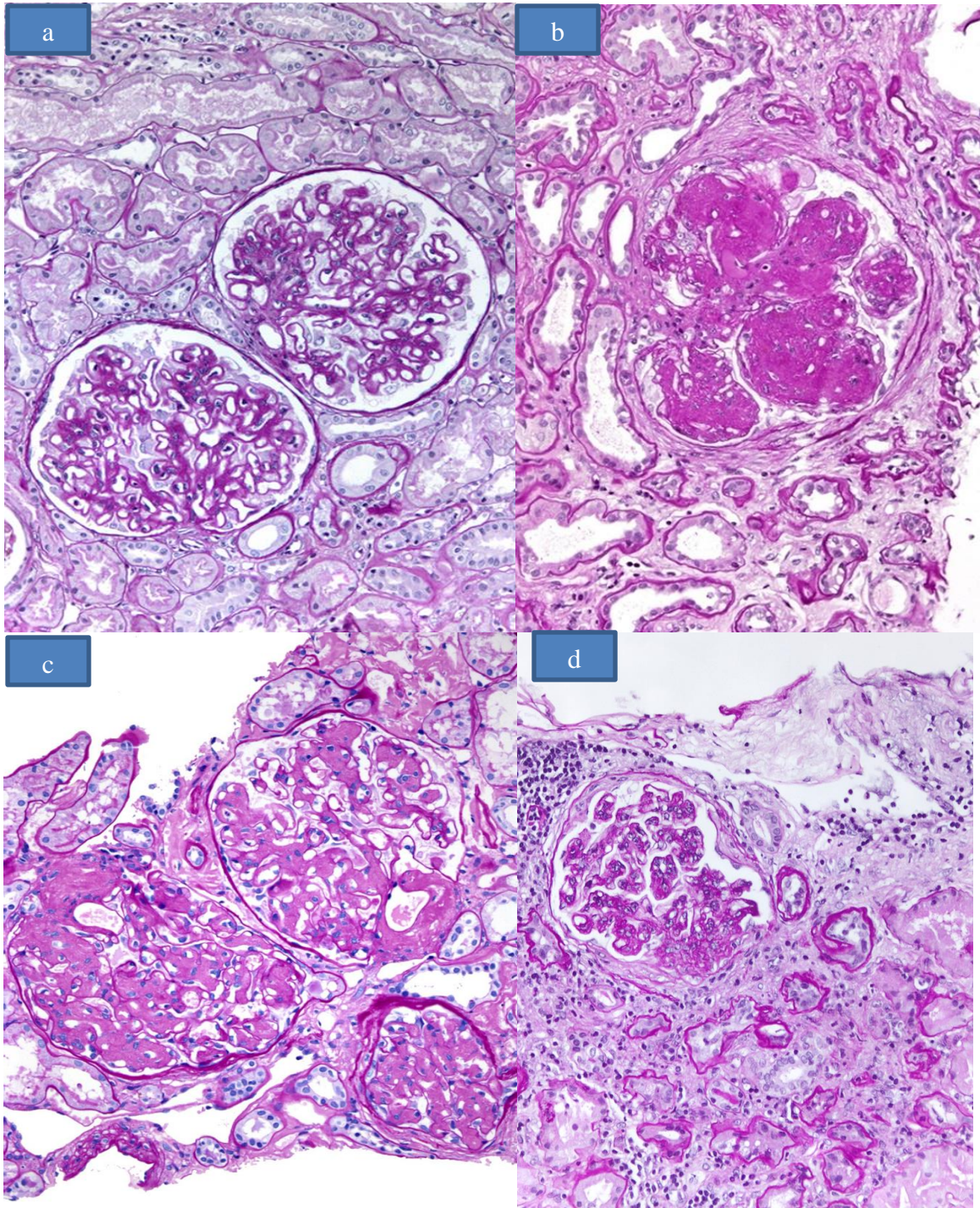
*Legenda: AC pijelo - akutni pijelonefritis; ACO - akutno celularno odbacivanje; ACO i KHO - akutno celularno odbacivanje uz kronično humoralno odbacivanje; ACO i KP – akutno celularno odbacivanje i kronične promjene; Alport sy - Alportov sindrom; ANCA-GN -pauciimuni glomerulonefritis; ATO - akutno tubularno oštećenje; ATO i KP blage - akutno tubularno oštećenje uz blage kronične promjene; BMP - bolest minimalnih promjena; CNI tox – toksičnost kalcineurinskih inhibitora; DDD- bolest gustih depozita; DN - dijabetička nefropatija; FSGS nespec - nespecificirana fokalna segmentalna glomeruloskleroza; FSGS prim - primarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza; FSGS sek - sekundarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza; IC-GN - glomerulonefritis posredovan imunokompleksima; IgAN – IgA nefropatija; IN – intersticijski nefritis; KCO - kronično celularno odbacivanje; KHO - kronično humoralno odbacivanje; KHO - suspektno kronično humoralno odbacivanje; KP - kronične promjene; KP umj - umjerene kronične promjene; kriogl -krioglobulinemija; LCDD - bolest nakupljanja lakih lanaca; LN - lupus nefritis; MGN prim - primarni membranski glomerulonefritis; MGN sek - sekundarni membranski glomerulonefritis; MPGN – membranoproliferativni glomerulonefritis; nespec PR- nespecificirane promjene; postinf GN - postinfektivni glomerulonefritis ; PVN – poliomavirus nefropatija; SLE - sistemski eritematozni lupus; TBM - bolest tankih bazalnih membrana; UN - uredan nalaz; AHO - akutno humoralno odbacivanje*

Tablica 5 – Povezanost patoloških dijagnoza s laboratorijskim nalazom proteinurije

| DIJAGNOZA          | UKUPAN BROJ PATOHISTOLOŠKIH DIJAGNOZA (ukupno – 152) | PROTEINURIJA (ukupno – 126) | PROTEINURIJA KAO VODEĆI SIMPTOM (ukupno – 45) | RANG PROTEINURIJE (g/dU) | PROSJEČNA VRIJEDNOST PROTEINURIJE (g/dU) |
|--------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------|------------------------------------------|
| AC pijelo          | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 1,01                     | 1,01                                     |
| ACO                | 16                                                   | 11                          | 0                                             | 0,30 – 1,5               | 0,67                                     |
| ACO i KHO          | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 0,81                     | 0,81                                     |
| ACO i KP           | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| Alport sy          | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 1,40                     | 1,40                                     |
| Amyl AA            | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 7,82                     | 7,82                                     |
| Amyl AL            | 3                                                    | 3                           | 3                                             | 6,57 – 11,00             | 8,79                                     |
| ANCA-GN            | 9                                                    | 8                           | 0                                             | 0,8 – 2,8                | 1,45                                     |
| ATO                | 12                                                   | 7                           | 0                                             | 0,35 – 1,78              | 0,66                                     |
| ATO i KP blage     | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| <b>BMP</b>         | <b>5</b>                                             | <b>5</b>                    | <b>5</b>                                      | <b>5,06 – 18</b>         | <b>9,39</b>                              |
| CNItoX             | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 1,54                     | 1,54                                     |
| DDD                | 1                                                    | 1                           | 1                                             | 3,00                     | 3,00                                     |
| DN                 | 9                                                    | 9                           | 5                                             | 0,38 – 8,00              | 3,49                                     |
| <b>FSGS nespec</b> | <b>6</b>                                             | <b>6</b>                    | <b>4</b>                                      | <b>0,65 – 14,80</b>      | <b>5,37</b>                              |
| <b>FSGS prim</b>   | <b>3</b>                                             | <b>3</b>                    | <b>2</b>                                      | <b>3,04 – 7,07</b>       | <b>5,24</b>                              |
| <b>FSGS sek</b>    | <b>4</b>                                             | <b>4</b>                    | <b>2</b>                                      | <b>2,40 – 4,85</b>       | <b>3,84</b>                              |
| IC-GN              | 4                                                    | 4                           | 2                                             | 0,86 – 5,20              | 3,01                                     |
| IgAN               | 14                                                   | 12                          | 3                                             | 0,39 – 6,34              | 2,11                                     |
| IN                 | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| KCO                | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 0,65                     | 0,65                                     |
| KHO                | 7                                                    | 6                           | 0                                             | 0,53 – 4,80              | 2,02                                     |
| KHO susp           | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 0,54                     | 0,54                                     |
| KP                 | 6                                                    | 6                           | 1                                             | 0,22 – 6,60              | 2,42                                     |
| KP umj             | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| kriogl             | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 2,4                      | 2,4                                      |
| LCDD               | 1                                                    | 1                           | 1                                             | 4,38                     | 4,38                                     |
| LN                 | 11                                                   | 11                          | 4                                             | 0,18 – 7,65              | 3,68                                     |
| <b>MGN prim</b>    | <b>6</b>                                             | <b>6</b>                    | <b>5</b>                                      | <b>0,89 – 9,84</b>       | <b>6,68</b>                              |
| <b>MGN sek</b>     | <b>4</b>                                             | <b>4</b>                    | <b>3</b>                                      | <b>5,8 – 10,34</b>       | <b>6,55</b>                              |
| MPGN               | 3                                                    | 3                           | 2                                             | 2,25 – 12,3              | 6,95                                     |
| nefronoftiza       | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 1,6                      | 1,26                                     |
| nespec PR          | 2                                                    | 2                           | 0                                             | 0,40 – 0,49              | 0,45                                     |
| postinf GN         | 2                                                    | 1                           | 0                                             | 0,56                     | 0,56                                     |
| PVN                | 3                                                    | 3                           | 1                                             | 0,83 – 5,09              | 2,57                                     |
| SLE                | 1                                                    | 1                           | 0                                             | 0,54                     | 0,54                                     |
| TBM                | 4                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| UN                 | 1                                                    | 0                           | 0                                             | 0                        | 0                                        |
| AHO                | 2                                                    | 1                           | 0                                             | 0,9                      | 0,9                                      |



*Slika 3. Primarna fokalna segmentalna glomeruloskleroza (a) (PAS); sekundarna perihilarna fokalna segmentalna skleroza (b) (Masson trikrom); ultrastrukturni nalaz gubitka nožica podocita koji može biti opsežan u primarnoj ili najčešće djelomičan u sekundarnoj FSGS (c)*



**Slika 4.** Bolesti s proteinurijom nefrotskog ranga: MGN(a); dijabetička nefropatija (b); amiloidoza (c); uznapredovala IgAN sa sklerozirajućim lezijama (d)(PAS)

## 5. RASPRAVA

Ovim istraživanjem promatrana su 152 pacijenta s patohistološkom analizom bioptata bubrega. Gledajući raspodjelu prema spolu, nađeno je više muških pacijenata, njih 87 ili 57,24 %, što se poklapa i s podacima iz epidemiološkog istraživanja provedenog 2013. godine u Hrvatskoj (Horvatić i sur., 2013). Pacijenti muškog spola su zastupljeniji i u kategoriji transplatanog i nativnog bubrega. Gledajući ovo istraživanje, može se postaviti pitanje je li i općenito stopa bubrežnih bolesti veća kod muškaraca nego kod žena. Postoje razna istraživanja koja ispituju utjecaja spola kao rizika za razvoj bubrežnog oboljenja, navodeći brojne socijalne i patofiziološke faktore za koje postoji dokaz ili se pretpostavlja da su različiti kod muškaraca i žena – genetičke predispozicije, spolne hormone, hipertenziju, proteinuriju, kontrolu glikemije, stil i način života i ostale. Primjerice, vezano uz spolne hormone, ističe se zaštitna uloga estrogena te testosteron u kontekstu „oštećivača“. Veći broj muških pacijenata u ovom istraživanju mogao bi biti utjecaj i stila života i navika koje su često „nezdraviji“ nego kod žena.

Podjela pacijenata po dobi, odnosno starosnim intervalima, pokazuje da je najveći broj njih u intervalu 50-59 godina (32 pacijenta) i 60-69 (30 pacijenta), a i prosječna starost pacijenata je 50 godina. Navedeno se poklapa s podacima iz drugih istraživanja, gdje je prosječna dob bila 48 i 49 godina (Attari i sur., 2019; Horvatić i sur., 2013). S obzirom da bubrežna struktura i funkcija oslabljuje to više što je veća starost, za očekivati je i bilo da će i bubrežna biopsija biti češća kod starijih pacijenata. Budući da je u istraživanju bubrežno oštećenje često bilo sekundarne prirode, primjerice dijabetes koji postupno dovodi do dijabetičke nefropatije, to može biti jedan od razloga što je veći broj starijih pacijenata kojima je biopsija bubrega indicirana. Starije osobe često imaju brojne komorbiditete, sistemska oštećenja i bolesti koje onda oštećuju i bubreg, uz to što se jednostavno bubreg sa starenjem manje sposoban boriti s takvim promjenama. Međutim, brojna istraživanja i literatura pokazuju da je koindicencija bubrežnih bolesti, posebice primarnih, slična i kod mladih i kod starijih pacijenata (www.kidney.org, pristupljeno 27.8.2020.). To je pokazano i u ovom istraživanju, gdje je čak 19 pacijenata unutar 19-29 starosnog intervala, što i nije toliko velika razlika od 32 (50-59 interval starosti) i 30 (60-69 interval starosti). Broj pacijenata je također velik i u kategoriji od 30 do 39 i 40 do 49 godina, čak njih 24. U obzir treba svakako uzeti da postoje i razni rizični čimbenici za svakog pacijenta te

brojne dijagnoze u ovom istraživanju, zbog čega je podjela po godinama varijabilna i ne pokazuje značajno velike razlike. Neke dijagnoze se vežu uz mlađu populaciju, a neke češće uz stariju populaciju.

Gledajući razdiobu biopsija nativnog i transplatiranog bubrega po intervalima starosti, primjećuje se da navedene kategorije nisu usko povezane. Unutar intervala starosti 30-39, veća je zastupljenost pacijenata s transplatiranim bubregom, a unutar kategorije od 19 do 29 godina je samo jedan manje pacijent s transplatiranim bubregom. Transplatacija bubrega je često indicirana kod završnih faza zatajenja bubrega, što potvrđuje činjenicu da su bubrežna oboljenja u velikoj mjeri zastupljena i kod mlađih odraslih osoba. 2014. godine u Sjedinjenim Američkim Državama profil primatelja transplantata bubrega bio je takav da je najviše pacijenata bilo zastupljeno u kategoriji od 35 do 49 (1590 pacijenata) i 50 do 64 godina (1913 pacijenata). U kategoriji 65 i više godine bilo ih je znatno manje (753 pacijenta) ([www.kidney.org](http://www.kidney.org), pristupljeno 28.8.2020.).

Za svih 152 pacijenata pronađeni su laboratorijski nalazi kako bi se ustvrdilo je li pacijent imao proteinuriju. 126 pacijenata (82,89 %) je imalo proteinuriju, odnosno količinu proteina u dnevnom urinu veću od 150 mg ili 0,15 g, a 26 pacijenata (17,11 %) nije. Proteinurija se smatra jednim od najvažnijih pokazatelja progresije oštećenja bubrega te jednim od najznačajnijih laboratorijskih pokazatelja koji će indicirati biopsiju bubrega (Galešić i sur., ured., 2014). To je dokazano i u ovom istraživanju, s obzirom da je velika većina pacijenata imala proteinuriju. Proteinurija nefrotskih razmjera (veća od 4 g u dnevnom urinu) pronađena je kod 42 pacijenta, a ista brojka pacijenata je imala i blagu (do 1 g u dnevnom urinu) te umjerenu proteinuriju (od 1 do 4 g u dnevnom urinu). Studija iz 2013. godine u Hrvatskoj je zaključila da je proteinurija nefrotskih razmjera bila u 40,3 % indikacija za bubrežnu biopsiju, što je nešto više nego što je ovaj rad pokazao (27,6 %) (Horvatić i sur., 2013). Podjednaka raspodjela po navedenim kategorijama u ovom radu mogla bi se prepisati sljedećim pretpostavkama: da je određeni broj pacijenata pod terapijom pa nemaju svi pacijenti masivne proteinurije, u nekim slučajevima se radilo o blažim akutnim oštećenjima koja rezultiraju blažim proteinurijama ili to što nije u svim slučajevima proteinurija bila indikacija za biopsiju. Primjerice, kod transplatiranih pacijenata kod kojih je svrha biopsije provjeriti ima li znakova akutnog ili kroničnog odbacivanja, odnosno općenito to što je transplatacija sama po sebi rizični postupak te zahtijeva redovite kontrole i

godinama nakon trasnplatacije. Navedena studija iz 2013. godine u obzir je uzimala samo native bubrege. Kao što je vidljivo iz tablice 6., akutno celularno odbacivanje koje se veže isključivo uz materijal transplatiranog bubrega, pokazalo je niže razine proteinurije s prosječnom proteinurijom od 0,67 grama u dnevnom urinu pa su zbog toga proteinurije nefrotskih razmjera u manjem broju slučajeva prisutne nego u drugim studijama koje često uključuju samo native bubrege.

To se može povezati i s podatkom da je proteinurija bila vodeći simptom u 45 slučajeva (35,71 %), a dodatni simptom kod 81 pacijenata (64,29 %). Odnosno, kod 81 pacijenata je porast koncentracije serumskog kreatinina bio vodeći simptom - vodeći pokazatelj oštećenja bubrega, a proteinurija u manjem broju slučajeva pa su i razine proteina u urinu kod velikog broja slučajeva blaže ili umjerene. Kako će biti opisano u daljnjem tijeku rasprave, za određene bolesti za koje se očekuju masivne proteinurije, to će se pokazati i u ovom istraživanju.

Prosječna proteinurija je bila 3,34 g. Pogleda li se statistika vrijednosti proteinurije gledajući starost pacijenta, slične vrijednosti su prisutne u svim kategorijama. Osim kod dva pacijenta starijih od 80 godina kojima je prosječna vrijednost 10,4 g u dnevnom urinu, što je i očekivano s obzirom na starost i eventualne komorbiditete koji mogu biti prisutni. Iz ovih podataka može se zaključiti da proteinurija nije usko povezana s dobi pacijenta, nego razinom oštećenja bubrega. Navedeno se poklapa i s podacima iz literature, koja primjerice za lupus nefritis tvrdi da se vrlo često javlja kod mlađih bolesnika i onih srednje životne dobi, a rijetko kod pacijenata starije populacije (Damjanov i sur., ured., 2014).

Najčešća dijagnoza na temelju patohistološke analize bioptata bubrega bila je IgA-nefropatija (14), iza koje slijede fokalna segmentalna glomeruloskleroza (13) te akutno tubularno oštećenje i lupus nefritis s po 12 slučajeva. Epidemiološka studija iz 2013. godine pokazala da je upravo IgA-nefropatija bila najčešća dijagnoza, u 19 % slučajeva. U ovom radu je ova bolest zauzimala 9%, s obzirom da se radilo o puno manjem broju uzoraka. Isto tako je iza IgA-nefropatije slijedila fokalna segmentala glomeruloskleroza, što se poklapa s ovim istraživanjem (Horvatić i sur., 2013). Iako je studija iz 2013. godine bila rađena samo na nativnim bubrežima, može se povezati s ovim radom jer je IgA-nefropatija (vidljivo iz Tablice 5.) u 92,86 % slučajeva povezana s nativnim bubregom, a FSGS u 69 %. Prema literaturi, IgA-nefropatija je najraširenija glomerulopatija u svijetu (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). Podaci iz

ovog rada također se poklapaju i s epidemiološkom studijom iz Poljske iz 2017. godine koja je također našla IgA-nefropatiju i FSGS kao najčešće dijagnoze za materijale nativnih bubrega (Perkowska-Ptasinska i sur., 2017). Iza njih, kao i u studiji iz 2013. godine, je bio membranski glomerulonefritis (MGN), koji je u ovom radu bio u 6 slučajeva od ukupnih 152. Iako je pojavnost bila nešto manja nego u navedenim studijama, iza Tablice 6. ovog rada vidljivo je da membranski glomerulonefritis, uz bolest minimalnih promjena, uzrokuje najveće prosječne proteinurije. Prema Galešiću i suradnicima, MGN se ubraja među najčešće dijagnoze – ili kao drugi iza IgA-nefropatije ili do pet najčešćih (Galešić i sur., ured., 2014). Prema Damjanovu i suradnicima, MGN je najčešći uzročnik primarnih glomerularnih ozljeda uz Ig-A nefropatiju i FSGS (Damjanov i sur., ured., 2014).

Promatrajući raspodjelu patohistoloških dijagnozi prema tablici 4., u najvećem broju slučajeva radilo se o glomerularnim bolestima. Osim njih, javljali su se tubularni poremećaji (akutno tubularno oštećenje u 12 slučajeva), razne vrste kroničnih i nespecifičnih promjena (od blagih do umjerenih, često povezane s transplattiranim bubregom), uredan nalaz kod 1 pacijenta te razne vrste odbacivanja transplantata bubrega (akutno celularno, akutno humoralno, kronično celularno i kronično humoralno odbacivanje) koje su sve zajedno pojavile kod 51 pacijenta (33,55 %). S druge strane, glomerularno oštećenje bilo je prisutno kod 101 pacijenata (66, 45 %), odnosno kod 101 pacijenta je bila riječ o glomerularno uzrokovanj proteinuriji.

Glomerularne bolesti se prema patohistološkoj klasifikaciji dijele na upale i neupalne. Neupalne bolesti mogu biti uzrokovane: odlaganjima određenih komponenti (amiloidoza, krioglobulinemija, LCDD), metaboličkim poremećajima (dijabetička nefropatija), genskim abnormalnostima (bolest tankih bazalnih membrana, Alportov sindrom), toksinima (akutni pijelonefritis, poliomavirus nefropatija, postinfekcijski glomerulonefritis) i lijekovima (kalcijneurinski inhibitori). Početni uzrok ovih stanja je dakle neimunološki, ali daljnji tijek bolesti često uzrokuje nefritise, odnosno pojavu imunskih tvari (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). U zagradama su navedene one bolesti koje se pojavljuju u ovom radu, a primjer su određene skupine poremećaja.



U daljnjem tijeku rasprave objasniti će se navedeni primjeri te povezati s podacima dobivenim u Tablici 4, 5 i 6, odnosno utvrđene dijagnoze povezivati s laboratorijskim nalazima proteinurije.

**Amiloidoza** je neupalna glomerularna bolest u kojoj dolazi do oštećenja bubrega zbog nakupljanja abnormalnih proteina, amiloida. Nakupljanje amiloida odvija se u svim dijelovima bubrega pa i u glomerulima, čime se oni oštećuju. U ovom istraživanju kod 3 pacijenata se javio AL oblik amiloidoze u kojima zapravo dolazi do nakupljanja lakih lanaca imunoglobulina uslijed poremećaja plazma stanica ili B-limfocita. S druge strane, kod jednog pacijenta pronađena je dijagnoza AA amiloidoze ili sekundarne amiloidoze u kojoj se zbog razgranje AA amiloida nakuplja njegov prekursor. Prema literaturnim podacima, amiloidoza bubrega uzrokuje proteinurije nefrotskih razmjera, posebice ako su zahvaćeni glomeruli, jer i sama bolest ima dosta progresivan tijek i može dovesti do zatajenja bubrega (Beimler i Zeier, 2014; Damjanov i sur., ured., 2014). To je dokazano ovim istraživanjem u kojemu se u svih 4 slučajeva amiloidoze dokazala proteinurija kod tih pacijenata (Tablica 4). Sve 4 proteinurije su bile proteinurije poprilično velikih razmjera – kod AA amiloidoze 7,82 grama, a kod AL amiloidoze je prosječna proteinurija bila 8,79 grama. Ovoliko velike vrijednosti mogle bi ukazati na kasnije stadije bolesti, u kojima se i očekuju masivne proteinurije (Galešić i sur., ured., 2014).

**Krioglobulinemija** je stanje uzrokovano nakupljanjem krioglobulina, a postoje različite vrste krioglobulinemija koje se vežu uz različita stanja. Krioglobulini su cirkulirajuće tvari u krvi koje prolaskom kroz hladnu kožu ili druge organe se počnu taložiti, odnosno kada se temperatura tijela vrati na oko 37 stupnjeva se razdvajaju. To su cirkulirajući imunokompleksi sastavljeni od monoklonskih ili poliklonskih imunoglobulina, koji su i najčešći krioglobulini pa se ova bolest može svrstati i u kategoriju upalnih/imunosnih bolesti. Uzrokuju sistemske vaskulitise taloženjem u malim krvnim žilama, a u slučaju kada se počnu taložiti u krvnim žilama bubrega mogu uzrokovati glomerulonefritise. U sklopu ovog rada pronađen je jedan pacijent s dijagnozom krioglobulinemije, a uvidom u njegove nalaze utvrđena je umjerena proteinurija od 2,4 grama. To bi moglo odgovarati kliničkoj slici nefritičkog sindroma koji se javlja uslijed upale pa i sama proteinurija nije nefrotskih razmjera, ali je ipak značajna. Brzoprogresivni nefritički sindrom se veže upravo za sistemske vaskulitise, pa tako i za krioglobulinemiju. Međutim, uz krioglobulinemiju se vežu i proteinurije nefrotskog ranga (Karras, 2018; Galešić i sur., ured.,

2014). Budući da je pronađen samo jedan pacijent s krioglobulinemijom, nemoguće je provesti daljnju raspravu jer bi to zahtijevalo dosta veću analizu proteinurija kod ovih pacijenata kako bi se izveli neki veći zaključci.

**LCDD (engl. Light chain deposit disease)** ili bolest nakupljanja/depozita lakih lanaca nastaje uslijed poremećaja plazma stanica ili B-limfocita koje izlučuju velike količine abnormalnih monoklonskih imunoglobulina. Njihovi fragmenti, laki lanci, se zbog povećane koncentracije u krvi počinju nakupljati u brojnim organima, pa tako i u bubrezima čime ih oštećuju. Slično je stanjima poput krioglobulinemije, glomerulonefritisu uzrokovanom imunokompleksima i amiloidozi. Također se javlja često u sklopu multiplog mijeloma. Bubrezi u fiziološkim razmjerima uklanjaju lake lance, no zbog povećane koncentracije u ovom stanju ih bubreg ne može u tolikoj mjeri eliminirati zbog čega se počinju taložiti/odlagati u njima. Dovode do glomerularnih i tubulointersticijskih oštećenja, uzrokujući proteinuriju čiji stupanj ovisi o stupnju oštećenja bubrega. U ovom radu LCDD je pronađen u jednog pacijenta, a iz Tablice 6 vidljivo je da je ova bolest rezultirala masivnom proteinurijom, nefrotskog ranga, od 4,38 grama. Navedeno se poklapa i s podacima iz literature (Darroucih i sur., 2015; Galešić i sur., ured., 2014). U obzir treba uzeti ograničenje ovog rada jer je utvrđen samo jedan pacijent s LCDD, pa detaljnija analiza nije moguća.

**Alportov sindrom i bolest tankih bazalnih membrana (TBM)** su hereditarne glomerulopatije nastale mutacijom gena za alfa-5 (Alportov sindrom) te alfa-3 ili alfa-4 (TBM) lanac kolegena tip IV, koji je jedan od segmenata strukture GBM.

**Alportov sindrom** rezultira nefritičkim sindromom – javlja se nagla hematurija, a proteinurija ovisi o stupnju oštećenja. U ranim stadijima je GBM urednog izgleda, ali napretkom bolesti dolazi do skleroze dijela glomerula zbog čega će i proteinurija biti jačeg stupnja. Stupanj oštećenja bubrega pa i proteinurije će također ovisiti i o obliku bolesti, odnosno mutaciji koja uzrokuje bolest (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). U ovom radu, jedan pacijent je imao dijagnozu Alportovog sindroma, koja je rezultirala umjerenom proteinurijom od 1,40 grama. Navedeno se poklapa s podacima iz literature koja ne povezuje Alportov sindrom s proteinurijama nefrotskih razmjera, a može se samo pretpostaviti da se ne radi o ranom stadiju bolesti. Međutim, za donošenje bilo kakvih drugih zaključaka detaljnu kliničku-patološku analizu

za pacijenta, ali i napraviti istraživanje koje bi uključivalo veći broj pacijenata s Alportovim sindromom.

**Bolest tankih bazalnih membrana (TBM)** je hereditarni poremećaj koji rezultira s GBM smanjene debljine, manje od 200 nm (Damjanov i sur., ured., 2014). Literatura navodi mikrohematuriju i hematuriju kao dominantne simptome te podatak da se kod većine pacijenata održava normalna bubrežna funkcija bez značajnih pokazatelja pogoršanja bolesti, odnosno da je bolest benigne naravi (Hashimoto i sur., 2019; Damjanov i sur., ured., 2014). To se poklapa s podacima dobivenim u ovom radu. Naime, od 4 pacijenata kojima je patohistološkom analizom utvrđen TBM, uvidom u laboratorijske nalaze nije pronađena proteinurija koja se smatra važnim prognostičkim biljegom bubrežne funkcije. Na temelju toga se može pretpostaviti da zaista kod velikog broja pacijenata ne dolazi do progresnije bubrežne funkcije. Ipak, prema Galešiću i suradnicima, postoji dio pacijenata kod kojih postoji opasnost od pogoršanja funkcije bubrega i razvoja kroničnog zatajenja (Galešić i sur., ured., 2014). U ovom radu to nije moguće ustanoviti jer je riječ o malom broju pacijenata kod kojih nije dijagnosticirana proteinurija, a i to bi zahtijevalo opsežnu kliničko-patološku korelaciju.

**Dijabetička nefropatija** javila se u 9 pacijenata (5,92 %), a kod svih tih 9 pacijenata je nađen pozitivan nalaz proteinurije. Proteinurije su varirale od blažeg tipa do onih nefrotskih razmjera (od 0,38 grama do 8,00 grama), a prosječna proteinurija je bila 3,49 grama (Tablica 6). Nastaje u sklopu šećerne bolesti koja s godinama uzrokuje i oštećenje bubrega (dijabetička nefropatija). U početnim stadijima dijabetička nefropatija se očituje mikroalbuminurijom - do 300 mg proteina u urinu (Damjanov i sur., ured., 2014). U ovom radu, analizom nalaza od 9 pacijenata koji su imali dijabetičku nefropatiju, nisu zabilježene takve koncentracije, odnosno sve su bile veće od 0,30 g. Na osnovu vrijednosti proteinurija iz Tablice 6, može se pretpostaviti da je kod ovih pacijenata riječ o kasnijim stadijima dijabetičke nefropatije, u kojih je već prisutno jače oštećenje glomerula. Laboratorijski nalazi proteinurije su iznimno važni u kontroli dijabetičke nefropatije kod pacijenata i indikacija su za biopsiju bubrega. Naime, s godinama dolazi do sve većeg oštećenja bubrega uslijed dijabetesa, što se posljedično očituje i većom proteinurijom (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). Ta činjenica je pokazana i u ovom radu, budući da je najveća proteinurija bila 8,00 grama – što spada u kategoriju masivnih proteinurija, tj. nefrotskog

sindroma. Tako velike vrijednosti mogu se povezati i s mogućnošću loše kontrole dijabetesa koji je doveo do terminalne faze kroničnog bubrežnog zatajenja (Galešić i sur., ured., 2014).

Od vanjskih čimbenika koji su uzrokovali oštećenje bubrega, u ovom radu su detektirani akutni pijelonefritis, postinfekcijski glomerulonefritis i poliomavirus nefropatija. Postinfektivni glomerulonefritis može uzrokovati veliki broj toksina, od kojih i gram-negativne bakterije poput E.coli, Klebsielle i Enterobacter (akutni pijelonefritis) te virusi poput poliomavirusa, a za jednog pacijenta nije bio dostupan podatak o točnoj vrsti infekcije.

**Akutni pijelonefritis** je u ovom radu pronađen kod jednog pacijenta, uz proteinuriju kao dodatni simptom od 1,01 grama, dakle umjerena proteinurija. Kod pacijenta s dijagnozom postinfektivnog glomerulonefritisa, proteinurija je bila još blaža – 0,56 grama. Bakterije aktiviraju upalne procese u bubregu koji rezultiraju nefritičkim sindromom (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). U skladu s tim, za pretpostaviti je da će u kliničkoj slici kod ovih pacijenata naglašenija biti pojava hematurije i hipertenzije, uz blagu proteinuriju – što je i potvrđeno ovim radom u kontekstu blage do umjerene proteinurije

**Polioma ili BK virus nefropatija** je jedna od opasnijih komplikacija uslijed transplatacije bubrega. Budući da transplatacija bubrega zahtijeva korištenje imunosupresiva, osoba je podložnija infekciji kako i ostalim, tako i ovim virusom. Brojne studije ga najčešće povezuju upravo s transplatiranim bubrezima te navode da se javlja u 10 % svih transplatiranih bubrega (Jamboti, 2016). Ovaj rad uključivao je 3 pacijenta s poliomavirus nefropatijom, a kao što je vidljivo iz Tablice 5 sva tri uzorka su bili transplatirani bubrezi. Prema Tablici 6, proteinurije su varirale od blaže do masivne, s prosječnom proteinurijom od 2,57 grama. Iz toga se može pretpostaviti da BK virus može uzrokovati varijabilne proteinurije, ovisno o stupnju oštećenju bubrega i stanju transplatiranog bubrega.

**Upalne glomerulopatije** mogu biti humoralne ili stanične prirode. Glomerulopatije uzrokovane stanicama imunskog sustava su rjeđi uzročnici, kao primjerice u bolesti minimalnih promjena i fokalnoj segmentalnoj glomerulosklerozi. Obje navedene su podocitopatije.

**Bolest minimalnih promjena (BMP)** je patološko stanje u kojemu zbog nestanka nožica podocita dolazi do masivnih proteinurija, dakle prema literaturnim i podacima iz dobivenim iz

studija – očekuju se proteinurije nefrotskih razmjera. Uz ovu bolest se vežu i proteinurije do 40 grama u dnevnom urinu (Fogo i sur., 2015; Damjanov i sur., ured., 2014). Uvidom u Tablicu 6 u ovom radu, uočava se ono što i literatura navodi. Od 5 pacijenata s dijagnozom BMP, svih pet su imali proteinurije i to masivne proteinurije (nefrotski sindrom) – od 5,06 grama do 18 grama s prosječnom proteinurijom od 9,39 grama. U svih 5 slučajeva proteinurija je bila vodeći simptom. Vrijednost od 18 grama ujedno je i maksimalna vrijednost koja se u ovom radu može pronaći. BMP se češće javlja u djece nego u odraslih, s tim da se kod djece nefrotski sindrom u 80 % slučajeva povezuje upravo BMP (Galešić i sur., 2014). Budući da je ovaj rad uzimao u obzir odrasle punoljetne osobe, pojavnost BMP je manja u odnosu na neke druge dijagnoze. Također, iz Tablice 6 vidljivo je da i brojne druge bolesti uzrokuju nefrotski sindrom, poput FSGS, lupus nefritisa i ostalih.

**Fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS)** je neupalna glomerulopatija za koju literatura navodi da joj je incidencija pojavljivanja veća nego prije dvadesetak godina (Galešić i sur., 2014). To se pokazalo točnim i u ovom radu, a pokazano je i na navedenim epidemiološkim studijama iz 2013. i 2017. godine – u svima je FSGS drugi po redu kao najčešća dijagnoza (Perkowska-Ptasinska i sur., 2017; Horvatić i sur., 2013). U ovoj bolesti dolazi do skleroze pojedinih dijelova nekih glomerula, a može biti primarna kao posljedica bubrežne patologije ili sekundarna kao posljedica sistemnih događanja. Primjerice, hipertenzija, HIV infekcija ili pretilost (Damjanov i sur., ured., 2014). Navedeno se slaže i s podacima dobivenim ovim radom, kao što je vidljivo iz tablice 4. Sekundarni FSGS pronađena je u većem broju slučajeva nego primarni FSGS. U obzir svakako treba uzeti i dijagnoze FSGS-a za koje se patohistološkom analizom na bioptatu bubrega nije moglo ustanoviti o kojem obliku FSGS-a se radi (FSGS nespecificirana – FSGS nespec u Tablici 4.). Ova klinička patologija je vrlo često povezana s proteinurijom jer dovodi do difuznog nestanka nožica podocita te odvajanja podocita od bazalne membrane, čime se narušava struktura kompletna GBM te se počinju propuštati proteini. Literaturni navodi pokazuju da se FSGS klinički očituje nefrotskim sindromom (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). U ovom istraživanju je FSGS u 100 % slučajeva uzrokovala proteinurije, prema Tablici 6. Prosječne proteinurije kod nespecificiranog i primarnog oblika FSGS su u nefrotskim razmjerima (5,37 i 5,24 grama), a kod sekundarnog oblika 3,84 grama, što se također može smatrati masivnom proteinurijom s obzirom da je gornja granica

referentnog intervala zdrave populacije 0,15 grama. Druga najveća vrijednost proteinurije od 126 proteinurija, 14,80 grama, pripada upravo nespecificiranom obliku FSGS. Iz Tablice 6 se također može uočiti da primarni oblik FSGS rezultira većim količinama proteina u urinu od sekundarnog oblika, kao što se navodi i u literaturi (Damjanov i sur., ured., 2014). Važno je istaknuti da postoji oblik FSGS koji se naziva hereditarni. U njemu dolazi do mutacije gena za proteine pukotinaste membrane – nefrin, podocin i alfa-aktinin 4. (Galešić i sur., ured., 2014). Budući da se u ovom radu za 6 slučajeva FSGS patohistološkom analizom nije moglo ustanoviti o kojem se obliku radi (nespecificirani FSGS iz Tablice 6), postoji mogućnost da se radi upravo o tom obliku, zbog čega je potrebna daljnja kliničko-patološka korelacija.

Humoralni mehanizam imunosti, prema literaturi, je najčešći uzrok primarnih glomerularnih ozljeda (Galešić i sur., ured., 2014). Kao i u staničnoj imunosti, može se javiti reakciji na antigene vlastitog sustava (autoimunost) ili na strane antigene. Humoralni imunostni odgovor može biti posredovan putem protutijela ili putem protutijela u obliku imunokompleksa. Osim humoralnog i staničnog odgovora imunološkog sustava, uzrok ozljede pa potom i proteinurije može biti i prekomjerna aktivacija komplementa (Damjanov i sur., ured., 2014). U daljnjem tijeku ovog dijela rasprave, obradit će se one bolesti koje se pojavljuju kao jedna od dijagnoza ovog rada.

**IgA-nefropatija (IgAN)** je primjer humoralne imunostne bolesti. Uzrok bolesti je nakupljanje dominantno IgA protutijela i antigena u obliku imunokompleksa unutar glomerula, s tim da se mogu nakupljati i sami IgA bez imunokompleksa (Hassler, 2020). Klinička slika je varijabilna, od akutnog nefritičkog sindroma s hematurijom i blagom proteinurijom, brzoprogresivnim nefritičkim sindromom, do onih s nefrotskim sindromom (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). U ovom radu, od 14 pacijenata s IgAN, 12 pacijenata je imalo proteinuriju – vrijednosti proteinurije kretale su se od 0,39 do 6,34 grama u dnevnom urinu, s prosječnom proteinurijom od 2,11 grama. Dakle, od blažih proteinurija do onih karakterističnih za nefrotski sindrom. U samo 3 slučajeva je proteinurija bila vodeći simptom. Vrijednosti proteina u dnevnom urinu su iznimno važne za IgAN, s obzirom da će o toj vrijednosti ovisiti daljnja terapija te da je proteinurija važan prognostički faktor. Navodi se da je proteinurija veća od 0,5 grama u 24-satnom urinu znak, posebice kod pacijenata kojima je proteinurija u nefrotskim razmjerima,

ozbiljnog bubrežnog oštećenja zahtijevajući redovite kontrole i eventualno promjenu terapije. Optimalna vrijednost proteinurije koja se želi postići terapijom je količina proteina u urinu manja od 0,5 grama (Chen i sur., 2018; Galešić i sur., ured., 2014).

**Membranska nefropatija (MN) ili membranski glomerulonefritis (MGN)** je bolest uzrokovana nakupljanjem imunokompleksa na subepitelnoj strani bazalne membrane, isključivo ili predominantno IgG klase imunoglobulina. Primarni oblik bolesti se javlja usred stvaranja protutijela u glomerulima te je autoimune prirode. Sekundarni oblik se javlja kao popratna pojava neke druge primarne bolesti, primjerice lupusa, povezan uz primjenu određenih lijekova, u sklopu određenih zloćudnih bolesti (karcinom dojke, kolona, hodgkinov limfom, melanom) ili vezan uz infektivne uzročnike (Cai i Hendricks, 2020).

U ovom radu primarna nefropatija je pronađena u 6 pacijenata, a sekundarna kod 4 pacijenata. Prema literaturi, primarni oblik bolesti je uzročnik u 70 do 85 % slučajeva (Galešić i sur., ured., 2014). To je nešto viša brojka nego što je dobivena ovim radom, što se može jednostavno pripisati činjenici da su u 2019. godini biopsijom bili obuhvaćeni povećan broj pacijenata sa stanjima koji uzrokuju sekundarnu membransku nefropatiju. S obzirom na mehanizam uzroka bolesti, očekuju se masivne proteinurije kod pacijenata, odnosno nefrotski sindrom. MGN se smatra 25 %-tnim uzročnikom proteinurija nefrotskih razmjera u odraslih pacijenata (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). Analizom 10 pacijenata koji su imali membransku nefropatiju, primarnog i sekundarnog oblika, u 90% slučajeva su pronađene proteinurije karakteristične za nefrotskim sindrom. Osim jednog slučaja blaže proteinurije od 0,89 grama, u ostalima su se vrijednosti proteinurije kretale od 5,8 do 10,34 grama. Dakle, iz ovog rada se može zaključiti da, osim što se MGN vrlo često pojavljuje kao dijagnoza bubrežne biopsije (10 od 152 slučajeva), u velikom broju slučajeva nefrotskog sindroma radi upravo o MGN. U slučaju dokazanog MGN, potrebna je dodatna klinička i laboratorijska obrada. To je posebno važno kod pacijenata starijih od 50 godina jer su kod njih češći sekundarni oblici, nerijetko vezani sa zloćudnim tumorom.

**Membranoproliferativni glomerulonefritis (MPGN)** može biti uzrokovat imunokompleksima (tip I) ili alternativnim putem aktivacije komplementa (tip II). Tip II se još naziva i bolest gustih depozita (engl. dense deposit disease – DDD). Budući da se često veže uz infekcije i karcinome, stopa MPGN je smanjena zbog napretka dijagnostike i kontrole tih stanja (Damjanov i sur., 2014). U ovom radu pojavljuju se 3 dijagnoze MPGN i 1 dijagnoza DDD, pa se primjećuje da mu je stopa pojavnosti mala s obzirom na ostale dijagnoze. Prema literaturi, polovica pacijenata imat će nefrotski sindrom, nefritički sindrom 20-30 % pacijenata, a asimptomatsku proteinuriju i hematuriju 10-20 % pacijenata (Damjanov i sur., ured., 2014; Galešić i sur., ured., 2014). Navedeni podaci iz literature poklapaju se s podacima u ovom radu, ali isto tako treba uzeti u obzir mali broj pacijenata u ovom radu kojima je dijagnosticiran MPGN. Vrijednosti proteinurija kretale su se između 2,25 i 12,3 grama, odnosno od onih umjerenih karakterističnih za nefritički sindrom do razmjera masivnih proteinurija – 6,95 grama kao prosječna proteinurija.

**Lupus nefritis (LN)** nastaje u sklopu sistemnog eritemskog lupusa, autoimune bolesti često humoralne naravi. Lupus na razini bubrega oštećuje glomerule, tubule i krvne žile bubrega (Damjanov i sur., ured., 2014). Šest je razreda lupus nefritisa pa će i klinička slika u vidu proteinurije varirati jer je i stupanj oštećenja nefrona različit u tim razredima. Dodatno, u slučaju i blaže proteinurije koja bi se povezala s jednim tipom LN, može se zapravo raditi o drugom tipu bolesti (Galešić i sur., ured., 2014). U ovom radu za 11 pacijenata utvrđena je dijagnoza lupus nefritisa, a za jednog je naveden sistemski eritemski lupus kao dijagnoza patohistološke analize. Svih 12 pacijenata imalo je proteinuriju, od toga 4 kao vodeći simptom.. Proteinurija se kao nalaz javila u 100 % bolesnika LN, što je i u skladu s navodima iz literature koji proteinuriju stavljaju kao važan marker ove bolesti i jedan od čimbenika kojima se ocjenjuje aktivnost lupusa (Reyes i sur., 2011).

Vrijednosti proteinurija kretale su se između 0,18 i 7,65 grama, s prosječnom proteinurijom od 3,68 grama. Stoga, iz ove analize može se zaključiti da lupus nefritis može uzrokovati i blaže, ali i proteinurije u rangu nefrotskog sindroma.

Bolest uzrokovana protutijelima, ali koja nisu dio imunokompleksa, je **pauciimuni glomerulonefritis ili ANCA-glomerulonefritis (ANCA-GN)**. U ovoj dijagnozi radi se o citotoksičnim antineutrofilnim citoplazmatskim protutijelima, najčešće IgG tipa. Pauciimuni



glomerulonefritis se najčešće veže upravo uz ANCA-pozitivne dijagnoze pa su u ovom radu ove dvije dijagnoze svrstane u jednu. Jedan je od najčešćih uzroka brzoprogresivnog nefritičkog sindroma ili glomerulonefritisa pa bi se kod pacijenata očekivala slika mikro- ili makrohaturije s blažim proteinurijama nego onima u nefrotskom sindromu (Galešić i sur., ured., 2014). To je potvrđeno u ovom radu. Od 9 pacijenata s ANCA-GN, 8 ih je imalo proteinuriju – između 0,8 i 2,8 grama u dnevnom urinu. Prosječna proteinurija je bila 1,45 grama, nijednom nije bila vodeći simptom. Iz ovog se može zaključiti da su proteinurije blage do umjerene, znatno manje od primjerice bolesti minimalnih promjena za koju je karakterističan nalaz nefrotskog sindroma.

Proteinurija je nađena i u više pacijenata s nalazom kroničnih i nespecifičnih promjena u bioptatima bubrega, a najčešće se radilo o blagim proteinurijama. Tijekom napredovanja oštećenja bubrežnog parenhima bilo koje etiologije, neminovno dolazi do oštećenja glomerula te se stvaraju ožiljci i skleroze (često se spominje i naziv sekundarna FSGS), posljedično i oštećenje filtracijske barijere i podocita što rezultira proteinurijom. Ovakvi su slučajevi česti i kod bolesti s primarnim oštećenjem krvnih žila, tzv, nefroangioskleroze, ali i ostalih oštećenja tubulointercicija upalne i neupalne etiologije. Što su znakovi kroniciteta veći i oštećenje funkcije bubrega izraženije, veća je šansa za pojavu proteinurije koja u uznapredovaloj fazi oštećenja može doseći i razinu nefrotskog ranga.

Biopsija **transplantiranog bubrega** je u analiziranom razdoblju učinjena u 63 slučaja. Iz Tablica 4 i 5 može se vidjeti da se u najvećem broju slučajeva radilo o odbacivanju transplantata – ukupno 29 puta (46,03 %). Nađeno je odbacivanje i humoralnog i celularnog tipa, a najviše puta se ponovilo akutno celularno odbacivanje – 16 puta. U 12 slučajeva radilo se o akutnom tubularnom oštećenju, uz 7 slučajeva proteinurije blagih oblika. Prosječna proteinurija je bila 0,66 grama, što je i očekivano s obzirom da se ne radi o glomerularnom oštećenju za koje se vežu proteinurije većeg stupnja od onih u tubularnom oštećenju. Ipak, i blage proteinurije kod pacijenata s transplantiranim bubregom predstavljaju rizik i obavezna su indikacija za biopsiju bubrega (Galešić i sur., 2014). Od ukupnih 29 slučajeva odbacivanja, u 21 pacijenata (72, 41 %) pronađen je pozitivan laboratorijski nalaz proteinurije.

## 6. ZAKLJUČAK

Proteinurija je jedan od najčešćih znakova oštećenja bubrežne funkcije i u ovom je radu nađena u 83% odraslih pacijenata kojima je učinjena biopsija bubrega.

Proteinurija se može javiti kao simptom oštećenja nativnih, ali i transplantiranih bubrega.

U najvećem broju slučajeva, proteinurije u sklopu oštećenja nativnih bubrega su jačeg intenziteta nego u sklopu oštećenja transplantiranih bubrega.

Najčešće dijagnoze postavljene biopsijom nativnih bubrega povezane sa značajnom proteinurijom nađene u ovom radu bile su fokalna segmentalna glomeruloskleroza, membranska glomerulopatija, dijabetička nefropatija, bolest minimalnih promjena, lupus nefritis, amiloidoza, membranoproliferativni glomerulonefritis te uznapredovala IgA nefropatija.

Proteinurija u transplantiranih pacijenata je bila povezana sa napredovanjem kroničnih promjena i razvojem transplantacijske glomerulopatije i kroničnim humoralnim odbacivanjem.

S obzirom na veliki broj bolesti koje se manifestiraju proteinurijom, klinički i laboratorijski je ponekad teško pretpostaviti točan uzrok oštećenja bubrega. Biopsija bubrega s analizom na sve tri razine (svjetlosna mikroskopija, analiza imunofluorescentnim protutijelima i ultrastrukturna analiza) tada je nužna za dokaz etiologije oštećenja i postavljanje precizne dijagnoze što omogućava izbor najboljeg načina liječenja pacijenata s proteinurijom.

## 7. LITERATURA

Attari H, Cao Y, Elmholdt TR, Zhao Y, Prince MR. A systematic review of 639 patients with biopsy-confirmed nephrogenic systemic fibrosis. *Radiology*, 2019, 292, 376-386.

Beimler J, Zeier M. Renal involvement in amyloidosis and sarcoidosis. *Dtsch Med Wochenschr*, 2018, 143, 101-109.

Benz-de Bretagne I, Roger C, Carlier MC. Urinary albumin measurement methods. *Ann Biol Clin (Paris)*, 2018, 76, 633-637.

Berne RM, Levy MN. Bubrež. U: Fiziologija. Andreis I, Pokrajac N, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 1996, str. 663-695.

Boutten A, Delatour V. Urinary proteins: up-to-date reference methods for urinary protein analysis. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2018, 76, 638-642.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Kidney Function and Disease. U: Tietz – Fundamentals of Clinical Chemistry. Missouri, Saunders, Elsevier Inc., 2008, str. 631-652.

Cai Q, Hendricks AR. Membranous nephropathy: a ten-year journey of discoveries. *Semin Diagn Pathol*, 2020, 37, 116-120.

Ciapini A. Proteinuria – visual inspection and electrophoretic semeiotics. U: Electrophoresis atlas of serum proteins, serum immunofixation, urine proteins and cryoglobulins. Milanesi B, Mroczko B, Zeng F i sur., urednici, Rim, Interlab, 2010, str. 251-261.

Chen D, Liu J, Duan S i sur. Clinicopathological features to predict progression of IgA nephropathy with mild proteinuria. *Kidney Blood Press Res*, 2018, 43, 318-328.

Chronic kidney disease (CKD) - symptoms and causes, 2020., [www.kidney.org](http://www.kidney.org), pristupljeno: 28.8.2020.

Ćorić M, Galešić Ljubanović D, Damjanov I, Bulimbašić S. Bolesti bubrega i mokraćnog sustava. U: Patologija. Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M, urednici, Zagreb,

Medicinska naklada, 2014, str. 529-566.

Darouich S, Bettaieb I, Aouadia R i sur. Light chain nephropathy. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2015, 26, 437-442.

Dvornik Š, Orlić L. Bolesti bubrega. U: Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi. Janković S, Primorac D, Topić E, Štefanović M, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2018, str. 125-139.

Dvornik Š, Sikirica M, Bobetić-Vranić T. Medicinskobiokemijska dijagnostika bolesti bubrega. U: Medicinskobiokemijska dijagnostika u kliničkoj praksi. Janković S, Primorac D, Topić E, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2004, str. 74-95.

Farquhar MG. The glomerular basement membrane: not gone, just forgotten. *J Clin Invest*, 2006, 116, 2090-2093.

Fogo AB, Lusco MA, Najafian B, Alpers CE. Atlas of renal pathology: minimal change disease. *Am J Kidney Dis*, 2015, 66, 376-377.

Floege J, Feehally J. Glomerular disease. U: *Comprehensive Clinical Nephrology*. Johnson RJ, Feehally J, Floege J, Tonelli M, urednici, Philadelphia, Elsevier, 2018, str. 184-207.

Guyton AC, Hall JE. Tjelesne tekućine i bubrezi. U: Medicinska fiziologija – udžbenik. Kukulja Taradi S, Andreis I, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2012, str. 303-340.

Hashimoto H, Ohashi N, Tsuji N. A case report of thin basement membrane nephropathy accompanied by sporadic glomerulocystic kidney disease. *BMC Nephrol*, 2019, 20, 248.

Hassler JR. IgA nephropathy: a brief review. *Semin Diagn Pathol*, 2020, 37, 143-147.

Horvatić I. Patogeneza glomerularnih bolesti. U: Bolesti glomerula – primarne i sekundarne. Galešić K, Galešić Ljubanović D, Horvatić I, Božić B, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2014, str. 1-51.

Horvatic I, Tisljar M, Bulimbasic S i sur. Epidemiologic data of adult native biopsy-proven

renal diseases in Croatia. *Int Urol Nephrol*, 2013, 45, 1577-1587.

Ilić M, Lalić N. Klinički značaj analize urina. Beograd, 2005, str. 7-20.

Jamboti JS. BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrology (Carlton)*, 2016, 21, 647-654.

Karras A. Renal involvement of cryoglobulinemia. *Nephrol Ther*, 2018, 14, 118-126.

Krishnan A, Levin A. Laboratory assessment of kidney disease: glomerular filtration rate, urinalysis, and proteinuria. U: *The Kidney*. Yu A, Chertow GM, Luyckx VA i sur. , urednici, Philadelphia, Elsevier, 2019, str. 744-751.

Lamb EJ, MacKenzie F, Stevens PE. How should proteinuria be detected and measured? *Ann Clin Biochem*, 2009, 46, 205-217.

Liu R, Zhu H, Yang JH. Can urine albumin/creatinine ratio replace 24 hours urinary albumin? *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*, 2019, 58, 377-381.

Markó L, Molnár GA, Wagner Z. Analysis of microalbuminuria with immunonephelometry and high performance liquid chromatography. Evaluation of new criteria. *Orv Hetil*, 2008, 149, 59-67.

Organ Donation and Transplantation Statistics, 2016., <http://www.kidney.org>, pristupljeno 27.8.2020.

Owen WE, Roberts WL. Performance characteristics of an HPLC assay for urinary albumin. *Am J Clin Pathol*, 2005, 124, 219-225.

Paloheimo L, Pajari-Backas M, Pitkänen E i sur. Evaluation of an immunoturbidimetric microalbuminuria assay. *J Clin Chem Clin Biochem*, 1987, 25, 889-892.

Papa R, Lachmann HJ. Secondary, AA, Amyloidosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 2018, 44, 585-603.

Perkowska-Ptasinska A, Bartczak A, Wagrowska-Danilewicz M. Clinicopathologic correlations of renal pathology in the adult population of Poland. *Nephrol Dial Transplant*, 2017, 32, 209-218.

Reyes-Thomas J, Blanco I, Putterman C. Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2011, 40, 138-150.

Sethi S, Haas M, Markowitz GS i sur. Mayo Clinic/Renal pathology society consensus report on pathologic classification, diagnosis, and reporting of GN. *J Am Soc Nephrol*. 2016, 27, 1278-1287.

Shannon BA, Cohen RJ, Davies RJ. The value of preoperative needle core biopsy for diagnosing benign lesions among small, incidentally detected renal masses. *J Urol*, 2008, 180, 1257-1261.

Speeckaert MM, Speeckaert R, Van De Voorde L, Delanghe JR. Immunochemically unreactive albumin in urine: fiction or reality? *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2011, 48, 87-96.

Štraus B, Čvorišćec D. Funkcija bubrega. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čepelak I, urednici, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 472-503.

Walker PD. The renal biopsy. *Arch Pathol Lab Med.*, 2009, 133, 181-188.

Yamamoto T, Watarai Y, Takeda A. De novo anti-HLA DSA characteristics and subclinical antibody-mediated kidney allograft injury. *Transplantation*, 2016, 100, 2194-2202.

## 8. SAŽETAK

Proteinurija je definirana izlučivanjem više od 150 mg proteina određeno u 24 satnom urinu. Radi se o čestom simptomu mnogih primarnih bubrežnih bolesti, ali i mnogih sistemskih bolesti sa sekundarnim zahvaćanjem bubrega. Ovisno o količini izlučenih proteina, proteinurija se opisuje kao blaga (manje od 1 grama dnevno), umjerena (1-3,5 grama dnevno) ili značajna (više od 3,5 grama dnevno), najčešće praćena znakovima nefrotskog sindroma.

Ovim radom je istražena učestalost i vrste proteinurije kod odraslih pacijenata kojima je tijekom 2019. u KBC Zagreb učinjena biopsija bubrega. Rezultati su uspoređeni s histološkim promjenama nađenim biopsijom bubrega, analiziranim svjetlosnom, imunofluorescentnom i elektronskom mikroskopijom.

U analiziranom razdoblju ukupno su odraslim pacijentima učinjene 152 biopsije bubrega; 87 (57,24%) u muškaraca i 65 (42,76%) u žena. Radilo se o 89 (58,55%) biopsija nativnih i 63 (41,44%) biopsije transplantiranih bubrega.

Proteinurija je nađena u 126 (83%) pacijenata, a vodeći simptom bila je u 45 (29%) pacijenata. Razine proteinurije su bile više u pacijenata s biopsijom nativnih bubrega. Najčešće dijagnoze vezane za visoke vrijednosti proteinurije bile su fokalna segmentalna glomeruloskleroza, membranska nefropatija, bolest minimalnih promjena, dijabetička nefropatija i amiloidoza. Proteinurija u pacijenata s transplantiranim bubregom je bila nižih vrijednosti i bila je povezana s kroničnim promjenama i kroničnim humoralnim odbacivanjem.

S obzirom da se mnoge etiološki različite bolesti mogu klinički slično manifestirati i biti povezane sa sličnom razinom proteinurije, biopsija bubrega je od iznimne važnosti za postavljanje precizne dijagnoze i planiranje daljnjeg liječenja.

## 8. SUMMARY

Proteinuria is defined as an urinary protein excretion of more than 150 mg per day. It is a common sign of many kidney diseases, both primary, as well as systemic diseases with secondary kidney involvement. Based on the amount of excreted proteins, proteinuria is defined as mild (less than 1 gr per day), moderate (1-3,5 gr per day) or heavy (more than 3,5 gr per day) with typical signs of nephrotic syndrome.

This study evaluated incidence and type of proteinuria in adult patients who underwent kidney biopsy in University Hospital Centre Zagreb during 2019. Results are correlated with histological changes found in kidney tissue observed by light, immunofluorescent and electron microscopy.

In period analysis, there were a total of 152 renal biopsies in adult patients, including 87 (57,24%) in males and 65 (42,76%) in females. Biopsy of native kidney was performed in 89 (58,55%) cases, and the rest 63 (41,44%) biopsies were from transplanted kidneys (allograft biopsies).

Proteinuria was found in 126 (83%) patients and it was the leading symptom in 45 (29%) cases. Levels of proteinuria were higher in patients with native kidney biopsy. The most common diagnoses related to high levels of proteinuria were focal segmental glomerulosclerosis, membranous nephropathy, minimal change disease, diabetic nephropathy, and amyloidosis. Proteinuric patients with allograft biopsy tend to have lower levels of proteinuria, and in most cases proteinuria was related to chronic changes, transplant glomerulopathy and chronic humoral rejection.

Since many etiologically different diseases can have similar clinical manifestation and similar levels of proteinuria, kidney biopsy is an essential tool to achieve precise diagnosis and assure adequate treatment.



## **9. PRILOG**

### **9.1 POPIS SKRAĆENICA**

ACR – omjer albumina i kreatinina (engl. albumin to creatinin ratio)

ANCA-GN – glomerulonefritis uzrokovan antineutrofilnim citoplazmatiskim antitijelima

APTV – aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme

BMP – bolest minimalnih promjena

DN – dijabetička nefropatija

DSA – donor specifična antitijela

eGFR – procijenjena glomerularna filtracija (engl. estimated glomerular filtration ratio)

ELISA – engl. enzyme-linked immunosorbent assay

FSGS – fokalna segmentalna glomeruloskleroza

GBM – glomerularno-bazalna membrana

GFR – glomerularna filtracija

HLA – sustav humanih leukocitnih antigena

HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. high performance liquid chromatography)

IgG – imunoglobulin G klase

INR – internacionalni normalizirajući omjer (engl. international normalized ratio)

KKS – kompletna krvna slika

LN – lupus nefritis

MN – membranska nefropatija

MPGN – membranoproliferativni glomerulonefritis

NAG – N-acetil-beta-D-glukozaminidaza

PMN – primarna membranska nefropatija

PV – protrombinsko vrijeme

SE HPLC – tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, kriterij po veličini molekule (engl. size exclusion high performance liquid chromatography)

TBM – bolest tankih bazalnih membrana

# Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Medicinska biokemija  
Samostalni kolegij: Patofiziologija s patologijom  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

## Morfološke promjene u biopatima bubrega odraslih bolesnika s proteinurijom

**Tomislav Hrgović**

Proteinurija predstavlja izlučivanje više od 150 mg proteina u 24 satnom urinu. Radi se o čestom simptomu mnogih primarnih bubrežnih bolesti, ali i mnogih sistemskih bolesti sa zahvaćanjem bubrega. Proteinurija se dalje opisuje kao blaga (manje od 1 g dnevno), umjerena (1-3,5 g dnevno) ili značajna (više od 3,5 g dnevno). Ovim radom je istražena učestalost i vrste proteinurije u odraslih pacijenata kojima je tijekom 2019. u KBC Zagreb učinjena biopsija bubrega. Rezultati su uspoređeni s histološkim promjenama nađenim biopsijom bubrega.

U analiziranom razdoblju ukupno su u odraslih učinjene 152 biopsije bubrega; 87(57,24%) u muškaraca i 65(42,76%) u žena. Radilo se o 89(58,55%) biopsija nativnih i 63(41,44%) biopsije transplantiranih bubrega.

Proteinurija je nađena u 126(83%) pacijenata, a vodeći simptom bila je u 45(29%) pacijenata. Razine proteinurije su bile više u pacijenata s biopsijom nativnih bubrega. Najčešće dijagnoze vezane za visoke vrijednosti proteinurije bile su fokalna segmentalna glomeruloskleroza, membranska nefropatija, bolest minimalnih promjena, dijabetička nefropatija i amiloidoza. Proteinurija u pacijenata s transplantiranim bubregom bila je nižih vrijednosti i povezana s kroničnim promjenama i kroničnim humoralnim odbacivanjem.

S obzirom da se mnoge etiološki različite bolesti mogu klinički slično manifestirati i biti povezane sa proteinurijom, biopsija bubrega je od iznimne važnosti za postavljanje precizne dijagnoze i planiranje daljnjeg liječenja.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 52 stranica, 4 grafičkih prikaza, 6 tablica i 41 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Proteinurija, nefrotski sindrom, biopsija bubrega

Mentor: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Stela Bulimbašić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Ana-Marija Domijan**, *redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

**Dr. sc. Ivica Horvatić**, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujna 2020.

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Medical biochemistry  
Independent cours: Patophysiology and Pathology  
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### Morphological features of kidney biopsies in adult patients with proteinuria

Tomislav Hrgović

Proteinuria is defined as an urinary protein excretion of more than 150 mg per day. It is a common sign of many kidney diseases, both primary, as well as systemic diseases. Based on the amount of excreted proteins, proteinuria is defined as mild (less than 1 gr per day), moderate (1-3,5 gr per day) or heavy (more than 3,5 gr per day) with typical signs of nephrotic syndrome.

This study evaluated incidence and type of proteinuria in adult patients who underwent kidney biopsy in University Hospital Centre Zagreb during 2019. Results are correlated with histological changes found in kidney tissue.

In period analysis, there were a total of 152 renal biopsies in adulta, including 87(57,24%) in males and 65(42,76%) in females. Biopsy of native kidney was performed in 89(58,55%) cases, and 63 (41,44%) were biopsies of transplanted kidneys (allograft biopsies).

Proteinuria was found in 126(83%) patients and it was the leading symptom in 45(29%) cases. Levels of proteinuria were higher in patients with native kidney biopsy. The most common diagnoses wuith high levels of proteinuria were focal segmental glomerulosclerosis, membranous nephropathy, minimal change disease, diabetic nephropathy, and amyloidosis. Proteinuric patients with allograft biopsy tend to have lower levels of proteinuria, related to chronic changes, transplant glomerulopathy and chronic humoral rejection.

Since many etiologically different diseases can have similar clinical manifestation and proteinuria, kidney biopsy is an essential tool to achieve precise diagnosis and assure adequate treatment.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 52 pages, 4 figures, 6 tables and 41 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Proteinuria, nephrotic syndrome, kidney biopsy

Mentor: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Stela Bulimbašić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Ana-Marija Domijan, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Ivica Horvatić, Ph.D.** *Assistant Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: September 2020.