

KLINIČKI ZNAČAJ PROTEINURIJE U DIJAGNOSTIKOVANJU OBOLJENJA BUBREGA

Dejan Petrović¹, Radmila Obrenović², Nada Majkić-Singh², Mileta Poskurica¹, Biljana Stojimirović³

¹Klinika za urologiju i nefrologiju, KBC »Kragujevac«, Kragujevac

²Institut za medicinsku biohemiju, KCS, Beograd

³Institut za urologiju i nefrologiju, KCS, Beograd, Jugoslavija

Kratak sadržaj: Bazalna membrana glomerula je mehanička i električna prepreka za prolazak proteina plazme. U fiziološkim uslovima kroz bazalnu membranu glomerula potpuno se filtriraju samo proteini plazme niske molekulske mase. Zbog oštećenja bazalne membrane glomerula povećava se filtracija proteina plazme srednje i velike molekulske mase. U zavisnosti od etiologije proteinurija može biti prerenalna, renalna i postrenalna. Analiziranjem albumina, α_1 -mikroglobulina, imunoglobulina G i α_2 -makroglobulina zajedno sa ukupnim proteinima u mokraći mogu se otkriti i diferencirati uzroci prerenalne, glomerulske, tubulske i postrenalne proteinurije. Odgovarajuće i pravovremeno diferenciranje proteinurije od velikog je dijagnostičkog i terapijskog značaja.

Ključne reči: proteinurija, α_1 -mikroglobulin, albumin, imunoglobulin G, α_2 -makroglobulin.

Uvod

U fiziološkim uslovima bazalna membrana glomerula sprečava prolazak proteina plazme, a filtracione pukotine veličine 20–50 nm su glavna mehanička prepreka za proteine plazme srednje i velike molekulske mase. Negativan sloj naelektrisanja na spoljašnjoj i unutrašnjoj strani bazalne membrane glomerula, izgrađen od heparan sulfata i sialoglikoproteina, odgovoran je za električnu prepreku za prolazak proteina plazme (1). Zbog toga se kroz bazalnu membranu glomerula u fiziološkim uslovima potpuno filtriraju samo peptidi i proteini plazme, čija je molekulska masa manja od 40 kD kao što su β_2 -mikroglobulin (12 kD), cistatin C (13 kD) i α_1 -mikroglobulin (27 kD). Proteini plazme molekulske mase od 40–80 kD, kao što su albumin (67 kD) i transferin (80 kD), filtriraju se u znatno manjoj količini, dok se proteini plazme molekulske mase veće od 80 kD, kao što su imunoglobulin G (125 kD), α_2 -makroglobulin (250 kD) i imunoglobulin M (900 kD), u fiziološkim uslovima ne filtriraju kroz bazalnu membranu glomerula (2–4).

Više od 99% filtrovanih proteina reapsorbuje se u proksimalnim tubulima procesom endocitoze (2–4). U fiziološkim uslovima ćelije S₁-segmenta proksimalnih tubula imaju osnovnu funkciju u reapsorpciji i razgradnji filtrovanih proteina (1). Imunohistohemijskim metodama u invaginacijama luminalne membrane ćelija proksimalnih tubula dokazano je prisustvo proteina klatrina, koji učestvuje u endocitozi proteina preko receptora. Vezikule, koje stvaraju hidrolitički aktivne sekundarne lizosome, usisavaju proteine (2, 3). Proizvodi razgradnje se oslobađaju kroz bazalnu membranu ćelija proksimalnih tubula u krvotok. Nesvarljivi ostaci se luče u lumen tubula procesom egzocitoze zajedno s enzimima lizozoma, uključujući N-acetil- β -D-glukoza-minidazu (β -NAG). Zbog toga u definitivnoj mokraći, u fiziološkim uslovima, aktivnost β -NAG iznosi 5 U/g kreatinina (2–4).

U patološkim uslovima, zbog povećane propustljivosti bazalne membrane glomerula, povećava se filtracija proteina plazme čija je molekulska masa 40–80 kD, kao i filtracija proteina plazme, čija je molekulska masa veća od 80 kD (2–4). Povećana filtracija proteina pokreće mehanizam adaptacije tubula, kojim bubreg pokušava da što veću količinu filtriranih proteina vrati organizmu. Zbog proteinurije povećava se broj lizozoma posebno u ćelijama S₂-segmenta *pars convoluta* proksimalnih tubula, kao i aktivnost prote-

Adresa autora

Dr Dejan Petrović
Klinika za urologiju i nefrologiju, KBC »Kragujevac«
34 000 Kragujevac, Zmaj Jovina 30
Tel.: 034 / 370 302

olitičkih enzima i katepsina B i L u ovim ćelijama (1). To omogućava povećanje tubulske reapsorpcije proteina sve do tačke zasićenja. Kada se prevaziđe maksimalni kapacitet tubula za reapsorpciju proteina nastaje proteinurija. Pod proteinurijom se podrazumeva pojava proteina u mokraći u dnevnoj količini koja je veća od 150 mg/1,73 m²/24h, odnosno količina ukupnih proteina u mokraći veća od 70 mg/g kreatinina (2 5).

Parametri za diferenciranje vrsta proteinurije

Proteinurija, zavisno od uzroka, može biti *prerenalna*, *renalna* i *postrenalna*. Za diferenciranje pojedinih vrsta proteinurije koriste se sledeći parametri iz uzorka druge jutarnje mokraće ili uzorka 24h mokraće: ukupni proteini, albumin, α_1 -mikroglobulin, α_2 -makroglobulin, imunoglobulin G, N-acetil- β -D-glukozaminidaza, β_2 -mikroglobulin i cistatin C. Ne postoji značajna razlika u koncentracijama navedenih parametara iz uzorka druge jutarnje mokraće i uzorka 24h mokraće (5 9).

Albumin je idealan pokazatelj glomerulske proteinurije pošto se njegova količina u mokraći povećava pri promenama naelektrisanja bazalne membrane glomerula (*selektivna proteinurija*), kao i pri promenama veličine pora bazalne membrane glomerula (*neselektivna proteinurija*) (10, 11). Stabilan je u mokraći i određuje se imunoturbidimetrijskom ili imunonefelometrijskom metodom. Obe metode imaju raspon određivanja od ispod 1,5 mg/L do 100 mg/L, uz dobru preciznost i tačnost. Koncentracija albumina u mokraći određuje se u uzorku 24h mokraće. Da bi se isključio uticaj diureze, pored merenja koncentracije albumina praktikuje se izračunavanje odnosa albumin/kreatinin u prvom jutarnjem urinu. Normalno izlučivanje albumina mokraćom definiše se kao izlučivanje albumina mokraćom manje od 30 mg/24h (< 20 mg/min) ili odnos albumin/kreatinin u uzorku prve jutarnje mokraće manji od 30 mg/g (albumin/kreatinin < 2,5 μ g/mmol kod muškaraca i < 3,5 mg/mmol kod žena), ili kao koncentracija albumina u uzorku prve jutarnje mokraće manja od 20 mg/L. Mikroalbuminurija se definiše brzinom izlučivanja albumina mokraćom koja iznosi 30 300 mg/24h ili 20 200 μ g/min, ili koncentracijom albumina u uzorku prve jutarnje mokraće od 20 200 mg/L, ili odnosom albumina i kreatinina u uzorku prve jutarnje mokraće koji iznosi 2,5 25 mg/mmol kod muškaraca, odnosno 3,5 25 mg/mmol kod žena (Evropa) ili 30 300 mg/g (USA) (10, 11) (Tabela I).

Imunoglobulin G je dobar pokazatelj neselektivne glomerulske proteinurije (2, 3, 5, 7, 12). Određuje se imunoturbidimetrijskom metodom. Zbog velike molekulske mase (125 kD), samo neznatna količina prolazi kroz bazalnu membranu glomerula, i izlučuje se mokraćom. Gornja normalna granica izlučivanja IgG mokraćom iznosi 10 mg/g kreatinina (1,13 g/mol kreatinina) (7). Izlučivanje IgG mokraćom \geq 250 mg/dan može da ukáže i na pogoršanje bubrežne funkcije kod bolesnika s proteinurijom (12).

Kao pokazatelj tubulske reapsorpcije proteina koristi se α_1 -mikroglobulin. Označava se još i kao protein HC. U serumu se nalazi u više oblika i to kao: HC-IgA, HC-albumin i kao slobodan protein HC. Slobodan protein HC filtrira se kroz bazalnu membranu glomerula, a zatim gotovo u potpunosti reapsorbuje i razgrađuje u ćelijama proksimalnih tubula. Gornja normalna granica izlučivanja α_1 -mikroglobulina mokraćom iznosi 14 mg/g kreatinina (1,58 g/mol kreatinina) (7). Lako se određuje imunonefelometrijskom metodom, zbog visoke stabilnosti i visoke normalne vrednosti u mokraći (3 10 mg/L) (2, 3, 5, 13).

N-acetil- β -D-glukozaminidaza, lizozomani enzim proksimalnih tubula, takođe služi kao pokazatelj tubulo-intersticijske proteinurije (2, 3, 5, 9, 14). Stabilan je u mokraći. Može se čuvati dva dana na +4 °C, a nekoliko meseci na 20 °C. Određuje se iz uzorka 24h mokraće kolorimetrijskim testom. Gornja granica normalnih vrednosti β -NAG-a u mokraći iznosi 5 U/g kreatinina (0,56 kU/ mol kreatinina) (7).

Za dijagnostikovanje postrenalnih proteinurija koristi se α_2 -makroglobulin, jer se uopšte ne filtrira kroz bazalnu membranu glomerula zbog svoje molekulske mase, ali se pojavljuje u mokraći kao rezultat postrenalnih krvarenja. Određuje se imunonefelometrijskom metodom (2, 3, 5).

Drugi korišćeni pokazatelji β_2 -mikroglobulin, retinol vezujući protein (RBP) i cistatin C se ređe koriste, jer prebubrežne varijacije (RBP), nestabilnost u mokraći pri fiziološkom pH (β_2 -mikroglobulin) ili veoma niska koncentracija u normalnoj mokraći (cistatin C < 0,3 mg/L) ograničavaju njihovu rutinsku primenu (2, 3, 13). Pri svakom sakupljanju mokraće mora se isključiti mokraćna infekcija ispitivanjem nitrita, mikroskopskim pregledom sedimenta mokraće i mikrobiološkim pregledom uzorka mokraće.

Tabela I Poremećaj funkcije bubrega i stepen albuminurije

| Stepen albuminurije | Oštećenje bubrega | Količina albumina u mokraći |
|---------------------|----------------------|--|
| normoalbuminurija | nema oštećenja | < 20 μ g/min ili < 30 mg/24h |
| mikroalbuminurija | početna nefropatija | 20 200 μ g/min ili > 30 300 mg/24h |
| makroalbuminurija | klinička nefropatija | > 200 μ g/min ili > 300 mg/24h |

Dijagnostički koncept

Prerenalna proteinurija nastaje usled pojačanog stvaranja i povećane koncentracije proteina plazme niske molekulske mase, pri čemu je anatomski i funkcionalni integritet glomerula i tubula očuvan. Ako je ukupno izlučivanje proteina > 300 mg/L, a zbir albumina, α_1 -mikroglobulina i IgG je < 30% ukupno izlučenih proteina, onda se radi o prerenalnoj proteinuriji. Prerenalna proteinurija se može definisati i pomoću odnosa albumina i ukupnih proteina, koji iznosi manje od 0,3 (albumin/ukupni proteini < 0,3) (2, 8).

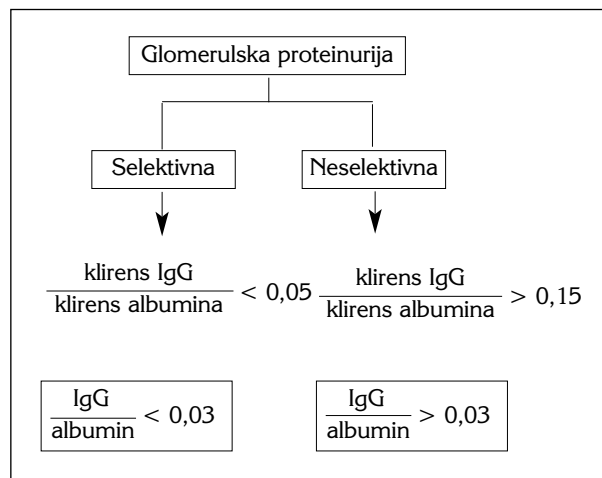
Prerenalna proteinurija najčešće nastaje zbog povećanog stvaranja i izlučivanja slobodnih lanaca imunoglobulina (LCs). Zdrave osobe izlučuju približno oko 3 mg/24h LCs mokraćom, a odnos κ/λ LCs iznosi 2,9 (15). Posle filtriranja u glomerulima, LCs se reapsorbuju i razgrađuju u ćelijama proksimalnih tubula. Povećana filtracija i reapsorpcija LCs dovodi do oštećenja ćelija proksimalnih tubula. Korisni pokazatelji toksičnog dejstva LCs na ćelije proksimalnih tubula su α_1 -mikroglobulin i β_2 -mikroglobulin. Izlučivanje β_2 -mikroglobulina mokraćom više varira u poređenju sa izlučivanjem α_1 -mikroglobulina. Osim toga, β_2 -mikroglobulin se razgrađuje na temperaturi tela i kada je pH mokraće ispod 6. Sve to ukazuje da je α_1 -mikroglobulin osetljiviji pokazatelj funkcije proksimalnih tubula kod bolesnika s multiplim mijelomom i LCs, u odnosu na izlučivanje β_2 -mikroglobulina mokraćom (15).

Renalna proteinurija može biti glomerulska i tubulointersticijska. Glomerulska proteinurija nastaje usled oštećenja bazalne membrane glomerula i povećanja njene propustljivosti, dok je anatomski i funkcionalni integritet tubula očuvan.

Glomerulska proteinurija može biti selektivna i neselektivna. Za razdvajanje selektivne od neselektivne glomerulske proteinurije koristi se selektivni indeks. Selektivni indeks predstavlja odnos klirensa IgG i klirensa albumina ili transferina. Dobar selektivni indeks, manji od 0,10 ili još bolje manji od 0,05 ukazuje na »selektivnu« glomerulsku proteinuriju. Loš selektivni indeks, veći od 0,15 ili 0,20 ukazuje na »neselektivnu« glomerulsku proteinuriju (16, 17). Odnos IgG/albumin takođe pomaže u razdvajanju »selektivne« (IgG/albumin < 0,03) od »neselektivne« (IgG/albumin > 0,03) proteinurije kod bolesti glomerula sa albuminurijom > 500 mg/g kreatinina (9) (Slika 1).

Tubulska proteinurija nastaje kada je anatomski i funkcionalni integritet glomerula očuvan, a narušen anatomski i funkcionalni integritet tubulointersticijuma (2, 3). Koristeći albumin kao glomerulski pokazatelj, a α_1 -mikroglobulin kao tubulski pokazatelj, moguće je definisati jačinu glomerulske i tubulske proteinurije kao graničnu, blagu, umerenu, izraženu i nefrotsku (Tabela II).

Kod progresivne glomerulske bolesti zajedno se viđa poremećaj glomerulske filtracije i tubulske reapsorpcije, što dovodi do takozvane glomerulo-tubulske

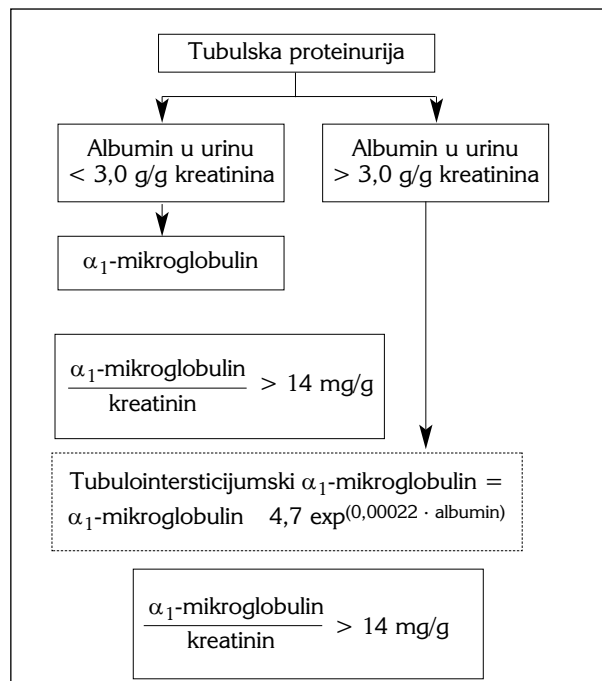


Slika 1. Diferenciranje glomerulske proteinurije

Tabela II Procena težine glomerulske i tubulske proteinurije u zavisnosti od stepena izlučivanja albumina i α_1 -mikroglobulina mokraćom (mg/g kreatinina)

| Albumin | α_1 -mikroglobulin | Težina proteinurije |
|-----------|---------------------------|---------------------|
| 20 30 | 14 20 | granična |
| 30 100 | 20 50 | blaga |
| 100 1000 | 50 100 | umerena |
| 1000 3000 | >100 | izražena |
| >3000 | | nefrotska |

Modifikovano prema literaturnom podatku (5).



Slika 2. Procena doprinosa tubulointersticijuma u nastanku proteinurije

proteinurije. Koliki je doprinos tubulointercijuma, a koliki glomerula u nastanku proteinurije kod bolesnika, sa jačinom mokraćnog izlučivanja albumina iznad 3000 mg/g kreatinina može se proceniti izračunavanjem korigovanog α_1 -mikroglobulina za »glomerulsku komponentu α_1 -mikroglobulina«, korišćenjem jednačine (6):

$$\text{Tubulointercijumski } \alpha_1\text{-mikroglobulin} = \alpha_1\text{-mikroglobulin} \cdot 4,7 \exp(0,00022 \cdot \text{albumin})$$

Kada je koncentracija kreatinina u serumu veća od 230 $\mu\text{mol/L}$, koncentracija α_1 -mikroglobulina u mokraći je uvek povećana. Ovo ukazuje na to, da interpretacija α_1 -mikroglobulina korišćenjem formule može da bude veoma korisna pri koncentraciji kreatinina u serumu manjoj od 230 $\mu\text{mol/L}$ (6). Gornja granica normalne vrednosti za odnos albumin/kreatinin iznosi 20 mg/g kreatinina, a za odnos α_1 -mikroglobulin/kreatinin 14 mg/g kreatinina (6) (Slika 2).

Postrenalna proteinurija nastaje kao posledica postrenalnog krvarenja. Koristan pokazatelj postrenalne proteinurije je α_2 -makroglobulin. Kada je hematurija utvrđena test trakama treba odrediti α_2 -makroglobulin i albumin u mokraći. Ako je koncentracija albumina < 100 mg/L, traže se eritrociti izmenjenog oblika (2 8). Osnovne karakteristike glomerulske hema-

turije su: eritrocitni cilindri, bleđi eritrociti izmenjenog oblika > 80%, akantociturija > 5%, srednja vrednost zapremine eritrocita, MCV indeks eritrocita iz mokraće < 72 fl i odnos MCV indeksa eritrocita iz mokraće i krvi, $U_{\text{MCV}}/B_{\text{MCV}} < 1$ (18 20). Postrenalnu hematuriju karakteriše odsustvo eritrocitnih cilindara i prisustvo eritrocita neizmenjenog oblika (MCV > 72 fl, a $U_{\text{MCV}}/B_{\text{MCV}} > 1$) (18 20). Kod većih koncentracija albumina (albumin > 100 mg/L), treba ispitivati odnos α_2 -makroglobulina i albumina, kao i odnos IgG i albumina, da bi se dijagnostikovala postrenalna proteinurija. Kada je odnos α_2 -makroglobulina i albumina veći od 0,02 (α_2 -makroglobulin/albumin > 0,02), a odnos IgG i albumina veći od 0,2 (IgG/albumin > 0,2), to govori o postrenalnom oštećenju (2 8).

U poslednjoj deceniji, proteinuriji i oštećenju tubulointercijuma pridaje se glavni značaj u progresiji hronične bubrežne slabosti. Veći gubitak proteina putem bubrega dovodi do bržeg opadanja bubrežne funkcije. Proces ožiljavanja tubulointercijuma je u početnim fazama reverzibilan, tako da se smanjenjem proteinurije može prevenirati proces ožiljavanja tubulointercijuma i progresija bubrežne slabosti.

Zahvalnost: Rad je urađen u okviru Projekta 1260 koji finansira Ministarstvo za nauku tehnologije i razvoj Republike Srbije.

CLINICAL IMPORTANCE OF PROTEINURIA IN DIAGNOSTIC STRATEGY FOR KIDNEY DISEASES

Dejan Petrović¹, Radmila Obrenović², Nada Majkić-Singh², Mileta Poskurica¹, Biljana Stojimirović³

¹Clinic of Urology and Nephrology, Clinical Center »Kragujevac«, Kragujevac

²Institute of Medical Biochemistry, Clinical Center of Serbia, Belgrade

³Institute of Urology and Nephrology, Clinical Center of Serbia, Belgrade, Yugoslavia

Summary: Basal glomerular membrane represents mechanical and electrical obstacle for passing of plasma proteins. In physiological conditions only plasma proteins of low molecule weight are completely filtered through basal membrane. Due to damages of basal glomerular membrane there is increase in filtration of plasma protein of middle and high molecular weight. Depending on etiology of proteinuria it can be prerenal, renal and postrenal. By analyzing albumin, α_1 -mikroglobulin, immunoglobulin G and α_2 -makroglobulin, together with total protein in urine, it is possible to detect and differentiate causes of prerenal, glomerular, tubular and postrenal proteinuria. The adequate and early differentiation of proteinuria is of an immense diagnostic and therapeutic importance.

Key words: proteinuria, α_1 -mikroglobulin, albumin, immunoglobulin G, α_2 -makroglobulin.

Literatura

1. Tisher CC, Madsen MK. Anatomy of the Kidney. In The kidney. Brenner B.M. Ed. 3 62. The W.B. Saunders, Philadelphia, 1996.
2. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cistatin C and protein HC in biological fluids. Clin Nephrol 1992; 38 Suppl 1: 20 7.
3. Guder GW, Hofmann W. New strategies in screening urine for exclusion and differentiation of renal diseases by analyzing individual proteins. Jugoslav Med Biochem 1997; 16: 69 75.
4. Hofmann W, Rossmuller B, Guder WG, et al. A new strategy for characterizing proteinuria and haematuria from a single pattern of defined proteins in urine. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992; 30: 707 12.
5. Ivandić M, Hofmann W, Guder GW. Development and evaluation of a urine protein expert system. Clin Chem 1996; 42: 1214 22.
6. Hofmann W, Edel H, Guder GW. A mathematical equation to differentiate overload proteinuria from tubulointerstitial involvement in glomerular diseases. Clin Nephrol 1995; 44: 28 31.
7. Hofmann W, Guder WG. A Diagnostic Programme for Quantitative Analysis of Proteinuria. J Clin Chem Clin Biochem 1989; 27: 589 600.
8. Hofmann W, Regenbogen C, Edel H, et al. Diagnostic strategies in urinalysis. Kidney Int 1994; 46 Suppl 47: 111 4.
9. Jung K. Urinary enzymes and low molecular weight proteins as markers of tubular dysfunction. Kidney Int 1994; 46 Suppl 47: 29 33.
10. Jensen SJ, Clausen P, Borh-Johnsen K, et al. Detecting microalbuminuria by urinary albumin/creatinine concentration ratio. Nephrol Dial Transplant 1997; 12 Suppl 2: 6 9.
11. Ruilope ML. Microalbuminuria as risk essential hypertension. Nephrol Dial Transplant 1997; 12 Suppl 2: 2 5.
12. Reichert MJL, Koene PAR., Wetzels MFJ. Urinary IgG excretion as a prognostic factor in idiopathic membranous nephropathy. Clin Nephrol 1997; 48: 79 84.
13. Weber MH, Verwiebe R. Alpha 1-microglobulin (protein HC): features of a promising indicator of proximal tubular dysfunction. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992; 30: 683 91.
14. Petrović D. Uticaj proteinurije na tubulsku funkciju bubrega. Magistarski rad, Beograd, 2000.
15. Honkanen E, Pettersson T, Teppo AM. Urinary α 1- i β 1-mikroglobulin in light chain proteinuria. Clin Nephrol 1995; 44: 22 7.
16. Nešić V. Diferencijalna dijagnoza nefrotskog sindroma. Novine u nefrologiji, 1997, 2: 31 9.
17. Tencer J, Torffvit O, Thysell H, et al. Proteinuria selectivity index based upon α ₂-macroglobulin or IgG is superior to the IgG based index in differentiating glomerular diseases. Kidney Int 1998; 54: 2098 105.
18. Fogazzi BG, Leong SO. The erythrocyte cast. Nephrol Dial Transplant 1996; 11: 1649 50.
19. Fogazzi GB, Ponticelli C. Microscopic Hematuria Diagnosis and Management. Nephron 1996; 72: 125 34.
20. Wandel E. Dismorphic erythrocytes. Nephrol Dial Transplant 1996; 11: 1874 5.

Rad primljen: 15. 02. 2002.

Prihvaćen za štampu: 15. 05. 2002.