

# Značaj izražaja tkivnih biljega specifične AT-bogate vezujuće bjelančevine (SATB1) i fosfataze i homologa tenzina (PTEN) u primarnim i sekundarnim bolestima bubrega

---

**Borić Škaro, Dijana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:637870>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-31**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**DIJANA BORIC ŠKARO**

**ZNAČAJ IZRAŽAJA TKIVNIH BILJEGA SPECIFIČNE AT-BOGATE  
VEZUJUĆE BJELANČEVINE (SATB1) I FOSFATAZE I HOMOLOGA  
TENZINA (PTEN) U PRIMARNIM I SEKUNDARNIM BOLESTIMA  
BUBREGA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Split, 2022.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**DIJANA BORIC ŠKARO**

**ZNAČAJ IZRAŽAJA TKIVNIH BILJEGA SPECIFIČNE AT-BOGATE  
VEZUJUĆE BJELANČEVINE (SATB1) I FOSFATAZE I HOMOLOGA  
TENZINA (PTEN) U PRIMARNIM I SEKUNDARNIM BOLESTIMA  
BUBREGA**

**DOKTORSKA DISERTACIJA**

**Mentorica:**

**prof. dr. sc. Katarina Vukojević, dr. med.**

**Split, 2022.**

**Doktorska disertacija izrađena je u Zavodu za anatomiju, histologiju i embriologiju  
Medicinskog fakulteta u Splitu**

**Voditeljica rada: prof. dr. sc. Katarina Vukojević, dr. med.**

Svojem sinu Ivoru i suprugu Goranu, jer su stoički podnijeli velik dio tereta na putu izrade ove doktorske disertacije, jer su bili i ostali podrška, moj temelj i ponos, posvećujem ovaj rad.

Svojoj majci, koja nije dočekala ove trenutke; nadam se da me vidiš.

Kolegama i svim dragim ljudima, bližim i daljim, koji su u mene vjerovali i koji su mišlju, riječju i djelom pridonijeli izradi ovog rada velika i od srca HVALA.

Posebno zahvaljujem svojoj dragoj mentorici, prof. dr. sc. Katarini Vukojević, na stručnom vodstvu, strpljenju, razumijevanju, nesebičnom angažmanu, pomoći i poticaju tijekom svih faza izrade ove doktorske disertacije.

Velika hvala i ostalim kolegama i osoblju Zavoda za anatomiju, histologiju i embriologiju Medicinskog fakulteta u Splitu na suradnji, a posebno izv. prof. dr. sc. Nataliji Filipović na pomoći u praktičnom dijelu izrade disertacije te na korisnim i poticajnim savjetima i preporukama.

Prof. dr. sc. Meri Glavini hvala na svekolikoj pomoći i savjetima.

Prof. dr. sc. Draganu Ljutiću, mentoru u kliničkom radu i idejnom začetniku ovog rada, velika hvala na prenesenom znanju i kliničkim vještinama te na poticaju u izradi doktorske disertacije.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 <i>Anatomija i histologija bubrega</i>	1
1.2 <i>Fiziologija bubrega</i>	3
1.3 <i>Bubrežne bolesti</i>	8
1.3.1. <i>Podjela bubrežnih bolesti</i>	8
1.3.2. <i>Definicija i stadiji kronične bubrežne bolesti</i>	10
1.3.3. <i>Epidemiologija, uzročni čimbenici i čimbenici progresije kroničnih bubrežnih bolesti</i>	12
1.3.4. <i>Kronična bubrežna bolest i srčano-žilne bolesti</i>	14
1.4 <i>SATBI</i>	16
1.5 <i>PTEN</i>	17
<b>2. CILJ RADA I HIPOTEZA</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE</b>	<b>21</b>
3.1 <i>Etika</i>	21
3.2 <i>Sakupljanje tkiva i imunohistokemija</i>	20
3.3 <i>Statističke metode</i>	23
<b>4. REZULTATI</b>	<b>24</b>
4.1 <i>Distribucija tkivnih biljega SATBI i PTEN u strukturama bubrežne kore u skupini proliferacijskih i neproliferacijskih bubrežnih bolesti te u zdravom bubrežnom tkivu</i>	24
4.2 <i>Ukupan broj SATBI pozitivnih stanica u strukturama kore bubrega zahvaćenih bolešću i u kontrolnoj skupini</i>	25
4.3 <i>Ukupan broj PTEN pozitivnih stanica u strukturama kore bubrega zahvaćenih bolešću i u kontrolnoj skupini</i>	27
4.4 <i>Semikvantifikacija intenziteta bojenja SATBI i PTEN-a u kori bubrega zahvaćenog bolešću i u kontrolnoj skupini</i>	27

<b>5. RASPRAVA</b>	<b>29</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b>	<b>39</b>
<b>7. SAŽETAK</b>	<b>40</b>
<b>8. ABSTRACT</b>	<b>40</b>
<b>9. LITERATURA</b>	<b>42</b>
<b>10. ŽIVOTOPIS</b>	<b>58</b>

### **Popis oznaka i kratica**

SATB1 – tkivno specifična matriks vezajuća bjelančevina 1 bogata adenin-tiamin bazama

PTEN – fosfataza i tenzin homolog

Th – torakalni kralježak

JGA – jukstagomerularni aparat

RAAS – renin-angiotenzin-aldosteronski sustav

ADH – antidiuretski hormon (vazopresin)

ANF – atrijski natriuretski faktor

SNS – simpatički nervni sustav

PGI – prostaglandini

NO – dušikov oksid

E – endotelin

CO<sub>2</sub> – ugljikov dioksid

CT – kompjutorizirana tomografija

MRI – magnetska rezonanca

KDIGO - Globalna neprofitna organizacija koja izdaje važeće smjernice u bubrežnim bolestima (engl. Kidney Disease Improving Global Outcomes) KDIGO Globalna neprofitna organizacija koja izdaje važeće smjernice u bubrežnim bolestima (engl. Kidney Disease Improving Global Outcomes)

TGF-β1 – transformirajući čimbenik rasta beta

CTGF – čimbenik rasta vezivnog tkiva  
PDGF – čimbenik rasta trombocita  
EGF – čimbenik rasta endotela  
GFR – veličina glomerularne filtracije  
ACR – omjer albumina i kreatinina u uzorku urina  
AER – količina albumina u 24-h urinu  
EMT – epitelno-mezenhimalna tranzicija  
PBS – fiziološka otopina puferirana fosfatnim puferom  
DAPI – 4', 6-diamidino-2-fenilindol  
PT – proksimalni tubul  
DT – distalni tubul  
GN – glomerulonefritis  
Anti GBM – antitijela na sastavnice glomerularne bazalne membrane  
LN – lupus nefritis  
MN – membranska nefropatija  
MePGN – mezangioproliferacijski GN  
MPGN – membranoproliferacijski GN  
FSG – fokalna segmentna glomeruloskleroza  
BMP – bolest minimalnih promjena  
AS – Alportov sindrom,  
CGN – glomerulonefritis s polumjesecima  
AM – amiloidoza  
AOB – akutno oštećenje bubrega  
KBB – kronična bubrežna bolest  
IgA GN – IgA nefropatija  
HSV – Henoch-Shoenlein vaskulitis  
SŽB – srčano-žilne bolesti  
TIF – tubulointersticijska fibroza



## 1. UVOD

### 1.1. Anatomija i histologija bubrega

Bubreg je parni, respiratorno pomični organ, smješten visoko u trbušnoj šupljini, retroperitonealno te postranično od kralježnice, zaštićen dvama slojevima masnog tkiva – perirenalnim masnim tkivom unutar bubrežne kapsule te pararenalnom masti izvan bubrežne (Gerotove) fascije. Na gornjem polu bubrega smještene su nadbubrežne žlijezde (1).

Lijevi bubreg nalazi se u razini kralješaka Th12-L3, a desni neposredno pod dijafragmom, iza jetre, s gornjim polom zaštićenim 11. i 12. rebrom. Desni je bubreg obimom manji i smješten niže od lijevog, a zbog fiziološke asimetrije uzrokovane položajem jetre (1). Normalna je veličina bubrega u odraslog čovjeka 9 – 12 cm, uz debljinu bubrežne kore od oko 1,5 cm (2). Težina bubrega kod odraslog muškaraca iznosi između 125 i 170 grama, a kod žena između 115 i 155 grama (2). Na konkavnoj strani bubrega smješten je *bubrežni hilus*, mjesto u kojem u bubreg ulazi bubrežna arterija kao izravni ogranak trbušne aorte, živci, limfne žile, a izlaze bubrežne vene i mokraćovod (1). Bubrežni hilus okružen je masnim i limfatičkim tkivom s limfnim čvorovima (1). Bubrežno tkivo koje čini vanjski dio zove se bubrežna kora, a unutrašnji dio bubrežna srž (2). Na presjeku se parenhim bubrega sastoji od 8 do 18 bubrežnih lobusa koničnog oblika, od kojih svaki ima pripadajući dio bubrežne kore i srži sa strukturama koje nazivamo *bubrežnim piramidama* (2).

Glavna strukturna i funkcionalna jedinica bubrega naziva se *nefron* (3). Svaki bubreg u prosjeku ima oko milijun nefrona, a taj broj varira od 200 000 do 1 800 000, što je određeno brojem pri rođenju te stečenim promjenama (4). Nakon 40. godine života broj funkcionalnih nefrona fiziološkim se procesima starenja smanjuje, u prosjeku za 10 % godišnje (3). Svaki se nefron sastoji od bubrežnog (Malpighijeva) tjelešca i sustava bubrežnih kanalića. Bubrežno tjelešce čini glomerul, splet kapilara s pripadajućom dovodnom i odvodnom arteriolom, uloženi u mezangij te obložen dvoslojnom fibroznom (Bowmanovom) kapsulom (5). Vanjski list Bowmanove kapsule čine epitelne pločaste stanice, a unutarnji list sačinjava posebna vrsta stanica, *podociti*, čiji se izdanci na složen način isprepleću te formiraju filtracijske procijepne (4). Glikokaliks na površini fenestriranih endotelnih stanica glomerula, glomerulska bazalna membrana, procijepna dijafragma između izdanaka epitelnih podocita te prostor između procijepne dijafragme i tijela podocita sastavnice su *glomerulske filtracijske membrane* (4).

Mezangijske stanice i matriks ispunjavaju prostor između glomerulskih kapilara te se nalaze na vaskularnom polu glomerula (4).

*Kanalni sustav* započinje na urinarnom polu glomerula s *proksimalnim zavijenim kanalićima* (PT) na koji se nastavlja *tanki silazni i debeli uzlazni krak Henleove petlje* te *distalni zavijeni kanalići* (DT). DT se nastavlja u *sabirne cijevi*, a sabirne cijevi više nefrona (njih oko 30) formiraju terminalne *sabirne kanale* koji završavaju bubrežnim papilama (1). Bubrežne se papile otvaraju u *bubrežnim čašicama*; tri do četiri manje čašice, svaka s pripadajućom papilom formiraju jednu veću čašicu, a dvije, tri veće čašice *bubrežnu nakapnicu* odakle se urin odvodi iz bubrega mokraćovodom u mokraćni mjehur (1). Proksimalne i distalne zavijene kanaliće pokriva kubični epitel s četkastom prevlakom na luminalnoj strani. Kubični epitel bez četkaste prevlake pokriva uzlazni debeli krak Henleove petlje, dok je tanki silazni i uzlazni dio te sabirne cijevi prekriven pločastim epitelom (5).

*Intersticij* je prostor između nefrona, tubula, krvnih i limfnih žila i živaca. Sastoji se od vezivnog *tkiva* čija zastupljenost raste od kore prema dubljim dijelovima srži; u predjelu kore slabo je izražen te čini oko 7 % ukupnog volumena kore, a u predjelu unutarnjeg dijela bubrežne srži čini i do 30 % (5). Sabirne cijevi većeg broja nefrona u bubrežnoj srži formiraju bubrežne piramide, s vrhom u bubrežnim čašicama. Bubrežne kolumne čini vezivno tkivo između bubrežnih piramida koje dijeli bubreg u režnjeve (*lobuse*) i u kojima su smještene i krvne žile. Posebnu bubrežnu strukturu sačinjava *jukstaglomerularni aparat* (JGA), smješten izvan Bowmanove kapsule na mjestu kontakta početnog dijela distalnog zavijenog kanalića i žilnog zida arteriola na vaskularnom polu glomerula. Sačinjava ga makula densa, senzorne stanice u zidu distalnog zavijenog kanalića te jukstaglomerularne stanice glatkomišićnog zida aferentne koji proizvode hormon renin (5).

Svi glomeruli, proksimalni i distalni zavijeni kanalići smješteni su u bubrežnoj kori. Dva su tipa nefrona: kortikalni, koji su najbrojniji, te jukstaglomerularni, na koje otpada ukupno 20 – 30 % nefronske mase (3). Zadnji su smješteni dublje u bubrežnoj kori, na granici kore i srži, s tubularnom komponentnom (Henleova petlja), koja seže duboko u srž, za razliku od kortikalnih kod kojih je veći dio pripadajućih tubula u kori (3).

Bubreg krvlju opskrbljuje bubrežna arterija, izravni ogranak trbušne aorte, koja se po ulasku u hilus dijeli na prednji i stražnji ogranak. Prednji ogranak daje apikalnu, gornju, srednju i donju segmentalnu granu, a stražnji se ogranak nastavlja kao stražnja segmentalna arterija.

Segmentalne arterije dalje se granaju u interlobarne te potom arkuatne arterije koje prolaze granicom kore i srži (2). Interlobularne arterije, terminalni ogranak arkuatnih arterija, daju aferentne arteriole koje opskrbljuju glomerule krvlju (2). Eferentne arteriole, koje odlaze iz glomerularnog klupka, nastavljaju se u *vasa recta* do peritubularne kapilarne mreže, odakle se krv drenira interlobularnim venama (2). Vene imaju isti slijed kao i arterije: interlobularne, arkuatne i interlobarne vene ulijevaju se u bubrežnu venu koja izlazi iz bubrega u hilusu i izravno utječe u donju šuplju venu (2). U bubregu se nalazi i splet živčanih vlakana, tzv. bubrežni plexus, čija vlakna slijede bubrežne arterije (5).

## ***1.2 Fiziologija bubrega***

Funkcija je bubrega višestruka. Bubrežni ima središnje mjesto u održavanju homeostaze tjelesnih odjeljaka izlučivanjem razgradnih produkata metabolizma i toksičnih tvari, kontrolom volumena i raspodjele tjelesnih tekućina, osmolalnosti, regulacijom kiselosti i razine elektrolita (3). Bubrezi i pluća uključeni su u održavanje kiselosti u organizmu u granicama stabilne pH vrijednosti (3); pluća reguliranjem koncentracije CO<sub>2</sub>, a bubrezi reapsorbiranjem i regeneriranjem bikarbonata iz urina, kao i izlučivanjem vodikovih iona i aniona kiselina u mokraću (6, 7, 8, 9). Bubrežni je i metabolički te endokrino aktivan organ. U bubrežima se stvara hormon eritropoetin, renin i bubrežni prostaglandini, a u bubrežnim intersticijskim peritubularnim stanicama obavlja se i završna pretvorba vitamina D u aktivni oblik kalcitriol (6,7). Eritropoetin je peptidni hormon koji se sintetizira u peritubularnim intersticijskim stanicama bubrežne kore kao odgovor na nisku razinu kisika u krvi, čime se potiče eritropoeza u koštanoj srži (3). Renin luče stanice makule dense, a sastavnica je lokalnog i sistemskog renin-angiotenzin-aldosteronskog sustava (RAAS), hormonskog sustava važnog u regulaciji volumena tjelesnih tekućina, arterijskog tlaka i integriteta endotela na sistemskoj razini (10,11). Aktivan RAAS djeluje višestrukim mehanizmima, a zajednička im je uloga povećana bubrežna reasorpcija natrij klorida, što dovodi do povećanja arterijskog tlaka povećanjem volumena izvanstanične tekućine i sistemske vazokonstrukcije (3). Završnom hidrosilacijom vitamina D te regulacijom prometa kalcija i fosfora bubrežni sudjeluje u održavanju mineralno-koštanog balansa (3, 12). Bubrežni je i metabolički aktivan organ u kojem se prerađuju aminokiseline, obavlja glukoneogeneza, prerađuju i izlučuju hormoni te se metaboliziraju lijekovi i različite endogene i egzogene toksične tvari (3).

Održavanje homeostaze tjelesnih odjeljaka u svakom funkcionalnom nefronu odvija se procesom filtracije, reapsorpcije, sekrecije i ekskrecije. Ovaj proces započinje u bubrežnoj kori te se nastavlja duž bubrežnih tubula koji se protežu kroz bubrežne piramide u bubrežnoj srži (5).

Filtriranje krvi proces je kojim se voda i tvari male molekulske težine propuštaju kroz filtracijsku membranu, a bjelančevine i ostale tvari veće molekulske težine zadržavaju se u krvi. Ovaj proces zbiva se u glomerulu. Udarni volumen srca u mirovanju iznosi oko 5 L/minuti, od čega oko 22 % protječe kroz bubrege te se filtrira (3). Krv koja dolazi u glomerul aferentnom arteriolom filtrira se prolazom kroz kapilarno klupko (6). U odraslog muškarca dio krvi koja se filtrira u jedinici vremena iznosi oko 125 ml/min (90 – 140 ml/min), a u žena 105 ml/min (80 – 125 ml/min), što odgovara ukupnom dnevnom filtriranom volumenu 180 L/ dan u muškaraca i 150 L/dan u žena (6). Prolaskom kroz nefron 99 % glomerulskog filtrata reapsorbira se i vraća u cirkulaciju (4), rezultat čega je oko 1 – 2 L izlučenog urina dnevno (7).

Kompozicija glomerulskog filtrata određena je veličinom i nabojem molekula u krvi, kao i strukturom i električnim nabojem bjelančevina sastavnica filtracijske membrane (4). Fenestrirani endotel glomerularnih kapilara priječi prolaz krvnih stanica i bjelančevina velike molekularne težine, a dopušta prolaz molekula veličine 4 – 8 nm (7). Proteoglikani glomerularne membrane negativnog su električnog naboja, jednako kao i sijaloglikoproteini na površini endotelnih stanica, tako da dopuštaju prolaz pozitivno nabijenih, a priječe filtraciju negativno nabijenih supstancija iz kapilarne krvi (2). Bazalna membrana kapilara priječi filtraciju srednje velikih i velikih bjelančevina u krvi (1). Mezangijske stanice imaju na površini mnogobrojne receptore, uključujući receptore za angiotenzin II (Ang II), vazopresin (ADH), atrijski natriuretski faktor (ANF), prostaglandine, transformirajući faktor rasta  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) i druge faktore rasta (PDGF, EGF, CTGF) (5) i imaju niz funkcija: kontrakcijom sudjeluju u regulaciji filtracijske stope, produkciji ekstracelularnog matriksa te imaju mogućnost migracije iz središnje zone gdje su normalno smještene (2). Podociti, stanice unutarnjeg sloja Bowmanove kapsule, na površini imaju velik broj receptora za citokine/kemokine, hormone i različite druge biološki aktivne tvari te osim što su strukturna sastavnica glomerularne filtracijske membrane, parakrinim i autokrinim signalima reguliraju međudnos endotelnih i mezangijskih stanica (5, 13, 14).

Veličina glomerularne filtracije determinirana je veličinom hidrostatskog i onkotskog tlaka u glomerularnim kapilarama (3, 15). Veličina hidrostatskog tlaka u glomerulu ovisi o sistemskom arterijskom tlaku, simpatičkoj aktivnosti, autoregacijskim mehanizmima i parakrinom lučenju hormona (3). Glomerularna se filtracija održava konstantnom neovisno o promjenama sistemskog arterijskog tlaka, promjenom simpatičkog tonusa te procesom autoregulacije (3). Jukstaglomerularni aparat sudjeluje u regulaciji protoka kroz bubrege i veličini glomerularne filtracije. Stanice makule dense senzorno su mjesto veličine protoka kroz bubrežne tubule te koncentracije NaCl u filtratu (5). Smanjen protok i koncentracija NaCl rezultiraju proizvodnjom hormona renina te aktivacijom RAAS sustava, rezultat čega je sistemska vazokonstrikcija i povećanje volumena tjelesnih tekućina. Pored navedenog, jukstaglomerularne stanice aferentne arteriole u odgovoru na podražaj iz makule dense promjenom tonusa žilnog zida dovode do promjene veličine glomerularnog hidrostatskog tlaka. Na taj se način promjenom aktivnosti RAAS-a i promjenom tonusa aferentne i eferentne arteriole održava intraglomerularni tlak konstantom (3).

Sastav glomerularnog filtrata koji iz prostora Bowmanove kapsule ulazi u proksimalni zavijeni kanalčić mijenja se prolaskom slijedom kanalnog sistema, procesima reapsorpcije iz tubula u peritubularne kapilare ili pak sekrecijom iz peritubularne kapilarne mreže u intersticijsku tekućinu te potom u tubule (3). Reapsorpcija se događa uz pomoć selektivnih receptora na luminalnoj strani stanične membrane (1). Mikrovili četkaste prevlake, poglavito proksimalnog zavijenog kanalčića, znatno povećavaju apsorpcijsku i sekrecijsku površinu.

Većina se elektrolita, glukoze i aminokiselina resorbira, dok se druge tvari kao urea, K, amonijak, kreatinin i neki lijekovi izlučuju ekskrecijom kao otpadni produkti (3).  $H^+$  i  $HCO_3^-$  izlučuju se ili reapsorbiraju, odnosno regeneriraju, ovisno o potrebi (3, 8, 9, 10). Promet vode ovisan je o osmolalnosti i koncentracijskom gradijentu između tubula i peritubularne kapilarne mreže i *vasa recta* (5, 15, 16, 17). Kreatinin, razgradni produkt metabolizma mišića, izlučuje se najvećim dijelom glomerularnom filtracijom, a 10 – 15 % izlučuje se i sekrecijom u proksimalnom tubulu (18). 50 % uree, razgradnog produkta metabolizma bjelančevina, reapsorbira se pasivno u proksimalnom tubulu, a u daljnjem tijeku kroz tubule slobodno difundira i sudjeluje u održavanju koncentracijskog gradijenta i resorpciji vode (5). U proksimalnim tubulima resorbira se oko 60 – 70 % glomerularnog filtrata NaCl i vode te sva filtrirana glukoza (pod pretpostavkom vrijednosti u krvi  $< 10$  mmol/L) (3), aminokiseline te ostale supstance koncentrirane u filtratu (13).

Henleova petlja (HP) tzv. protustrujnim mehanizmom ima ulogu u koncentraciji mokraće i održavanju osmolalnosti tjelesnih odjeljaka (15, 16, 17). Tanki silazni krak HP-a naime vrlo je propustan za vodu i ureu (3, 16), za razliku od usporednog uzlaznog debelog kraka, koji je propustan za natrijev klorid, ali ne i za vodu (17). To omogućava da srž postaje koncentriranija, ali uspostavlja i osmotski gradijent za vodu (15). Distalni zavijeni kanalić mjesto je daljnje resorpcije oko 10 – 15 % NaCl i vode, odnosno sekrecije K i H, kao i resorpcije Ca pod utjecajem 1,25-dihidroksivitamina D i PTH-a (10).

Glavne stanice sabirnih kanalića imaju ulogu u prometu natrija i kalija pod utjecajem aldosterona, a interkalarne stanice u sekreciji, odnosno apsorpciji vodika i bikarbonata (19, 20). Svaki znatniji porast osmolalnosti plazme detektiraju stanice centra za žeđ u hipotalamusu, što je poticaj za pojačano lučenje antidiuretskog hormona hipofize (ADH) s posljedičnim povećanjem reapsorpcije vode u bubregu te povećanjem koncentracije urina (15, 19, 20). ADH se veže na glavne stanice u sabirnim kanalićima, što uzrokuje translokaciju akvaporina na membranu i reapsorpciju vode preko *vasa recta* (19). Akvaporini završnog dijela sabirnih cijevi pod utjecajem ADH-a postaju vrlo propusni za ureu, što povećava koncentracijski gradijent između tubula i intersticija i reapsorpciju vode u *vasa recta*. Na taj način ovaj dio tubularnog sistema ima važnu ulogu u koncentraciji urina te održavanju osmolalnosti tjelesnih tekućina (15, 19). Osim aldosterona kao sastavnice RAAS sistema te ADH-a, cjelokupni je proces stvaranja urina u bubregu pod već spomenutom kontrolom simpatičkog adrenergičkoga sustava (SNS), atrijskog natriuretskog peptida (ANP) te lokalno stvorenih biološki aktivnih tvari kao što su bubrežni prostaglandini (PGI), dušični oksid (NO) i endotelin (E) (6).

Pročišćena krv iz kapilarne mreže prolazi u venule te se u daljnjem tijeku drenira bubrežnom venskom mrežom (2). Podražaj iz simpatičkog živčanog sustava, čija vlakna slijede bubrežne arterije, izaziva bubrežnu vazokontrikciju s posljedičnim smanjenjem protoka krvi kroz bubreg. Bolni se podražaji iz bubrega prenose živčanim vlaknima do Th 10 – 11 segmenta u kralježničnoj moždini te do odgovarajućeg dermatoma (3).

Postoje različite bubrežne bolesti, nasljedne i stečene, a mogu se očitovati poremećajima u strukturi ili funkciji. Završni stadij bubrežnog zatajenja zahtijeva nadomještanje bubrežne funkcije dijalizom, što je neophodno kada je izgubljeno 85 – 90 % funkcije zdravog bubrega, uz GFR 8 – 10 ml/min, a u nekim slučajevima i ranije (6). Metode

nadomjesnog liječenju uključuju hemodijalizu, peritonejsku dijalizu te transplantaciju bubrega kao optimalnu metodu nadomjesnog liječenja (6).

Dijagnostika patološkog stanja i bubrežne bolesti uključuje uzimanje iscrpnih anamnestičkih podataka, sa stavljanjem naglaska na simptome, upalna zbivanja, izlaganje tvarima koje mogu oštetiti bubreg, obiteljsku anamnezu za bubrežne bolesti, uz klinički pregled. Osnovnu paletu dijagnostičkih testova čini pregled krvi i urina, u prvom redu razina uree, kreatinina i elektrolita iz krvi te acido-bazni status. Bazični pregled urina daje nam uvid u razinu pH, specifičnu težinu, prisutnost glukoze, ketona, nitrita, krvi i albumina u urinu (pregled urina trakicom), a mikroskopska analiza sedimenta u prisutnost abnormalnog broja stanica (leukocita, eritrocita) te prisutnost cilindara i kristala (21). Procjena filtracijske sposobnosti bubrega obavlja se izračunom glomerularne filtracije (GFR), odnosno klirensa endogenog kreatinina temeljem vrijednosti iz krvi i skupljenog 24-satnog urina, što znači procjenu količine krvi koja se u jedinici vremena očisti od kreatinina (22). Osim navedenog, pregled 24-satnog urina daje nam uvid i u otklone u izlučivanju pojedinih elektrolita i drugih supstancija, albumina i nealbuminskih bjelančevina uz mogućnost kvantifikacije te osmolalnosti urina kao pokazatelja koncentracijske sposobnosti bubrega (22). Osnovna je metoda za detektiranje morfoloških otklona ultrazvuk, a sofisticiranije su metode u pretraživanju za bubrežnu bolest scintigrafija bubrega (dinamička i statička), radiološke beskontrastne i kontrastne pretrage (urografija), CT i MRI (23). Kada etiologija bolesti nije jasna, zlatni je standard dijagnostike biopsija bubrega uz pregled bioptičkog materijala svjetlosnim mikroskopom (SM), elektronskim mikroskopom (EM) te imunofluorescentnom mikroskopijom (IF) (2).

Danas se koristi više standardnih tehnika bojenja za pregled svjetlosnom mikroskopijom (hemalaun eozin bojenje, PAS, Masson's trikrom, Jones bojenje srebrom) (2). Imunofluorescentne tehnike koriste se za detekciju specifičnih protutijela, bjelančevina, fibrina te depozita komplementa i u suvremenoj nefropatologiji neizostavan su alat za preciznu dijagnostiku, poglavito bolesti glomerula (2). Elektronsko-mikroskopske pretrage još uvijek nisu široko dostupne, ali su nužne za dijagnostiku pojedinih kliničkih entiteta kao što je bolest minimalnih promjena (BMP), hereditarni nefritis, za razlikovanje primarne od sekundarne fokalne segmentalne glomeruloskleroze (FSGS), kao i za finije strukturiranje te procjenu stupnja pojedinih bolesti (primjer je membranska nefropatija, MN) (24). Pokazano je da je ultrastrukturalna analiza EM, uz standardni pregled SM i IF, nužna za postavljanje pravilne dijagnoze u petini ukupno analiziranih slučajeva (25).

### **1.3. Bubrežne bolesti**

Bubrežne bolesti čine heterogenu skupinu poremećaja bubrežne strukture i funkcije (26, 27, 28). Često su asimptomatske ili pak oligosimptomatske i prezentiraju se nespecifičnim simptomima čak i u uznapredovalim stadijima (27). Svega je nekoliko kliničkih sindroma usko specifičnih za bolesti bubrega i često su potrebne dopunske laboratorijske pretrage u cilju definiranja pojedinačnog kliničkog sindroma (26).

#### **1.3.1. Podjela bubrežnih bolesti**

Prema patofiziološkom mehanizmu, bubrežne bolesti mogu se okvirno podijeliti u imunološki posredovane, bolesti bubrega koje su posljedica tkivne hipoksije, odnosno ishemije, bolesti nastale toksičnim djelovanjem egzogenih (npr. lijekovi) ili pak endogenih tvari (hiperglikemija, paraproteini i dr.) te genetski određene, a ovisno o mjestu primarne i prevladavajuće ozljede na bolesti glomerula, tubulointercicija te vaskularne bubrežne bolesti. Neovisno o uzroku, odnosno primarnoj ozljedi, konačni je rezultat kronične bubrežne bolesti glomeruloskleroza i fibroza tubulointercicija (28).

Bolesti glomerula mogu biti nasljedne, primjer čega jest hereditarni nefritis – Alportov sindrom (AS), X-vezana mutacija alfa 5 lanca kolagena bazalne membrane te bolest tankih membrana (28).

Stecene glomerularne bolesti sukladno patohistološkom uzorku mogu biti:

- proliferacijske, s odloženim imunoglobulinima ili bez odloženih imunoglobulina i s različitim stupnjem upale; primjer su lupus nefritis, anti-GBM bolest/sindrom, postinfekcijski glomerulonefritis (PIGN, s depozitima) te pauci-imuni GN (bez depozita)
- neproliferacijske (bez proliferacije stanica i upale); u ovoj su skupini fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS) i bolest minimalnih promjena (BMP) kao bolesti bez depozita te membranska nefropatija (MGN) s odlaganjem depozita u bazalnoj membrani
- bolesti glomerula u sklopu sistemskih bolesti, kao što su dijabetička nefropatija, amiloidoza i paraproteinemije (28).



U skupini neproliferacijskih bolesti, kao i u dijabetičkoj nefropatiji promjene podocita imaju središnju ulogu (29). Proliferacijske bolesti, naprotiv, mogu biti posljedicom odlaganja imunokompleksa (poststreptokokni GN, hepatitis C vezani krioglobulinemički GN), stvaranja antitijela protiv komponentni bubrežnog tkiva (Goodpasturov sindrom ili anti-GBM bolest) te ANCA (antitijela protiv neutrofilnih citoplazmatskih antigena) posredovane (30). Imuni kompleksi mogu biti deponirani u mezangiju (IgA nefropatija, HSP), subendotelno (LN stadij III, MPGN) ili subepitelno (MGN ili LN stadij V). Odloženi ili u tkivu stvoreni imunokompleksi pokreću lokalnu upalnu reakciju s aktivacijom komplementa i ozljedom (28). T-stanice mogu biti važan medijator, odnosno modulator produkcije nefritogenih protutijela, poglavito u pauci-imunom GN-u. Topivi čimbenik T-limfocita ima također ulogu u patogenezi bolesti minimalnih promjena i FSGS (30). Posljedica glomerularne upale može biti djelomični ili potpuni oporavak ili pak fibroza različitog stupnja, u čijem nastanku bitnu ulogu ima TGF beta i CTGF (31).

Neimunološke bolesti glomerula mogu biti hemodinamski uvjetovane, metaboličke i toksične, te djelovati izolirano ili pak udruženo s imunološkim čimbenicima. Primjer su sistemska arterijska hipertenzija te glomerularna hipertenzija, zadnja kao normalni adaptivni mehanizam u ostatnim funkcionalnim nefronima (28, 31).

Tubulointercij čini više od 90 % bubrežne mase te stoga nije neobična činjenica da je stupanj ozljede tubulointercija, čak i kod primarnih bolesti glomerula, prognostički važan čimbenik (28). Bolesti tubulointercija mogu biti prirođene (primjer je policistična bolest bubrega) (32) ili stečene, uvjetovane imunološkim mehanizmima (tubulointercijski nefritis) pokrenutim različitim uzrocima (npr. lijekovi, infektivni uzročnici), toksičnim učinkom endogenih (npr. laki lanci proteina, albumin, hemoglobin i mioglobin kod rabdomiolize i hemolitičkih kriza) ili egzogenih tvari (lijekovi, teški metali) (33).

Ishemija u sklopu promjena velikih krvnih žila bubrega (npr. kod tromboemboličkih indidenata), odnosno malih krvnih žila bubrega (mikroangiopatije, maligna nefroangioskleroza,) mogu također dovesti do akutnih i kroničnih ozljeda bubrega (34).

### 1.3.2. Definicija i stadiji bubrežne bolesti

Bubrežne bolesti dijele se na akutne i kronične (26). Danas su općeprihvaćene definicije pojedinačne grupe bolesti prema smjernicama radnih grupa eksperata iz područja nefrologije: *National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative guidelines* (NKD-KDOQI), *Canadian Society of nephrology* (CNS), *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) i *European Renal Best Practices* (ERBP) (26, 27). Potreba jedinstvene i racionalne definicije bubrežnih poremećaja, kao i klasifikacija bubrežnih bolesti nužna je u cilju bolje komunikacije kliničara u nefrološkoj zajednici, kao i između nefrologa i ostalih medicinskih struka te šire javnosti, a u cilju rane detekcije i liječenja. Vodeći su kriteriji nužni za definiciju poremećaja strukturne abnormalnosti i funkcionalni parametri. Strukturni poremećaji podrazumijevaju makroskopske i one dobivene patohistološkim pregledom bioptičkog materijala bubrega. Funkcionalni se poremećaji definiraju temeljem postojećih znakova i simptoma te laboratorijskih pretraga, što uključuje određivanje razine ostatnih spojeva dušika u krvi, pregled sedimenta urina, određivanje ACR-a, statusa elektrolita, kiselosti krvi te drugih laboratorijskih otklona vezanih za poremećaj funkcije bubrežnih tubula, veličinu glomerularne filtracije, a sve navedeno uklopljeno u vremenski okvir u kojem se poremećaji pojavljuju i perzistiraju (26, 35).

Akutna bubrežna bolest (ABB) prema definiciji uključuje akutno bubrežno oštećenje (ABO), definirano iznenadnim i naglim (svakodnevnim) porastom serumskog kreatinina u vremenu do tjedan dana, odnosno pogoršanjem filtracijske funkcije bubrega, a što je udruženo s promjenama u krvi i urinu, morfološkim promjenama utvrđenim radiološkim i drugim pretragama ili nalazom biopsije bubrega, u vremenskom okviru  $\leq 3$  mjeseca (26). Kronična bubrežna bolest (KBB) definirana je strukturnim ili funkcionalnim poremećajima, s pridruženim smanjenjem filtracijske sposobnosti bubrega ili bez njega, odnosno s glomerularnom filtracijom  $GFR \leq 60$  ml/min, a koje traju  $\geq 3$  mjeseca (27). Prema KDIGO smjernicama iz 2012. godine kronična bubrežna bolest klasificira se prema vrijednosti glomerularne filtracije, razini albumina u urinu te uzroku kroničnog bubrežnog zatajenja (35). Sukladno smjernicama, pet je stupnjeva KBB-a: G1:  $GFR > 90$  ml/min, G2:  $GFR > 60 - 89$  ml/min, G3a:  $GFR 45 - 59$  ml/min, G3b:  $GFR 30 - 44$  ml/min, G4:  $GFR 15 - 29$  ml/min, G5: terminalna bubrežna bolest (ESRD, *end-stage renal disease*) s  $GFR < 15$  ml/min ili potrebom za nekim od modaliteta nadomjesnog liječenja definitivnog bubrežnog otkaza, dijalizom ili transplantacijom bubrega (35).

GFR se jednostavno može izračunati iz kalibriranog serumskog kreatinina korištenjem jedne od raspoloživih formula, kao što je MDRD (engl. *Modification of Diet in Renal Disease*), Cockcroft-Gaultova formula te CKD-EPI, ili izračunom klirensa kreatinina iz krvi i 24-satnog urina. Svaka od ovih metoda ima neke nedostatke, što može imati za posljedicu precjenjivanje ili podcjenjivanje glomerularne filtracije u pojedinačnim slučajevima te je potrebno poznavanje određenih kliničkih situacija u kojima je primjena pojedine metode manje pouzdana. Uopćeno, kod znatno narušene bubrežne funkcije, poglavito u završnom stadiju, najadekvatnija je procjena ostatne bubrežne funkcije, odnosno glomerularne filtracije uprosječenom sumom klirensa uree i kreatinina u 24-satnom urinu (27, 36).

Svaki se stadij KBB-a sukladno preporukama definira i razinom albuminurije u 24-satnom urinu, odnosno omjerom albumin/kreatinin u uzorku urina (ACR), kako slijedi: A1: ACR < 30 mg/g (uredan nalaz), A2: ACR 30 – 300 mg/g, i A3: ACR > 300 mg/g te uz pridruženu oznaku uzroka KBB-a (ako je poznat) (35). Albuminurija (AER > 30 mg/24 h; ACR > 30 mg/g, odnosno > 3 mg/mmol) nije samo pokazatelj oštećenja bubrega već je i pokazatelj endotelnog poremećaja na sustavnoj razini te je važan pokazatelj rizika lošeg kliničkog ishoda (35, 36, 37). Ova klasifikacija (CGA klasifikacija: engl. *cause, glomerular filtration rate, albuminuria*) bazirana na trima dimenzijama KBB-a na jednostavan način daje vrijednu informaciju procijenjenog rizika i prognoze budućih zbivanja, što se odnosi na gubitak bubrežne funkcije, srčano-žilne događaje i prijevremeni smrtni ishod (35). Time ova klasifikacija predstavlja temelj za planiranje i implementaciju preventivnih mjera i postupaka, prilagodbu ritma praćenja i terapijskih postupaka, a u cilju poboljšanja sveukupnog ishoda za pojedinog bolesnika (35, 38).

### ***1.3.3. Epidemiologija, uzročni čimbenici i čimbenici progresije kroničnih bubrežnih bolesti***

Bubrežne su bolesti rastući javnozdravstveni problem i zahvaćaju više od 850 milijuna osoba u svijetu (39, 40). Zastupljenost ovog problema znatno varira u pojedinim dijelovima svijeta, jednako kao i detekcija bolesti i liječenje. Procjenjuje se da je prevalencija KBB-a u svijetu 11 – 13 %, s najvećim brojem oboljelih u stadiju 3 (41). Prevalencija i incidencija KBB-a pokazuju trend porasta, što je vezano za porast prevalencije glavnih uzroka: šećerne bolesti tipa 2, hipertenzije i pretilosti (39, 42, 43). Važan čimbenik koji doprinosi porastu svakako je i produženje životnog vijeka svjetske populacije (44). Poboljšanje medicinskih intervencija i skrbi te veće odvajanje za zdravstvenu skrb imaju za posljedicu dulje preživljenje u općoj populaciji, pa tako i u populaciji bubrežnih bolesnika (44, 45, 46). Uvođenje mnogobrojnih sofisticiranijih izvantjelesnih metoda nadomjesnog liječenja bubrežnog otkaza, poglavito kontinuiranih metoda kod kritično bolesnih pacijenata u jedinicama intenzivne skrbi, znatno su poboljšali ishod liječenja, ali su povećali i broj kroničnih bubrežnih bolesnika (45, 46).

Vodeći uzroci, tzv. tradicionalni čimbenici odgovorni za globalni porast populacije bolesnika s KBB-om jesu dijabetes, arterijska hipertenzija i debljina (47). Šećerna bolest tipa 2 vodeći je uzrok KBB-a diljem svijeta (35). Prema izvještaju Chana i suradnika, 2016. godine 1 od 11 odraslih stanovnika u svijetu bolovao je od dijabetesa (42). Prema izvještajima USRDS-a u SAD-u polovina bolesnika s ERDS-om ima dijabetičku nefropatiju (48, 49, 50). Oko jedna milijarda svjetske populacije osobe su s povišenim krvnim tlakom, a arterijska hipertenzija drugi je vodeći uzrok bubrežnog zatajenja, s 15 – 30 % bolesnika u završnom stadiju bubrežne bolesti (51). Više od 90 % bolesnika s uznapredovalom bubrežnom bolesti ima arterijsku hipertenziju (43), a adekvatna kontrola arterijskog tlaka važna je mjera kojom se usporava gubitak bubrežne funkcije, odnosno progresija KBB-a (35).

Glomerulonefritis je uzrok ESRD-a u manje od 10 %, a cistične bubrežne bolesti u 2 – 3 % bolesnika s ESRD-om; svi ostali uzroci ESRD-a manje su zastupljeni (5). Procjenjuje se da je broj bolesnika u završnom stadiju glomerularnih bubrežnih bolesti ovisnih o nadomjesnom liječenju u porastu i varira od 6, 5 do 27 milijuna osoba godišnje (50, 52). Važno je spomenuti povijest epizode akutnog oštećenja bubrega (AOB) kao znatnog čimbenika rizika i uzroka KBB-a (53).

Velik broj bubrežnih bolesti očituje se istim ili sličnim kliničkim sindromima; biopsija je bubrega u takvim slučajevima zlatni standard konačne dijagnoze (24). U Hrvatskoj se posljednjih godina radi na formiranju nacionalnog registra biopsijom dokazanih bubrežnih bolesti u odrasloj i u pedijatrijskoj populaciji. Postojanje ovakvih registara na nacionalnoj razini čini bazu podataka potrebnih za bolje razumijevanje etiopatološkog aspekta bolesti te identifikaciju i praćenje čimbenika vezanih za progresiju bolesti. Nadalje, kombiniranje ovih podataka s onima iz nacionalnog registra nadomjesnog liječenja pruža nam uvid u dugoročno ponašanje i prognozu pojedinih bubrežnih bolesti (24, 54).

Retrospektivna epidemiološka studija zastupljenosti biopsijom dijagnosticiranih bubrežnih bolesti u odrasloj populaciji u splitsko-dalmatinskoj regiji u 20-godišnjem razdoblju pokazala je najveću zastupljenost IgA GN-a (21 %), FSGS-a (19 %) i MN-a (13 %), zastupljenost LN-a, BMP-a i MPGN-a bila je po 8 % za svaki entitet, dok su ostale bubrežne bolesti zabilježene u znatno manjem postotku. Ovi su podatci u suglasju s rezultatima studije provedene u tercijarnim centrima u Zagrebu (24); u većini izvještaja svjetskih nacionalnih/regionalnih centara MN je druga po učestalosti nakon IgA GN-a (54). Prema rezultatima recentno objavljene studije provedene u KBC-u Split u pedijatrijskoj populaciji najčešći je nalaz bio IgA GN (24 %), BMP (17 %) i HSP (15 %) te AS i FSGS s po 11 % (55). Navedeni rezultati su u nesuglasju s podacima starije epidemiološke studije pedijatrijske populacije provedene u KBC-u Split, gdje je MePGN bio najčešći patohistološki obrazac (28 %) (56); različitost rezultata objašnjava se reklasifikacijom patohistološkog nalaza (55).

Najčešća indikacija za biopsiju bubrega u odrasloj populaciji u KBC-u Split bila je nefrotski sindrom (64 %), asimptomatski nalaz u urinu (13 %) te akutno bubrežno zatajenje (9 %), što je u podudarnosti s većinom izvještaja iz svjetske literature.

Čimbenici koji su povezani s rizikom pojavnosti i progresije KBB-a jesu tip bubrežne bolesti, starosna dob, spol, rasa, niska porođajna tjelesna masa, bubrežna bolest u članova obitelji, razina glomerularne filtracije, ukupna razina albumina/proteina u mokraći, loše kontrolirana hiperglikemija i arterijska hipertenzija, pušenje, pretilost te anamneza srčano-žilnih bolesti (26, 48). Za primjer, Afroamerikanci su posebno podložni razvoju KBB-a (57), kao i osobe visoke životne dobi (58) te osobe niske porođajne težine, što podrazumijeva manji broj nefrona pri rođenju (59, 60), muškarci više nego žene (61,62). Parenhimne i žilne promjene te pad minutnog volumena srca kao posljedice fiziološkog procesa starenja

dovode do smanjenja klirensa kreatinina. Između 30. i 75. godine života prosječno godišnje smanjenje u inače zdrave odrasle osobe iznosi od 0,7 do 0,9 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> površine tijela na godinu) (61, 63). Prema izvještajima NKD-KDOQI-ja, procjenjuje se da više od polovine starije populacije ima KBB 3. – 5. stadija (GFR < 60 ml/min) (61).

Kronična izloženost nefrotoksičnim tvarima, kao što su analgetici, uživanje alkohola, uporaba sredstava ovisnosti, infekcije kao hepatitis C, B, HIV, maligne bolesti i ranije epizode AOB-a (neovisno o uzroku) daljnji su čimbenici rizika KBB-a (47, 48). Među novijim prepoznatim čimbenicima spominju se i apneja tijekom sna (OSA, engl. *obstructive sleep apnea*) (48, 64), povišene serumske razine mokraćne kiseline (48, 65), bolesti periodonta (48, 66) te ubrzan rad srca (48, 67).

#### ***1.3.4. KBB i srčano-žilne bolesti***

Kronična bubrežna bolest poznati je čimbenik rizika sveukupne smrtnosti te smrtnosti vezane za srčano-žilne bolesti (SŽB) (36). Srčano-žilne bolesti primarni su uzrok morbiditeta i mortaliteta u razvijenim zemljama i zemljama u razvoju, a KBB je prepoznat kao jedan od najznačajnijih i neovisnih čimbenika rizika i akcelerator za razvoj srčano-žilnih bolesti i zbijanja (68). Uzročnost KBB-a i SŽB-a prvi je put prepoznao 1936. godine dr. Richard Bright, što je naknadno potvrđeno mnogobrojnim epidemiološkim studijama (69). Rizik SŽB-a raste s pogoršanjem ekskrecijske bubrežne funkcije i porastom proteinurije (70). Prema dostupnim izvještajima prevalencija SŽB-a u bolesnika s KBB-om udvostručena je u odnosu na nebubrežnu populaciju (52) te zapravo većina bolesnika u stadiju 3 i 4 KBB-a (GFR 30 – 60 mL/min / 1,73 m<sup>2</sup>) umire od srčano-žilnih bolesti prije završnog stadija (71). 50 % bolesnika u završnom stadiju KBB-a umire od SŽB uzroka (71, 72). Procjenjuje se da je u populaciji bolesnika u završnom stadiju KBB-a smrtnost od SŽB-a 15 do 30 puta veća negoli u istim dobnim skupinama u općoj populaciji (73, 74), što se odnosi na sve dobne skupine, a poglavito na one mlađe životne dobi (25 – 34 godine), gdje je smrtnost od srčano-žilnih bolesti do 500 puta veća u odnosu na osobe s urednom bubrežnom funkcijom (71).

Tradicionalni čimbenici rizika SŽB-a kao visoka životna dob, arterijska hipertenzija, dislipidemija, šećerna bolest, pušenje i pretilost česti su u populaciji kroničnih bubrežnih bolesnika (75, 76). Ovim se čimbenicima pridružuju i tzv. netradicionalni, usko specifični ili bar znatno češći u ovoj populaciji bolesnika u odnosu na opću populaciju:

albuminurija/proteinurija, anemija, hiperperatireoidizam, odnosno mineralno-koštani poremećaj, hiperhomocisteinemija, proteinsko-energetska pothranjenost, upala, disfunkcija endotela i oksidativni stres. Netradicionalni čimbenici imaju znatan aditivni učinak na progresiju ateroskleroze i arterioloskleroze te progresiju KBB-a (75).

Postupci liječenja dijalizom spadaju među najskuplje postupke liječenja. Sveukupni troškovi liječenja bolesnika s KBB-om koji se izdvajaju iz zdravstvenog proračuna u razvijenim zemljama procjenjuju se na 1, 3 % (73, 74), od čega je 13 % vezano za troškove liječenja preboljelih velikih SŽ-događaja, kao što je infarkt miokarda i moždani udar u kroničnih bubrežnih bolesnika (76, 77).

Slijedom izloženog, jasna je potreba prevencije te rane detekcije i liječenja bubrežne bolesti, neovisno u uzroku. Patofiziološki mehanizmi i rizični čimbenici kronične bubrežne ozljede u pojedinim bubrežnim bolestima i danas se intenzivno istražuju s ciljem prevencije, pravovremenog i ciljanog liječenja, a u cilju sprečavanja, odnosno barem usporavanja napredovanja i posljedica KBB-a. Specifični čimbenici i biljezi mogu se koristiti za proučavanje razvojnih putova i promjena u bubrežnim bolestima.

U ovom istraživanju koriste se dva biljega, SATB1 i PTEN.

#### **1.4. SATB1 (engl. Special AT- rich sequence Binding protein)**

SATB1 je tkivno specifična jezgrina matriks vezujuća bjelančevina, odgovorna za regulaciju strukture kromatina i izražaj tkivnih specifičnih antigena (78, 79). Gen koji kodira SATB1 lokaliziran je na kromosomu 3p23, a bjelančevina koju kodira sadrži 763 aminokiseline (78). SATB1 organizira nuklearni matriks i DNK u jedinstvenu nuklearnu strukturu (80, 81) te sposobnošću utjecaja na gensku ekspresiju sudjeluje u različitim procesima kao što su proliferacije, diferencijacija, apoptoza i DNA reprogramiranje, omogućavajući prilagodbu stanice na unutarnje s vanjske promjene (81). SATB1 regulira gensku ekspresiju dvojako: izravnim učinkom na ciljne gene ili se pak kao odgovor na pojedine signale veže za određene strukture matriksa mijenjajući kromatinsku strukturu (82) i time dostupnost za transkripcijske/rekombinacijske čimbenike, s posljedičnom represijom ili supresijom genomske aktivnosti (83, 84).

U normalnim okolnostima, odnosno u zdravim tkivima SATB1 ekspresija slabo je izražena (78, 79), osim u T-limfocitima i ranim stadijima eritroidnih stanica, gdje ima važnu ulogu u razvoju, diferencijaciji i održavanju stanične homeostaze te odgovoru na različite podražaje (78, 85). Osim u T-stanicama, u fiziološkim uvjetima SATB1 vrlo je slabo izražen i u drugim stanicama limfnog tkiva i koštane srži te u drugim tkivima kao što su mozak, slijepo crijevo, pluća, prostata, slezena, štitnjača, bubreg, mokraćni mjehur i drugo (80). SATB1 regulira ekspresiju više od 1 000 gena koji su uključeni u 61 biološki proces (78).

Povećan izražaj SATB1 pronađen je u stanicama različitih vrsta karcinoma, kao što su karcinom bubrega, dojke, prostate, jajnika, kolorektalni karcinom, karcinom pluća, melanom, gliom (80, 81, 83, 85-90), a dokazan je i porast njegova izražaja s rastom tumorske mase i u udaljenim metastazama (81, 86, 88 – 91). Studija Tu i suradnika dokazala je da SATB1 može utjecati na povećanje tumorske mase poticanjem ekspresije više od 100 gena vezanih za tumorski rast i metastaze te smanjujući ekspresiju tumor-supresorskih gena (81). Istraživanja su pokazala da je povećani izražaj SATB1 vezan za epitelno-mezenhimalnu tranziciju (EMT), s posljedično smanjenom međustaničnom povezanošću, povećanom agresivnosti tumora i povećanom smrtnosti (92, 93, 94). Povećani izražaj SATB1 može preko EMT-a biti pokazatelj napredovanja agresivnog fenotipa karcinoma bubrežnih stanica, njegove invazije i metastaziranja (81). Povećana ekspresija SATB1 nađena je u bubrežnom tkivu dijabetičnih miševa tijekom starenja (94). U studiji Zhu i suradnika



pokazana je pojačana apoptoza podocita, hipertrofija mezangija i fibrogeneza uz pojačanu ekspresiju SATB1 i aktivaciju Wnt/ $\beta$ -katenina u dijabetičkih miševa (95).

### **1.5 PTEN (engl. Phosphatase and Tensin Homolog)**

PTEN (engl. *Phosphatase and TENSin homolog*) otkriven je 1997. godine kao tumor-supresorski gen, lociran na kromosomu 10q23 (96, 97). Bjelančevina koju kodira u bazičnoj formi sadrži 403 aminokiseline (97). Strukturnu domenu ovog proteina čini tenzin, a katalitička domena ima aktivnost fosfataze dvojne specifičnosti, čiji su ciljni supstrat bjelančevine i lipidi (98, 99) te pokazuje učinke u citoplazmi i staničnoj jezgri (100). PTEN je glavna komponenta signalnog puta fosfatidilinozitol 3-kinaze/bjelančevinske kinaze B (101), pri čemu mu je uloga ograničavanje njegove aktivnosti (102). Aktivirana fosfatidilinozitol 3-kinaza fosforilira lipide stanične membrane formirajući oblik fosfatidilinozitol 3, 4, 5 trifosfatazu (103), a Akt, serin/treonin kinaza interakcijom s fosfoinozitudima veže se na membranu te biva aktivirana (102, 104).

Aktivirani Akt fosforiliranjem više od 100 unutarstaničnih bjelančevina ima širok raspon učinka na stanice (105, 106), što se odnosi na regulaciju staničnog metabolizma, rasta, proliferacije, migracije apoptoze (100, 101, 105). PTEN defosforilira fosfatidilinozitol 3-fosfat čime se zaustavlja daljnja aktivacija ovisnih kinaza PI3K i AKT (105). PI3K/AKT često je u interakciji s drugim unutarstaničnim signalnim putovima te je reguliran višestrukim mehanizmima (104, 105, 106). Nalazi se u mnogim tkivima kao što su slijepo crijevo, nadbubrežna žlijezda, koštana srž, masno tkivo, mozak, debelo crijevo, dvanaesnik, maternica, slezena, mokraćni mjehur, bubreg, prostata (94). PTEN-Long, sekrecijska translacijska varijanta PTEN-a, ima aktivnost fosfataze i peterostruko veći afinitet za ciljni supstrat te sposobnost transmembranskog i međustaničnog prijenosa u egzosomima (100). Smanjene razine PTEN-Long nađene su u serumu i tkivu bolesnika s karcinomom bubrega i nefritisom, što ga čini potencijalnim biomarkerom za dijagnozu i liječenje nefritisa (107, 108).

PTEN djeluje i putovima neovisnim o signalnom putu PI3K/AKT (100). Ispoljava i aktivnost protein fosfataze, što je odgovorno za pojedine biološke učinke kao što je inhibicija stanične migracije i zaustavljanje staničnog ciklusa (100, 109, 110). U staničnoj jezgri PTEN sudjeluje u održavanju integriteta, reparaciji i stabilnosti kromatinske strukture (99) te podržava degradaciju pojedinih onkoproteina (101). Na taj način, putovima ovisnim i neovisnim o

signalnoj kaskadi PI3K/AKT, PTEN ima važnu ulogu u regulaciji genomske stabilnosti, staničnog rasta, obnove i migracije (98) te djeluje proapoptotički i tumor-supresorski (100, 111). Smanjeni ili pak potpuni gubitak aktivnosti PTEN-a kao posljedice somatskih mutacija ili pak uzrokovan epigenetskim mehanizmima opisan je u nizu humanih malignoma (100).

Nasljedni gubitak PTEN-aktivnosti manifestira se u nekoliko tzv. PTEN hamartom sindroma (112, 113, 114). PTEN ima učinka i u mehanizmima prirođene i stečene imunosti (98) te time pored tumorigeneze i u patogenezi autoimunih bolesti (115 – 121). Smanjena ekspresija PTEN-a nađena je u podocitima i mezangijskim stanicama dijabetičkih eksperimentalnih životinja te u čovjeka (122), kao i u epitelnim stanicama bubrežnih tubula dijabetičnih štakora (123). Studija Gao i Han pokazala je supresijsku ulogu PTEN-PI3K/AKT u patogenezi mezangijske upale i proliferacije (124). Smanjen izražaj PTEN-a dovodi do pojačanog izražaja TGF beta 1 ciljnih gena te aktivacije p53 i SMAD 2/3 signalnog puta, čime potencira razvoj fibroze u bubregu (125). Aktivacija PTEN signalnog puta uz PTEN depleciju s posljedičnim razvojem fibroze dokazan je i u drugim tkivima (102, 126, 127).

Pokazano je da PTEN ima ulogu i u ozljedi bubrega posredovanoj lijekovima. U akutnoj bubrežnoj ozljedi uzrokovanoj cisplatinom smanjena ekspresija PTEN-a i smanjena p53 aktivnost rezultirala je povećanjem upalne aktivnosti i apoptoze stanica (128). Kronične bubrežna ozljeda kao posljedica primjene ciklosporina u pokusnih životinja bila je povezana sa smanjenjem ekspresije PTEN-a s posljedicom EMT-a (129). Inhibicija PTEN-aktivnosti modulacijom PI3K/Akt povećava fibrozu bubrega u eksperimentalnih životinja nakon ishemija/reperfuzija ozljede (130, 131). U studiji Bao i sur. smanjena ekspresija PTEN-a uz povećanu aktivnost Akt-a nađena je u podocitima i tubularnim epitelnim stanicama bolesnika s IgA nefropatijom (132). U bolesnika s lupus nefritisom dokazana je negativna sveza stupnja izražaja PTEN-a i stupnja proliferacije u glomerulu (133), a inducirano povećanje izražaja PTEN-a u pokusnih životinja supresijom signalnog puta PI3K/Akt imalo je za posljedicu smanjenje aktivnosti bolesti (134). PTEN je regulator metabolizma glukoze, masti i mitohondrijskog metabolizma te PI3K/Akt ovisnim i neovisnim putovima smanjuje osjetljivost na inzulin i inhibira stanični rast i preživljavanje (99).

Prema našim saznanjima dosad nije objavljena studija koja istražuje izražaj obaju biljega u humanim nemalignim bubrežnim bolestima.

## 2. CILJ RADA I HIPOTEZA

Cilj ovog istraživanja bilo je dobivanja uvida u izražaj imunohistokemijskih biljega SATB1 i PTEN-a u stanicama humanog bubrežnog tkiva, i to u stanicama glomerula, proksimalnog i distalnog tubula, u zdravom bubregu i u bubrežima zahvaćenim nekim oblikom primarne ili sekundarne bubrežne bolesti, isključujući maligna oboljenja.

Pretraživanjem literature dosad objavljenih rezultata istraživanja vezanih za ovu temu, evidentno je da postoji dosta neistraženog. Naime, dosad su objavljeni rezultati istraživanja pojedinačnih biljega, SATB1 ili PTEN-a u malignoj bolesti bubrega, kao i pojedinačne studije koje se odnose na izražaj PTEN-a u pojedinim nemaligim bubrežnim bolestima te samo jedna studija koja je pratila izražaj obaju biljega u dijabetičkih pokusnih životinja. Pretraživanjem dostupne literature nismo pronašli istraživanja istovremenog izražaja obaju biljega u humanim bubrežima zahvaćenim nekim oblikom nemaligne bolesti, kao niti pojedinačnog istraživanja izražaja SATB1. Respektirajući saznanja dosad objavljenih studija, mišljenja smo da se radi o interesantnom i široko neistraženom području te da će rezultati i spoznaje ove studije dati okvirna saznanja o ponašanju i važnosti izražaja pojedinih biljega u humanim bubrežnim bolestima te ih u perspektivi pozicionirati kao dijagnostičke i prognostičke čimbenike te potencijalni terapijski cilj.

### **Sporedni ciljevi istraživanja:**

- a) Primjenom dvostrukog bojenja (imunofluorescencije) istražiti raspodjelu pojave biljega SATB1 i PTEN-a, kao i jačinu njihova izražaja u tkivu zdravog bubrega te u tkivu bubrega koji je izmijenjen zbog utjecaja bolesti.
- b) Primjenom dvostrukog bojenja (imunofluorescencije) usporediti stopu izražaja i jačinu izražaja biljega SATB1 i PTEN-a u različitim bubrežnim strukturama (glomerul, proksimalni i distalni tubul) između zdravog bubrežnog tkiva i tkiva izmijenjenog zbog utjecaja bolesti.
- c) Opservacija razlika u intenzitetu i raspodjeli izražaja biljega SATB1 i PTEN-a kod pojedinih bubrežnih bolesti prema stupnju proliferacije/upale.

S obzirom na dosadašnja saznanja, očekivan je povećan izražaj biljega SATB1, a smanjen izražaj PTEN-a u tkivu bubrega zahvaćenim bolešću u odnosu na zdrave bubrege.

Pretpostavka je bila da će promjene biti najizraženije u pojedinim bubrežnim strukturama, ovisno o vrsti bubrežne bolesti te da će izražaj biljega SATB1 biti veći u skupini bubrežnih bolesti s većim stupnjem proliferacije.

### **3. MATERIJALI I METODE**

#### ***3.1. Etika***

Istraživanje je provedeno uz suglasnost Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split, u suglasju s postulatima Helsinške deklaracije.

Istraživanje je započeto 2018. godine u okviru znanstveno-istraživačkog projekta koji je financirala Hrvatska zaklada za znanost. Doktorska disertacija financirana je projektom Hrvatske zaklade za znanost: Karakterizacija kandidat gena za kongenitalne anomalije bubrega i urotrakta (CAKUT) tijekom razvoja u miša i čovjeka IP-06-2016-2527, a sufinancirana je sredstvima Programa tehnološkog razvoja, istraživanja i primjene inovacija Splitsko-dalmatinske županije pod naslovom Jačanje kapaciteta za razvoj istraživanja i dijagnostike bolesti bubrega.

#### ***3.2. Sakupljanje tkiva i imunohistokemija***

U Zavodu za patologiju KBC-a Split od siječnja 2018. do ožujka 2020. godine prikupljena su 32 uzorka bubrežnih tkiva promijenjenih uslijed bolesti, a dobiveni su perkutanom biopsijom bubrega bolesnika hospitalno liječenih i obrađivanih u Zavodu za nefrologiju i dijalizu i Zavodu za reumatologiju KBC-a Split. Dijagnostičke biopsije urađene su pod kontrolom ultrazvuka, uz korištenje automatskog perkutanog bioptičkog instrumenta (Biopty TM). Dobiveni cilindri tkiva pripremljeni su standardiziranim metodama. Devet kontrolnih uzoraka činilo je periferno zdravo bubrežno tkivo nakon kirurškog zahvata zbog novotvorine bubrega; tri su uzorka naknadno isključena zbog podatka o povišenim razinama glikemije iz dostupne medicinske dokumentacije, uz prateće patohistološke promjene. Uzorci su pregledani u Zavodu za patologiju KBC-a Split svjetlosnim mikroskopom te metodom imunofluorescencije. Konačni patohistološki zaključak temeljio se na pregledu uzoraka elektronskim mikroskopom, što je urađeno u Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu.

Patohistološke dijagnoze uzoraka bubrega izmijenjenog bolešću bile su kako slijedi: IgA nefropatija (IgA GN) 12 uzoraka, Henoch-Schönlein nefritis (HSN) 4, fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS) 7, bolest minimalnih promjena (MCD) 2, membranska

nefropatija (MGN) 2, glomerulonefritis s polumjesecima (ANCA udružen) (CGN) 2, membranoproliferacijski glomerulonefritis (MPGN) 1, amiloidoza (AM) 1 i hereditarni nefritis – Alportov sindrom (AS) 1.

Prema stupnju proliferacije/upale uzorci su podijeljeni u dvije interesne grupe: neproliferacijske (FSGS, BMP, MGN, AS) i proliferacijske (IgAGN, HSN, CGN, MPGN). Tkivo svih uzoraka fiksiranih u formalinu ugrađeno je u parafinske blokove te su urađeni transverzalni rezovi debljine 5 mikrona na predmetnim stakalcima. Slijedila je deparafinizacija uzoraka, koji su potom bili rehidrirani u vodi i alkoholu. Nakon kratkog ispiranja destiliranom vodom uzorci su zagrijavani u natrijskom citratnom puferu (pH 7.0) u mikrovalnoj pećnici 12 minuta pri 95° C, te potom ohlađeni na sobnu temperaturu. Tako pripremljeni uzorci bili su spremni za imunohistokemijska bojenja.

Primarna protutijela, kozji antiserum SATB1 (SC-5990, Santa Cruz Biotechnology, Inc. Santa Cruz, California, USA) i PTEN pročišćeno mišje monoklonalno IgG antitijelo (MAB847, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) razrijeđeni su u DAKO REAL otopini u omjerima 1 : 200 odnosno 1 : 100. Pripremljeni su rezovi prekriveni razrijeđenim primarnim protutijelima te su inkubirani tijekom noći u vlažnoj komori na sobnoj temperaturi. Nakon ispiranja PBS-om, uzorci su sat vremena inkubirani u istim uvjetima, prekriveni kombinacijom sekundarnih protutijela: magarećim protukozjim imunoglobulinom (teški i laki lanci) (IgG H&L, Alexa Fluor® 488 konjugirani, ab150129; Abcam, Cambridge, UK), razrijeđenim 1 : 400 i kozjim protumišjim IgG H&L [Tetramethylrhodamine (TRITC)-konjugirani] (ab6786) razrijeđenim 1 : 300.

Nakon ispiranja PBS-om rezovi su obojeni DAPI-jem (4'6-Diaminide-2'phenylindole dihydrochloride), s ciljem obilježavanja jezgre. Tako obojeni preparati potom su pregledani i fotografirani uz upotrebu BX51 mikroskopa s DP71 digitalnom kamerom te su snimke obrađene korištenjem Cell-A Imaging Software for Life Science Microscopy (Olympus, Tokyo, Japan).

U svakom preparatu analizirane su tri tkivne strukture: glomeruli, proksimalni zavijeni kanalići (PT) i distalni zavijeni kanalići (DT). Pregledom na 40 x povećanju u svakom od navedenih područja odabrano je po 10 nepreklapajućih polja za daljnju analizu, a svako je polje fotografirano na posebnoj snimci. Mikroskopske su fotografije potom uređene te je urađeno

preklapanje obojenja za pojedine biljege i za jezgru korištenjem softvera Adobe Photoshop 2017 CC, a kod brojenja stanica pozitivnih za pojedine biljege korišten je ImageJ Software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Pomoću ovog programa sva područja na fotografijama podijeljena su na kvadrate veličine  $20 \mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ , te smo pri uvećanju  $\times 40$  brojili udio pozitivnih stanica u određenom području, ovisno o prisutnosti pojedinog obojenja (crvena boja za PTEN i zelena boja za SATB1) (slika 1). Pritom su bile prebrojene stanice isključivo u kvadratima koji u potpunosti prekrivaju interesno područje. U cilju izbjegavanja opetovanog brojenja iste stanice koristio se svaki drugi uzastopni rez te su analizirane stanice na desnoj i donjoj granici, a stanice ispod lijevog i gornjeg ruba svakog kvadrata isključene su iz analize. Iz svake fotografije izračunat je broj pozitivnih stanica na šest reprezentativnih polja.

Pozitivne su stanice osim brojem zabilježene u pojedinim strukturama i prema intenzitetu bojenja. Broj pozitivnih stanica za svaki tkivni biljeg (SATB1 i PTEN) uspoređen je između pojedinih tkivnih struktura bolešću promijenjenog i zdravog bubrega te u pojedinim tkivnim strukturama između kontrolne skupine (zdravih bubrega) i uzoraka bolesnih bubrega koji su svrstani prema stupnju proliferacije/upale u proliferacijske i neproliferacijske.

Kako bi se utvrdila specifičnost protutijela za svako primarno protitijelo, urađen je predadsorpcijski test s odgovarajućim peptidima.

### **3. 3. Statističke metode**

Broj pozitivnih (imunoreaktivnih) stanica za svaki pojedini biljeg (SATB1 i PTEN) uspoređen je između svih tkivnih interesnih struktura (G, PT, DT), tkiva pojedinih ispitnih skupina (proliferacijske i neproliferacijske) te tkivnih struktura zdravih bubrega.

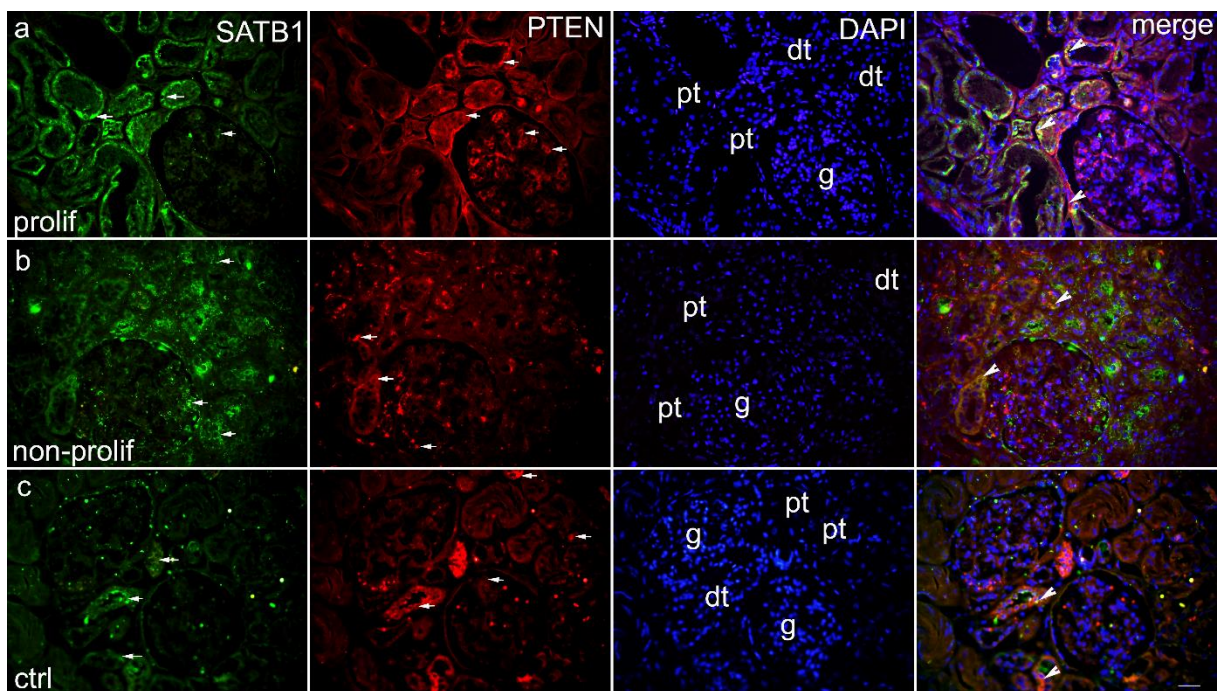
Kod analize je korišten statistički paket Prism8.00 Windows (GraphPad software, San Diego, Ca). Usporedba izražaja ispitivanih biljega u trima skupinama (dvije ispitne i kontrolnoj), kao i između pojedinih tkivnih struktura ispitnih i kontrolne skupine analizirana je uz primjenu Kruskal-Walis testa za male neovisne grupe te Dunns *post hoc* testa. Rezultati su izraženi srednjom vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija. Prihvaćena je granična razina statističke značajnosti od 95 % ( $P < 0.05$ ).

## 4. REZULTATI

Ukupan broj stanica pozitivnih za oba markera ponaosob analiziran je u skupinama bioptičkih uzoraka proliferacijskih i neproliferacijskih bubrežnih bolesti te u kontrolnoj skupini, i to u svim trima interesnim područjima u bubrežnoj kori: glomerulima, proksimalnim i distalnim zavijenim kanalićima.

### 4.1. Distribucija tkivnih biljega SATB1 i PTEN u strukturama bubrežne kore u skupini proliferacijskih i neproliferacijskih bubrežnih bolesti te u zdravom bubrežnom tkivu

Oba biljega, SATB1 i PTEN, nađeni su u stanicama svih tkivnih struktura te u svim istraživanim skupinama, s različitim stopom te različitim intenzitetom izražaja (slika 1).



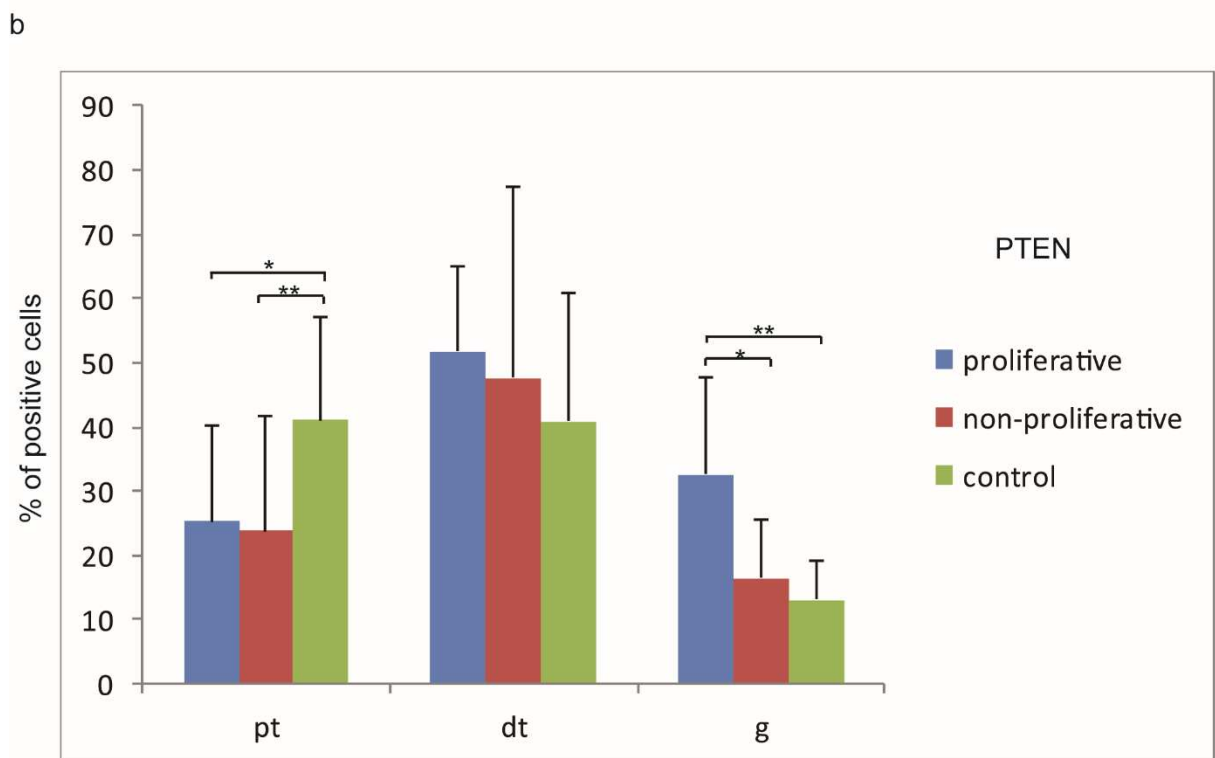
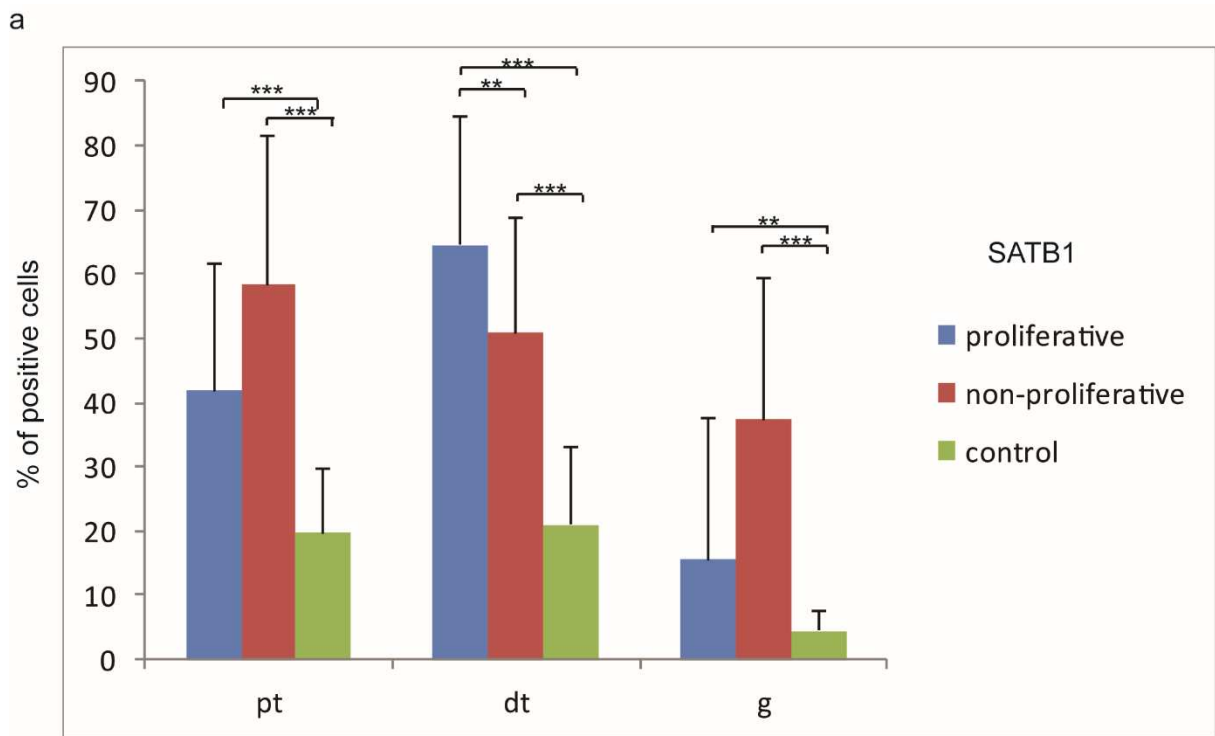
**Slika 1.** Reprezentativne fotografije primjera proliferacijske bubrežne bolesti (a), neproliferacijske bubrežne bolesti (b) i kontrole (c). SATB1 pozitivne stanice (strelica) u različitim područjima kore bubrega vidljive su kao zeleno citoplazmatsko obojenje, a PTEN pozitivne stanice (strelica) kao crveno obojenje u citoplazmi struktura bubrežne kore. Kolokalizacija SATB1 i PTEN-a (strelica) prikazana je u desnoj koloni (MERGE-kombinacija bojenja); g – glomerul; pt – proksimalni tubul; dt – distalni tubul; c – kontrola. Mjerna ljestvica: 25 $\mu$ m.



#### ***4.2. Ukupan broj SATB1 pozitivnih stanica u strukturama kore bubrega zahvaćenih bolešću i u kontrolnoj skupini***

SATB1 biljeg pronađen je u različitim strukturama bubrežne kore i u svim ispitivanim skupinama (slika 1 a – c). Najveća zastupljenost SATB1 zabilježena je u DT-u u grupi proliferacijskih bubrežnih bolesti (64, 5 %), a najniža u glomerulima kontrolne skupine (4, 4 %) (slika 2a). Statistički značajna razlika u stopi izražaja SATB1 u PT-u pronađena je između obiju skupina bolesnih bubrega, proliferacijskih i neproliferacijskih, u odnosu na kontrolnu skupinu (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,0001$ ).

U DT-u razlika u SATB1 ekspresiji pronađena je između svih istraživanih skupina, na razini statističke važnosti (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,001$  i  $p < 0,0001$ ) (slika 2a). Izražaj SATB1 u glomerulima, slično kao i u PT-u, bio je statistički znatno veći u skupini proliferacijskih i neproliferacijskih bubrežnih bolesti u odnosu na kontrolnu skupinu (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$ ) (slika 2a).



**Slika 2.** Raspodjela SATB1 (a) i PTEN (b) pozitivnih stanica u bubrežnom tkivu: g – glomerul; pt – proksimalni tubul; dt – distalni tubul. Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost  $\pm$  SD. Zvezdice označavaju razinu statističke važnosti: \* $p < 0,01$ , \*\* $p < 0,001$ , \*\*\* $p < 0,0001$  (Kruskal-Wallis i Dunn's post hoc testovi).

#### **4.3. Ukupan broj PTEN pozitivnih stanica u strukturama kore bubrega zahvaćenih bolešću i u kontrolnoj skupini**

Izražaj PTEN biljega pronađen je u stanicama svih bubrežnih struktura i u svim ispitivanim skupinama (slika 1 a – c).

Slično kao i SATB1, najviša stopa izražaja PTEN-a nađena je u DT-u skupine proliferacijskih bubrežnih bolesti (52 %), a najniža u glomerulima kontrolne skupine (13 %) (slika 2b).

U PT-u izražaj PTEN-a bio je statistički znatno niži u skupini proliferacijskih i neproliferacijskih bubrežnih bolesti u odnosu na kontrolnu skupinu (Kruskal-Wallis test,  $p < 0,001$  i  $p < 0,0001$ ) (slika 2b).

U DT-u nije nađeno znatnih razlika u izražaju PTEN-a između ispitivanih skupina (slika 2b).

Izražaj PTEN-a u glomerulima skupine proliferacijskih bubrežnih bolesti bio je znatno viši u odnosu na neproliferacijske bolesti i kontrolu ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,0001$ ) (slika 2b).

Kolokalizacija obaju biljega, SATB1 i PTEN-a, pronađena je u PT-u i DT-u obiju ispitnih skupina (proliferacijskim i neproliferacijskim) te u DT-u kontrolne skupine (slika 1 a – c).

#### **4.4. Semikvantifikacija intenziteta bojenja SATB1 i PTEN-a u kori bubrega zahvaćenog bolešću i u kontrolnoj skupini**

<b>SATB1</b>	<b>G</b>	<b>PT</b>	<b>DT</b>
proliferacijske bubrežne bolesti	+++	+++	+
neproliferacijske bubrežne bolesti	+	++	++
Kontrola	+	++	+

**Tablica 1.** Semikvantifikacija intenziteta izražaja SATB1.

Intenzitet bojenja: odsutan –, blag +, umjeren ++, izražen +++.

Intenzitet bojenja opservirala su dva neovisna istraživača. Intenzitet bojenja SATB1 bio je najizraženiji u PT-u i u G-u u skupini proliferacijskih bubrežnih bolesti, dok je u DT-u iste ispitne skupine izražaj SATB1 bio blagog intenziteta. Blago do umjerenom izražen intenzitet

o bojenja za SATB1 biljeg nađen je u PT-u, DT-u i G-u neproliferacijske skupine te u kontrolnoj skupini (tablica 1).

PTEN	G	PT	DT
proliferacijske bubrežne bolesti	+++	+++	+++
neproliferacijske bubrežne bolesti	+++	++	+++
Kontrola	++	+++	+

**Tablica 2.** Semikvantifikacija intenziteta izražaja PTEN-a.

*Intenzitet bojenja: odsutan – , blag +, umjeren ++, izražen +++.*

Intenzitet bojenja za PTEN bio je posebno izražen u svim tkivnim strukturama ispitnih skupina bolesnih bubrega, proliferacijske i neproliferacijske, te u PT-u kontrolne skupine gdje je intenzitet bio najizraženiji. U DT-u i G-u kontrolne skupine intenzitet izražaja PTEN-a bio je blag do umjeren (tablica 2).

Kolokalizacija obaju biljega pronađena je u proksimalnim i distalnim tubulima u skupini proliferacijskih i neproliferacijskih bolesti, kao i u distalnim tubulima kontrolne skupine.

## 5. RASPRAVA

Bubrežne bolesti rastući su javnozdravstveni problem i zahvaćaju više od 850 milijuna osoba u svijetu te pokazuju tendenciju porasta (39, 40). Pored dijabetesa, hipertenzije i pretilosti kao vodećih uzroka KBB-a (47), glomerulonefritisi su najčešća intrinzička bubrežna bolest koja je razlogom definitivnog bubrežnog otkaza; sve ostale bolesti bubrega zastupljene su u manjem postotku (5).

Kronična bolest bubrega poznati je čimbenik rizika sveukupne smrtnosti te smrtnosti vezane za srčano-žilne bolesti (36, 75). Postupci liječenja dijalizom spadaju među najskuplje postupke liječenja, a sveukupni troškovi liječenja bolesnika s KBB-om koji se izdvajaju iz zdravstvenog proračuna u razvijenim zemljama procjenjuju se na 1, 3 % (73, 74, 76).

Bubrežna biopsija zlatni je standard u postavljanju definitivne dijagnoze i okvirne prognoze stupnja kroniciteta i brzine napredovanja bubrežnih bolesti (35, 135, 136). Globalna glomeruloskleroza, intersticijska fibroza i atrofija tubula pokazatelji su kroničnih promjena i predskazatelji lošijeg ishoda bubrežne bolesti. Udio intersticijske fibroze (IFTA) dobar je, ali ne i apsolutno siguran pokazatelj prognoze (137).

Bolesnici s udjelom IFTA-e većim od 50 % mogu još uvijek imati normalnu bubrežnu funkciju, i 21 % ovih bolesnika u narednih pet godina neće napredovati do završnog stadija KBB-a; moguć je, međutim, ishod i u obratnom smjeru, odnosno situacija lošije bubrežne funkcije i bržeg napredovanja do završnog stadija bubrežnog otkaza u bolesnika s manjim stupnjem IFTA-e kod postavljanja dijagnoze (136).

Iz navedenog je jasna potreba iznalaženja pouzdanih dijagnostičko-prognostičkih biljega primjenjivih u svakodnevnoj kliničkoj praksi. U literaturi je dostupan nevelik broj studija o izražaju ovakvih biljega u bioptičkom materijalu humanih bubrega, a koji su u svezi s mehanizmima koji dovode do nepovoljnog ishoda bubrežne bolesti.

U ovoj disertaciji ispitivana je važnost izražaja tkivnih biljega SATB1 i PTEN u biopsijskim uzorcima tkiva ljudskih bubrega oboljelih od različitih bolesti, i prva je studija u kojoj se istovremeno analizira izražaj obaju biljega u ljudskim nemalignim bubrežnim bolestima.

Podliježeće bolesti u ispitivanim biopsijskim materijalima bile su slijedom IgA glomerulonefritis / Henoch-Schoenlein vaskulitis, ANCA/GBM udružen brzoprogresivni glomerulonefritis i membranoproliferacijski glomerulonefritis u skupini bolesti s visokim stupnjem proliferacije tkivnih struktura te FSGS, bolest minimalnih promjena, membranska nefropatija, Alportov sindrom i amiloidoza u ispitnoj skupini neproliferacijskih bubrežnih bolesti.

Koliko je poznato, do sada nema velikoga broja izvještaja iz literature o izražaju PTEN-a u bolestima humanih bubrega koje nisu malignog karaktera. Izražaj SATB1 ispitivan je isključivo u karcinomu bubrega čovjeka, i jedini izvještaji iz literature o izražaju SATB1 u nemalignoj bolesti bubrega odnose se na tri studije s dijabetičkim eksperimentalnim životinjama (94, 95, 138).

SATB1 je tkivno specifična jezgrina matriks vezujuća bjelančevina, odgovorna za regulaciju strukture kromatina i izražaj tkivnih specifičnih antigena te ima funkciju epigenetskog regulatora (78, 79). Represijom ili supresijom genomske aktivnosti (81, 82) sudjeluje u različitim procesima kao što su proliferacija, diferencijacija, apoptoza i DNA reprogramiranje, omogućavajući prilagodbu stanice na unutarnje i vanjske promjene (82, 83, 84). U fiziološkim uvjetima SATB1 ekspresija slabo je izražena u tkivima, pa tako i u bubregu (78, 79); iznimku čine T-limfociti i rani stadiji eritroidnih stanica, gdje ovaj čimbenik ima važnu ulogu u razvoju, diferencijaciji i održavanju stanične homeostaze te odgovoru na različite podražaje (78, 85).

Tkivno specifično smanjenje izražaja SATB1 povećava mobilizaciju antigenprezentirajućih i regulatornih T-stanica, a smanjuje priljev citotoksičnih T-stanica te time ima antiinflamacijski, imunomodulacijski i antitumorski učinak (139). Smanjenje ekspresije SATB1 u Th17-limfocitima smanjuje produkciju GM-CSF te time i inflamaciju u spektru autoimunih bolesti kao što su MS, psorijaza i RA (84). Nasuprot tome, povećan izražaj SATB1 pronađen je u stanicama različitih vrsta karcinoma, kao što je karcinom bubrega, dojke, prostate, jajnika, kolorektalni karcinom, karcinom pluća, melanom, gliom (78, 81, 83, 86-90), a dokazan je i porast njegova izražaja s rastom tumorske mase i raširenošću udaljenih metastaza (81, 83, 87-90). Studija Hana i sur. pokazala je povezanost SATB1 i povećane ekspresije gena kao što su metastazin, MMP 2,39, TGF  $\beta$ -1, EGFR, uz smanjenu ekspresiju supresornih gena

BRMS1 i KAI-1, te ekspresiju E-kaderina u karcinomu dojke; SATB1 delecija nasuprot tome smanjila je tumorigenezu (87).

EMT, proces pretvorbe potpuno diferencirane epitelne stanice u fibroblastični fenotip, usko je vezan za kroničnu upalu i predstavlja adaptivni odgovor stanice na ozljedu i promjenu mikrokoliša (140). Karakterizira je gubitak epitelnih biljega-E-kaderina(ZO-I) i citokeratina te pojava *de novo* prisutnih mezenhimalnih biljega kao što su vimentin, alfa-SMA, FSP-1, tip1 kolagena matriksa i fibronektin (141). EMT je temelj napredovanja TIF-a i glomeruloskleroze različitim mehanizmima i intracelularnim putovima, sa zajedničkim nazivnikom  $\beta$ -katenina kao ključnog završnog integratora koji kontrolira ekspresiju EMT vezanih gena (140). Gubitak adhezije epitelnih stanica i razdor bazalnih membrana koje se događaju u EMT-u temelj su povećane agresivnosti tumora i povećane smrtnosti (92, 93, 140). Dramatično povećan izražaj SATB1 može uz biljege EMT-a biti pokazatelj agresivnog fenotipa karcinoma bubrežnih stanica, s većim stupnjem invazije i mestastaziranja (81). Povećana jezgrena lokalizacija SATB1 u tumorskim stanicama karcinoma prostate povezana je s agresivnijim biološkim tijekom i bržom tumorskom progresijom indukcijom EMT-a (142).

Učinak SATB1 mogu diktirati i njegove posttranslacijske promjene, pa tako Akt fosforilacija pojačava učinak SATB1 te time pogoršava prognozu u gliomu (143). Navedene spoznaje pozicioniraju SATB1 kao perspektivni prognostički biljeg u spektru malignih i autoimunih bolesti, a modulacija izražaja SATB1 predstavlja potencijalni imunoterapijski cilj u liječenju ovih oboljenja (84, 139).

Povećana ekspresija SATB1 nađena je i u bubrežnom tkivu dijabetičkih miševa tijekom starenja (94). U studiji Zhu i suradnika pojačana apoptoza podocita, hipertrofija mezangija i indukcija fibrogeneze u dijabetičkih miševa korelirali su s pojačanom ekspresijom SATB1 i aktivacijom signala Wnt/ $\beta$ -katenina (95).

U ovoj disertaciji povećani izražaj SATB1 pronađen je u svim trima interesnim bubrežnim strukturama: glomerulima, stanicama proksimalnih i distalnih zavijenih kanalića. Povećan izražaj SATB1 pronađen je u objema ispitnim skupinama, proliferacijskoj i neproliferacijskoj, i bio je znatno veći u usporedbi s kontrolnom skupinom. Ovakav nalaz

ne iznenađuje ako se uzme u obzir priroda i uloga ovog biljega u prilagodbi stanice na ozljedu i nefziološke uvjete.

Potrebno je napomenuti, međutim, da je intenzitet izražaja SATB1 bio sveukupno manje izražen u glomerulima svih ispitnih skupina u odnosu na tubule, a posebice PT; iznimku su činili glomeruli proliferacijske skupine. Moguće je da je ovakav rezultat u svezi s patofiziološkim promjenama koje se u bolestima obuhvaćenim u ovoj ispitnoj skupini (IgAMPGN, ANCA/GMB vezani vaskulitis GN/HS vaskulitis) primarno događaju upravo u glomerulima, dok je ozljeda tubulointercicija sekundarna, premda dugoročno i u konačnici od velike prognostičke važnosti.

Najvažnije promjene u izražaju i intenzitetu bojenja SATB1 pronađene su u PT-u obiju ispitnih skupina u odnosu na kontrolnu. Ovaj je nalaz dijelom u suglasju s rezultatima studije s dijabetičnim eksperimentalnim miševima, gdje su dominantne i najranije promjene u izražaju SATB1 u dijabetičnih miševa pronađene upravo u PT-u, dok je izražaj SATB1 u glomerulima opserviran poslije i bio je slabijeg izražaja u odnosu na PT (94).

Izražaj SATB1 bio je najveći u DT-u svih ispitnih skupina u našoj studiji, uz slabiji intenzitet izražaja u odnosu na ostale tkivne strukture. Do sličnog se rezultata došlo u objavljenom radu Vitlov Uljević i sur. s dijabetičnim miševima, što upućuje na važnost ovog biljega kao mogućeg ranog pokazatelja ozljede DT-a (138). Jači intenzitet signala SATB1 u G-u i PT-u u ovoj disertaciji moguć je patofiziološki pokazatelj intenziteta tkivnih promjena za koje očekujemo da će biti izraženije u primarno pogođenim tkivnim strukturama, odnosno onima koja su metabolički i energetska najzahtjevnija, kao što je to proksimalni tubul.

Za razliku od SATB1, smanjen izražaj PTEN-a kao negativnog regulatora staničnog rasta i preživljenja vezan je za razvoj niza hereditarnih i stečenih malignih oboljenja u čovjeka (100, 144). PTEN ima funkciju dvojne, lipidne i proteinske fosfataze, ali isto ispoljava i izravni učinak na genom (98, 100). Glavna uloga PTEN-a jest kontrola fosfatidilinozitol 3-kinaze (PI3)/AKT (protein kinaza B) signalnog puta, kao i njegova mTOR ogranka (98, 100).



Aktivacija signalnog puta PI3K/Akt potaknuta različitim čimbenicima kao što su hipoksija, hiperglikemija, završni produkti glikacije proteina, toksini, angiotenzin 2, endotelin, čimbenici rasta: PDGF EGF, CTGF, citokini, poglavito TGF- $\beta$  i drugi, u glomerulu dovodi do apoptoze podocita, hipertrofije i fibroze mezangija, a u tubulointersticiju do EMT-a s posljedičnom tubulointersticijskom fibrozom (TIF) (98, 140). PTEN-om posredovana inhibicija ovog signalnog puta potiče sintezu enzima, apoptotičkih čimbenika, inhibitora staničnog ciklusa i transkripcijskih čimbenika koji sudjeluju u kontroli staničnog metabolizma, rasta i diferencijacije, staničnog ciklusa i inducirane stanične smrti, kontroli angiogeneze i stanične samoobnove (98, 100, 144).

Protein-fosfataznom aktivnosti PTEN je odgovoran za inhibiciju stanične migracije i indukciju zastoja staničnog ciklusa, a vezanjem za pojedine jezgrene strukture ima učinak na kontrolu remodeliranja, popravka oštećenja kromatina, gensku ekspresiju i aktivaciju, kontrolu onkoproteina i zaustavljanja staničnog ciklusa (100). Izražaj PTEN-a može biti dijelom ili u potpunosti izgubljen u prirođenim ili somatskim mutacijama te promijenjen tijekom transkripcije, posttranskripcijski, posttranslacijski ili pak izravnom ili neizravnom protein – protein interakcijom (100).

U tumorigenezi važnu ulogu ima i stupanj smanjenja izražaja („doza“) PTEN-a (145); izolirani gubitak PTEN-a dostatan je za tumorigenezu pojedinih, ali ne i svih tkiva (146). Pojedini transkripcijski čimbenici mogu imati pozitivan (npr. p53, IGF-2, PPAR gama) ili negativan (npr. NF- $\kappa$ B) učinak na ekspresiju PTEN-a (147 – 150). Posttranskripcijski učinak miRNK na ekspresiju PTEN-a dokazan je u malignim i nemalignim stanjima (133).

Mikro RNK (miRNK) obitelj je nekodirajućih ribonukleinskih kiselina građenih od oko 21 – 23 nukleotida koji su odgovorni za regulaciju ekspresije više od 30 % gena u sisavaca (132, 151). Moduliraju ekspresiju gena za pojedine bjelančevine promjenom mRNA transkripcije, translacije ili pak poticanjem mRNA degradacije (132). Uključene su u patogenezi ozljede bubrega, malignih i nemalignih bubrežnih bolesti te bolesti drugih organa (152 - 157). Tako se onkogeni miR-21 veže za smanjenu ekspresiju PTEN-a u karcinomu pluća, ovarija i hepatocelularnom karcinomu (158, 159), a miR-25 u malignom melanomu (160). Pojačana ekspresija miR-21 te depresija PTEN-a nakon ozljede uzrokovane opstrukcijom dokazana je u epitelnim stanicama tubula i u urinu; *in vitro* ekspozicija

tubularnih epitelnih stanica mikrovezikulama koje sadrže miR-21 dovela je do depresije PTEN-a s posljedičnim pojačanjem Act signala i promjenom tubularnog fenotipa (151). U bolesnika s aktivnim lupus nefritisom povećana razina miR-148 i miR-198 u serumu, urinu i bubrežnom tkivu negativno je korelirala s PTEN ekspresijom (133, 134). Inhibicija miR-214 i PTEN aktivnosti smanjenjem ekspresije  $\alpha$ SMA, SM22 i kolagena IV *in vitro* i *in vivo* smanjila je hiperglikemijom uvjetovanu hipertrofiju glomerularnih stanica eksperimentalnih miševa i albuminuriju (152). U bolesnika s FSGS-om, panel od četiriju miRNK, različit od onih koje su detektirane u drugim bolestima bubrega (IgA, MGN, MeGN), negativno su korelirale s PTEN ekspresijom, s posljedičnom disfunkcijom i ubrzanom apoptozom podocita te težom patohistološkom i kliničkom slikom (161).

U bolesnika s IgA nefropatijom, miRNK-21 vezana supresija PTEN-a u podocitima, epitelnim stanicama tubula i intersticiju bila je u svezi s pogoršanjem fibroze, proteinurijom i slabljenjem bubrežne funkcije, a *in vitro* inhibicijom učinka miRNK 21 na PTEN aktivnost prevenirana je sinteza profibrotičkih bjelančevina (132). Pojačana ekspresija miR-22 i potiskivanje PTEN aktivnosti bilo je u svezi s razvojem fibroze bubrega u dijabetičkih miševa (162), a razina serumske i tkivne miR-21 pozitivno je korelirala s oštećenjem bubrega i stupnjem ACR-a (163). Navedeno upućuje na ulogu miRNA i PTEN-a u patogenezi dijabetičke bolesti bubrega te ih ističe kao potencijalno terapijsko zahvatno mjesto nefroprotekcije (162). Kvercetin, flavonoid biljnog podrijetla inhibicijom miR-21 i time pojačanom bioraspoloživošću PTEN-a smanjuje profibrotičku aktivnost TGF- $\beta$  u kulturi humanih epitelnih stanica (164), smanjuje metotreksatom uzrokovani oksidativni stres (165) te ciprofloksacinom uzrokovani oksidativni stres u štakora (166).

Smanjeni izražaj PTEN-a kao posljedica epigenetskih promjena promotora PTEN-a pronađen je u različitim tipovima karcinoma (102, 146), a posttranslacijska modifikacija PTEN strukture može promijeniti stabilnost i tumor-supresijski učinak PTEN-a u karcinomu pluća nemalih stanica (167). Epigenetska terapija farmakološkom modulacijom histonske acetilacije ili metilacije promotora, kao i inhibicija PTEN vezanih signalnih putova atraktivna su potencijalna mogućnost, zasebno ili u kombinaciji s primjenom inhibitora drugih signalnih putova u liječenju, odnosno promjeni neoplastičkog fenotipa (168).

Interakcija PTEN-a s pojedinim staničnim proteinima može biti promijenjena i u uvjetima oksidativnog stresa (169). Izlaganjem makrofaga ROS-u smanjena je aktivnost

PTEN-a s moduliranjem aktivnosti vezanih signalnih putova, smanjenom kontrolom i oštećenjem reparacije DNA, što ima ulogu u nastanku malignih i nemalignih bolesti (170). PTEN ima ulogu i u prirođenoj i stečenoj imunosti te razvoju imunološke tolerancije (98, 115). PTEN delecija smanjuje inflamatorni odgovor antigen-prezentirajućih stanica te ima ulogu u kontroli T i B-stanične linije i produkciji antitijela (98).

Svezu između povećane učestalosti malignoma u bolesnika s autoimunim bolestima može se objasniti PTEN delecijom u različitim stadijima sazrijevanja T-stanične linije, odnosno promjenom mikrookoliša uz akumulaciju T-stanicama, čime se stvara okruženje pogodno za razvoj maligne alteracije (98, 115). Delecija PTEN-a u različitim stadijima sazrijevanja imunokompetentnih stanica PTEN-a ima izravan učinak na IFN gama signalni put te smanjuje antiviralni i antitumorski odgovor (171, 172), ali jednako tako čini PTEN deficijentne tumorske stanice potencijalno osjetljivijim na liječenje IFN senzitivnim onkolitičkim virusima (98).

Posebni oblik PTEN-a jest PTEN  $\alpha$ , lokaliziran u citoplazmi i mitohondrijima, uključen u regulaciju metabolizma i produkciju energije te translacijska varijanta PTEN-Long, koja ima osobinu prolaska kroz stanične membrane i povezuje stanice (100). PTEN-Long može se detektirati u serumu i plazmi te u zdravom tkivu kao što je tkivo dojke i mozak, a ekspresija je niska u malignoj bolesti dojke kod žena te u glioblastomu u eksperimentalnih životinja (100). Snižena razina PTEN-Long nađena je u serumu i bubrežnom tkivu bolesnika s nefritisom i karcinomom bubrega, kao i u bubrežnom tkivu eksperimentalnih životinja, pri čemu je razina u serumu negativno korelirala sa stupnjem bubrežne ozljede (108). Kombinacija kemoterapije i PTEN-Long ciljane terapije znatno je poboljšala preživljenje u eksperimentalnih miševa s karcinomom gušterače (173), što ovaj biljeg čini potencijalnim dijagnostičkim i terapijskim čimbenikom.

PTEN ima ulogu i u kontroli metabolizma glukoze i lipida (99). PI3K/Akt ovisnim i neovisnim signalnim putovima PTEN smanjuje osjetljivost na inzulin te inhibira stanični rast i diferencijaciju, učinkom koji je tkivno specifičan (99). PTEN delecija u masnom tkivu, jetri, skeletnom mišiću i  $\beta$ -stanicama gušterače smanjuje inzulinsku rezistenciju i poboljšava osjetljivost tkiva na inzulin, čineći ovaj biljeg potencijalnim atraktivnim terapijskim pristupom i u liječenju metaboličkih poremećaja (174, 175, 176). U jetri delecija PTEN-a PI3K/Akt vezanim putovima uzrokuje pojačanu glikolitičku aktivnost i lipogenezu, što za

podljedicu ima razvoj nealkoholnog steatohepatitisa koji nije vezan za hiperglikemiju i intoleranciju glukoze, ali je potencijalna podloga za malignu alteraciju (177 – 180). Heterozigotni nosioci PTEN-mutacije u Cowdenovu sindromu pojačano su podložni debljini i malignim bolestima, ali su smanjeno podložni riziku od pojave dijabetesa u svezi s pojačanom osjetljivošću na inzulin (181).

Rezultati dosadašnjih studija pokazali su da PTEN djeluje tkivno specifično; u bubregu regulira morfologiju i veličinu organa, ima ulogu u ozljedi podocita, upali te razvoju fibroze bubrega (130).

Delecija PTEN-a u epitelnim stanicama PT-a dovela je do hipertrofije stanica i posljedičnog povećanja bubrega miševa (182). Hiperglikemija u dijabetičkih štakora uzrokovala je pojačanu ekspresiju TGF- $\beta$  s posljedičnom supresijom protein-fosfatazne aktivnosti PTEN-a i hipertrofijom mezangijskih stanica (183); primjenom neutralizirajućih TGF-protutijela inhibiran je hipertrofički učinak hiperglikemije (184). U sepsi hipoksija inducibilnim faktorom (HIF-1) potaknuta ekspresija miR-687 smanjila je aktivnost PTEN-a u epitelnim stanicama PT-a eksperimentalnih miševa, s posljedičnim smanjenjem apoptoze i aktivacijom reparacijskih procesa (185).

PTEN je ključni regulator autofagije, koja je važan homeostatski proces degradacije oštećenih dijelova stanice i bjelančevinskih agregata". U dijabetičkih štakora s miR-22 posredovana smanjena aktivnost PTEN-a u epitelnim stanicama tubula rezultirala je smanjenom autofagijom i pojačanom sintezom kolagena, dok je plazmidom tranferirana pojačana aktivnost PTEN-a supresijom Akt/mTOR signala poboljšala procese autofagije i smanjila fibrozu (162).

Bubrežna fibroza konačna je histološka manifestacija širokog spektra bubrežnih bolesti, a karakterizira je stanična proliferacija i progresivna depozicija izvanstaničnog matriksa u glomerulima (glomeruloskleroza) i/ili u intersticiju (TIF) (136, 140). Normalni bubrezi pokazuju znatnu ekspresiju PTEN-a, koji je generalno biljeg epitelnog integriteta i diferencijacije, dok snižena ekspresija dovodi do maladaptivnog oporavka tubula i povećava fibrozu u različitim modelima bubrežne ozljede (125). Na taj način ovaj biljeg djeluje kao negativni regulator fibroze u različitim tkivima (125).

Dramatično snižena ekspresije PTEN-a u epitelnim stanicama bubrežnih tubula i u stanicama intersticija te različitim modelima ozljede bubrega ističe važnost PTEN-a kao čimbenika staničnog integriteta i diferencijacije. Sukladno ulozi PTEN-a u reparaciji i fibrogenezi, modulacija ekspresije ovog čimbenika potencijalni je terapijski pristup u reparaciji ozljede i sprečavanju ožiljkavanja tkiva (186), pa tako i smanjenju fibroze nakon AOB-a i usporavanju progresije KBB-a (121).

Izražaj PTEN-a u našoj studiji bio je znatno snižen u PT-u obaju ispitnih skupina, proliferacijske i neproliferacijske u odnosu na kontrolnu, što je u suglasju s ranijim izvještajima iz literature. Dramatično snižena PTEN aktivnost s posljedičnom SMAD3/p53 posredovanom epitelnom dediferencijacijom i fibrozom opisana je u tubulointersticiju eksperimentalnih miševa kao posljedica opstrukcije te toksičnog učinka hiperglikemije i aristolohične kiseline (125).

Nakon ishemijske ozljede bubrega štakora gubitak izražaja PTEN-a bio je najizraženiji u epitelnim stanicama PT-a, koji su metabolički najaktivnija i energetski najzahtjevnija bubrežna struktura te time i najosjetljivija (187). Primjena cisplatinine je u eksperimentalnih miševa izazvala nefrotoksični učinak u epitelnim stanicama PT-a, uz sniženu aktivnost PTEN-a udruženu sa smanjenom fosforilacijom p53, posljedičnom upalom, indukcijom apoptoze i fibroze (128). Snižena ekspresija PTEN-a u epitelnim stanicama PT-a bila je najprominentniji rani nalaz u eksperimentalnih dijabetičkih miševa (94). Lan i suradnici pokazali su gubitak PTEN-a u fibrotičnim tubulima različitih KBB-a u čovjeka (LN, IgA, FSGS, DN, C-ANCA GN), dok je u PT-u zdravih bubrega, uključujući i one u BMP-u, izražaj ovog biljega bio umjeren do snažan, kao i u epitelnim stanicama tubula u bubregu zdravih štakora (187). Reparacijska ozljeda bubrežnog tkiva štakora nakon ishemije imala je karakter „mozaika“, s različitim stupnjem TGF- $\beta$  vezane modulacije ekspresije PTEN-a te s tim u vezi različitim stupnjem dediferencijacije i fibroze ili pak regeneracije stanica tubula (187). PTEN deficijentne stanice PT-a mogući su izvor perzistentnog signala koji u konačnici dovodi do TIF-a (187).

Dramatično snižena ekspresija PTEN-a u epitelnim stanicama bubrežnih tubula, kao i u stanicama intersticija te različitim modelima ozljede bubrega ističe važnost PTEN-a kao čimbenika staničnog integriteta i diferencijacije. Sukladno ulozi PTEN-a u reparaciji i

fibrogenezi, modulacija ekspresije ovog čimbenika potencijalni je terapijski pristup u sprečavanju ožiljkavanja nakon AOB-a i progresije KBB-a.

U našoj studiji nije opserviran smanjeni izražaj PTEN-a u neproliferacijskoj skupini u odnosu na kontrolnu u ostalim bubrežnim strukturama. Najprominentnija razlika između ispitnih skupina bila je povišen izražaj ovog biljega u glomerulima proliferacijske skupine. Ovakav nalaz ističe mogućnost uloge PTEN-a u patogenezi glomerularne ozljede u ovoj skupini bolesti; druga je mogućnost da su navedene promjene dijelom kompenzatorno-reparativnih mehanizama.

U animalnom modelu supresija PTEN-aktivnosti primjenom antitimocitnog seruma bila je povezana s pojačanom mezangijskom proliferacijom i upalom aktivacijom PI3K/Akt signalnog puta (124). Smanjena ekspresija PTEN-a pronađena je u mezangijskim stanicama kao i podocitima eksperimentalnih dijabetičkih štakora i u epitelnim stanicama bolesnika s razvidnom dijabetičkom nefropatijom (122). Nasuprot tome, neposredni odgovor na ishemijsku ozljedu u tkivu eksperimentalnih miševa bila je pojačana aktivnost PTEN-a, a primjena PTEN-inhibitora rezultirala je pojačanim proupalnim, proapoptotičkim učinkom i profibrotičkim učinkom (130, 131, 185).

Najveći izražaj PTEN-a pronađen je u DT-u, bez znatne razlike između ispitnih skupina. U studiji Lana i sur. izražaj PTEN-a u DT-u zdravih štakora te bioptičkim uzorcima zdravog bubrežnog tkiva kao i u fibrozno promijenjenom tubulointersticiju bio je slab do odsutan (187). Naši rezultati upućuju na mogući slabiji intenzitet ozljede distalnog nefrona, odnosno bolju rediferencijaciju ove bubrežne strukture u sklopu reparativnih procesa.

## 6. ZAKLJUČAK

Promjene ekspresije istraživanih biljega SATB1 i PTEN u ovoj studiji bile su najizraženije u stanicama proksimalnog tubula, i to u oprečnom smjeru, s povećanjem izražaja SATB1 i sniženjem PTEN-ekspresije.

SATB1 je bio znatno povišen u svim bubrežnim strukturama obiju ispitnih skupina u odnosu na kontrolnu, što upućuje na važnost ovog biljega u patogenezi bubrežnih bolesti. Slijedom poznate uloge SATB1 u EMT-u i tumorigenezi, moguće ga je prihvatiti kao pozitivni biljeg napredovanja KBB-a te čimbenika povećanog rizika maligne alteracije u bolesnika s KBB-om.

PTEN, otprije poznati biljeg epitelnog integriteta i diferencijacije te negativni biljeg fibroze u različitim tkivima, pa tako i u bubregu, zabilježen je znatno snižen u stanicama PT-a. Najveća promjena izražaja ovih biljega upravo u PT-u naglašava važnost ove metabolički aktivne i energetske zahtjevne, a time i osjetljivije bubrežne strukture u patogenezi KBB-a različite etiologije.

U cilju potvrde važnosti odnosa SATB1/PTEN kao biljega aktivnosti i prognoze bubrežne bolesti potrebna su daljnja istraživanja uz sljedeće:

- uključivanje većeg ispitnog uzorka,
- identifikaciju funkcionalnog (genomski, transkripcijski ili proteomski) obilježja, odnosno surogata gubitka funkcije PTEN-a, kao sigurnijeg znaka od imunohistokemijske identifikacije,
- korelaciju rezultata izražaja biljega i dinamike kliničkih promjena.

Temeljem dosadašnjih saznanja i rezultata ove studije, može se zaključiti da su ovi biljezi i signalni putovi koji su s njima u vezi potencijalni zahvatni ciljevi u imunomodulatornom i antifibrotičkom liječenju KBB-a, odnosno usporavanju napredovanja prema završnom stadiju bolesti, s odgađanjem potrebe nadomjesnog liječenja dijalizom.

## 7. SAŽETAK

Kronična bubrežna bolest rastući je javnozdravstveni problem i značajan čimbenik srčano-žilnog pobola i smrtnosti. Pored dijabetesa, pretilosti i arterijske hipertenzije, bolesti glomerula najčešći su uzroci KBB te su u 90% slučajeva uzrokom definitivnog bubrežnog otkaza. Analiza tkiva dobivenog biopsijom bubrega temelj je dijagnoze, procjene prognoze i praćenja učinka primijenjene terapije. Standardna obilježja KBB - glomeruloskleroza, intersticijska fibroza i atrofija tubula uvriježeni su predskazatelji lošeg bubrežnog ishoda; postoji, međutim, potreba za iznalaženjem ranih pokazatelja u cilju pravodobne terapijske intervencije.

SATB1 i PTEN su tkivni biljezi koji djeluju u različitim tkivima u oprečnom smjeru. Generalno, povećana aktivnost SATB1 udružena je s gubitkom kontrole staničnog ciklusa, tumorigenezom i gubitkom imunološke kontrole, kao i smanjena aktivnost PTEN-a. U ovoj studiji izražaj pro-apoptotskog PTEN-a i anti-apoptotskog SATB1 ispitivan je u različitim tkivnim strukturama kore 32 bioptička uzorka primarnih i sekundarnih bolesti bubrega kategoriziranih u dvije ispitne skupine sa različitim stupnjem proliferacije, a u odnosu na zdravu kontrolu. Oba biljega su bila izražena u svim tkivnim strukturama ispitnih skupina. Epitelne stanice tubula su općenito bile mjesto izraženijih promjena u odnosu na glomerule, s najizraženijim promjenama u distalnim tubulima proliferativne skupine. SATB1 ekspresija bila je značajno povišena u svim tkivnim strukturama ispitnih skupina, dok je izražaj PTEN-a bio značajno snižen u proksimalnim tubulima obje ispitne skupine u odnosu na kontrolu. Zaključno, oba biljega se mogu smatrati značajnim čimbenicima u patogenezi bubrežnih bolesti. Daljnja istraživanja potrebna su u cilju pozicioniranja izražaja SATB1/PTEN u procjeni aktivnosti/kroniciteta bolesti, u dijagnostici, kliničkom praćenju kao i mogućnosti terapijskih postupaka.

## 8. ABSTRACT

Chronic kidney disease (CKD) is a growing public health problem and an important cause of cardiovascular morbidity and mortality. Along with diabetes, obesity, and arterial hypertension, glomerular diseases are the most common causes of CKD, leading to end-stage renal disease (ESRD) in 90% of cases. Pathohistologic analysis of renal biopsy specimens provides the basis for diagnosis, prognostic prediction, and therapeutic follow-up. Standard



pathohistological signs of chronicity: glomerulosclerosis, interstitial fibrosis, and tubular atrophy are the most important signs of worse clinical prognosis, and early indicators are necessary for optimal therapeutic intervention.

In the present study, 32 renal biopsy specimens from different renal diseases were divided into two study groups: proliferative and nonproliferative, and the expression of SATB1 and PTEN was analysed in different structures of the renal cortex compared with healthy tissue.

Both markers were present in all renal structures. In general, the changes were more pronounced in tubular epithelial cells than in glomeruli, especially in the distal tubules of the samples of the proliferative group. SATB1 was more pronounced in all structures of the studied group compared with the control group, in contrast to PTEN, which was significantly more decreased in the proximal tubule epithelial cells than in the control group.

In conclusion, both markers can be considered as important factors in the pathogenesis of renal diseases. Further studies are needed to determine the influence of SATB1/PTEN in the classification of renal disease activity/chronicity, diagnosis, clinical monitoring, and therapeutic procedures.

## 9. LITERATURA

1. Clapp W, Zhou XJ, Laszik Z, Nadasdy T, D'Agati VD, Silva FG. Renal Anatomy. U: Silva's Diagnostic Renal Pathology. Prvo izdanje. New York: Cambridge University Press; 2009. str. 1-47.
2. Cohen AH. Renal Anatomy and Basic Concepts and Methods in Renal Pathology. U: Arthur H. Agnes B. Fogo, Arthur H. Cohen, J. Charles Jennette, Jan A. Bruijn, Robert B. Colvin. Fundamentals of Renal Pathology. Prvo izdanje. New York: Springer; 2006. str. 3-19.
3. Hall JE. Urinae Formation by Kidneys. U: Hall JE. Guyton and Hall. Textbook of Medical Physiology. 12. izdanje. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011. str 303.
4. Rayner HC. Kidney anatomy and physiology. U: Rayner HC, Milford DV, Thomas M. Understanding Kidney Diseases. Prvo izdanje. Švicarska: Springer International; 2016. str.1-10.
5. Kriz W, Elger M. Renal Anatomy. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. Comprehensive Clinical Nephrology. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str. 1-14.
6. Bailey MA, Unwin RJ. Renal Physiology. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. Comprehensive Clinical Nephrology. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str.14.
7. OpenStax College. The urinary system. U: Anatomy & Physiology. Houston, Texas: Rice University. 2013. Dostupno na <http://cnx.org/content/col11496/latest/ch>
8. Hamm LL, Nakhoul N, Hering-Smith KS. Acid-base homeostasis. Clin J Am Soc Nephrol. 2014;10:2232-42.
9. Curthoys NP, Moe OW. Proximal tubule function and response to acidosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2014;9:1627-38.
10. Subramanya AR, Ellison DH. Distal convoluted tubule. Clin J Am Soc Nephrol. 2014;9:2147-63.
11. Ljutić D, Jeličić I. Lijekovi koji djeluju na renin-angiotenzin-aldosteronski sustav. Medicus. 2010; 19:139-46.
12. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10:1257-72.
13. Nigam SK, Wu W, Bush KT, Hoenig,MP, Blantz RC, Bhatnagar V. Handling of drugs, metabolites and uremic toxins, Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10:2039-49.

14. Pollak MR, Quaggin SE, Hoenig MP, Dworkin LD. The Glomerulus: the sphere of influence. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9:1461-69.
15. Danziger J, Zeidel ML. Osmotic homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10:852-62.
16. Dantzler WH, Layton AT, Layton HE, Pannabecker TL. Urine-concentrating mechanism in the inner medulla: function of the thin limbs of the loops of Henle. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9:1781-89.
17. Mount DB. Thick ascending limb of the loop of Henle. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014; 9:1974-86.
18. Gilbert JS, Weiner, ED. Primer on kidney diseases. Seventh edition. Philadelphia; Elsevier; 2018.
19. Pearce D, Soundararajan R, Trimpert C, Kashlan OB, Deen PM, Kohan DE. Collecting duct principal cell transport processes and their regulation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10:135-46.
20. Roy A, Al-bataineh MM, Pastor-Soler NM. Collecting duct intercalated cell function and regulation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10:305-24.
21. Fogazzi GB, Giuseppe Garigali G. Urinalysis. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str. 39.
22. Inker LA, Levey AS. Assessment of Glomerular Filtration Rate. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str. 29.
23. Arif-Tiwari H, Kalb B; Semelka RC, Martin DR. Imaging the Kidneys. U: Gilbert SJ, Weiner DE et al. *Primer on Kidney Disease*. National Kidney Foundation. Sedmo izdanje. Philadelphia: Elsevier Inc; 2018. str. 51-65.
24. Horvatic I, Tisljar M, Bulimbasic S, Bozic B, Galesic Ljubanovic D, Galešić K. Epidemiologic data of adult native biopsy-proven renal diseases in Croatia. *Int Urol Nephrol*. 2013;45:1577-87.
25. Haas M. A reevaluation of routine electron microscopy in the examination of native renal biopsies. *J Am Soc Nephrol*. 1997;8:70-6.
26. Levey AS, Levin A, Kellum JA. Definition and classification of kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2013;61:686-68.
27. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J i sur. Chronic kidney disease: Definition and classification. *Kidney Int*. 2005;67:2089-100.

28. Matovinović Sabljarić M. Pathophysiology and Classification of Kidney Diseases - eJIFCC 20/01 2009 <http://www.ifcc.org>.
29. Singh L, Singh G, Dinda AK. Understanding podocytopathy and its relevance to clinical nephrology. *Indian Journal of Nephrology*. 2015;25:1-7.
30. Feehally J, Floege J. Introduction to Glomerular Disease: Histologic Classification and Pathogenesis. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str. 999–1082.
31. Segerer S, Kretzler M, Strutz F et al. Mechanisms of tissue injury and repair in renal diseases. U: Schrier R. *Diseases of the Kidney and Urinary Tract*. Osmo izdanje. Philadelphia: Lippincott; 2007. str. 1438.
32. Torres VE, Harris PC. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. U: Feehally J, Floege J, Tonelli M, Johnson RJ. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Šesto izdanje. London: Elsevier Inc; 2019. str. 532.
33. Cohen AH. Tubulointerstitial Diseases. U: Arthur H. Agnes B. Fogo, Arthur H. Cohen, J. Charles Jennette, Jan A. Bruijn, Robert B. Colvin. *Fundamentals of Renal Pathology*. Prvo izdanje. New York: Springer; 2006. str.143.
34. Fogo AB. Vascular Diseases. U: Arthur H. Agnes B. Fogo, Arthur H. Cohen, J. Charles Jennette, Jan A. Bruijn, Robert B. Colvin. *Fundamentals of Renal Pathology*. Prvo izdanje. New York: Springer; 2006. str.115.
35. Levin A, Paul ES. Summary of KDIGO 2012 CKD Guideline: behind the scenes, need for guidance, and a framework for moving forward. *Kidney Int*. 2014;85:49-61.
36. Van der Velde M, Matsushita K, Coresh J, Astor BC, Woodward M, Levey A i sur. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int*. 2011;79:1341-1352.
37. Huang M-J, Wei R-B, Zhao J, Su TY, Li QP, Yang X, Chen XM i sur. Albuminuria and endothelial dysfunction in patients with non-diabetic chronic kidney disease. *Med Sci Monit*. 2017;23: 4447-53.
38. Steinberg EP: Improving the quality of care - Can we practice what we preach? *N Engl J Med*. 2003; 348:2681-83.
39. Kassebaum NJ, Arora M, Barber RM et al.: GBD 2015 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted lifeyears (DALYs) for 315

- diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE), 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016; 388: 1603-16.
40. Jager J, Kovesdy C, Langham R, Rosenberg M, Jha V, Zoccali C. A single number for advocacy and communication—worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *Kidney Int*. 2019;96:1048-50.
  41. Hill NR, Fatoba ST, Oke JL. Global prevalence of chronic kidney disease – a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2016;11(7): e0158765.
  42. Chan JC, Gregg EW, Sargent J, Horton R. Reducing global diabetes burden by implementing solutions and identifying gaps: a Lancet Commission. *Lancet*. 2016; 387:1494-95.
  43. Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005; 365:217-23.
  44. Xie J, Bowe B, Mokdad AH, Xian H, Yan Y, Li T i sur. Analysis of the global burden of disease study highlights the global, regional and national trends of chronic kidney disease epidemiology from 1990 to 2016. *Kidney Int*. 2018;94:567-81.
  45. Kes P, Bašić Jukić N, Jurić I, Brunetta Gavrančić B. Završni stadij zatajenja bubrega u starijih osoba. *Acta Medica Croatica*. 2012;66:22–36.
  46. Mignon F, Michel C, Mentre F, Viron B. Worldwide demographics and future trends of the management of renal failure in the elderly. *Kidney Int Suppl*. 1993; 41:18-26.
  47. Lyckx V, Tuttle KR, Garcia-Garcia G, Gharbi MB, Heerspink HJL, Johnson DW i sur. Reducing major risk factor for chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2017;7:71-87.
  48. Hedner Ch., Gaber A, Korkocić D Kazancioglu R. Risk factors for chronic kidney disease: an update. *Am J Nephrol*. 2016;43:1-19.
  49. Lea JP, Nicholas SB. Diabetes mellitus and hypertension: key risk factors for kidney disease. *J Natl Med Assoc*. 2002;94:7-15.
  50. USRDS - United States renal data system 2013 annual report (preuzeto 15 srpnja, 2014).
  51. Foti KE, Wang D, Chang AR, Selvin E, Sarnak MJ, Chang TI i sur. Potential implications of the 2021 KDIGO blood pressure guideline for adults with chronic kidney disease in the United States. *Clin Invest* . 2021;99:686-95.
  52. ERA-EDTA registry annual report 2012 (pristupljeno 15. srpnja, 2014).

53. Heung M, Steffick DE, Zivin K, Gillespie BW, Banerjee T, Hsu CY i sur. Centers for Disease Control and Prevention CKD Surveillance Team. Acute kidney injury recovery pattern and subsequent risk of CKD: an analysis of Veterans Health Administration data. *Am J Kidney Dis.* 2016;67:742-52.
54. Fiorentino M, Bolignano D, Tesar V, Pisano A, Van Biesen W, D'Arrigo G i sur. Renal Biopsy in 2015-From Epidemiology to evidence-based indications. *Am J Nephrol.* 2016;43:1-19.
55. Arapović A, Vukojević K, Filipović N Glavina Durdov M, Ljubanović-Galešić D, Saraga-Babić M i sur. Epidemiology of 10-year paediatric renal biopsies in the region of southern Croatia. *BMC Nephrology.* 2020; 21:65-77.
56. Bazina M, Glavina-Durdov M, Šćukanec-Spoljar M, Bazina A, Vukojević K, Ljutić D i sur. Epidemiology of renal disease in children in the region of southern Croatia: a 10-year review of regional renal biopsy databases. *Med Sci Monit.* 2007;13:172-76.
57. Nzerue CM, Demissachew H, Tucker JK. Race and kidney disease: role of social and environmental factors. *J Natl Med Assoc.* 2002;94:28-38.
58. Falodia J, Singla MK. CKD epidemiology and risk factors. *Clin Queries Nephrol.* 2012; 1:249-52.
59. Luyckx VA, Brenner BM. The clinical importance of nephron mass. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:898-910.
60. Vikse BE, Irgens LM, Leivestad T Hallan S, Iversen BM i sur. Low birth weight increases risk for end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:151-7.
61. Iseki K. Factors influencing the development of end-stage renal disease. *Clin Exp Nephrol* 2005;9:5-14.
62. Takamatsu N, Abe H, Tominaga T, Nakahara K, Ito Y, Okumoto Y i sur. Risk factors for chronic kidney disease in Japan: a community-based study. *BMC Nephrol.* 2009; 10:34.
63. Glassock RJ, Rule AD. Aging and the kidneys: anatomy, physiology and consequences for defining chronic kidney disease. *Nephron.* 2016;134:25-9.
64. Mirrakhimov AE. Obstructive sleep apnea and kidney disease: is there any direct link? *Sleep Breath* 2012;16:1009-16.
65. Obermayr RP, Temml C, Gutjahr G Knechtelsdorfer M, Oberbauer R, Klausner-Braun R. Elevated uric acid increases the risk for kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19: 2407-13.

66. Pradeep AR, Kathariya R, Raju A Sushma Rani R, Sharma A, Raghavendra NM. Risk factors for chronic kidney diseases may include periodontal diseases, as estimated by the correlations of plasma pentraxin-3 levels: a case-control study. *Int Urol Nephrol*. 2012;44: 829-39.
67. Inoue T, Iseki K, Iseki C, Ohya Y, Kinjo K, Takishita S. Heart rate as a risk factor for developing chronic kidney disease: longitudinal analysis of a screened cohort. *Clin Exp Nephrol*. 2009;13:487-93.
68. Couser WG, Remuzzi G, Mendis S, Tonelli M. The contribution of chronic kidney disease to the global burden of major noncommunicable diseases. *Kidney Int*. 2011; 80: 1258-70.
69. Briasoulis A, Bakris GL. Chronic kidney disease as a coronary artery disease risk equivalent. *Curr Cardiol Rep*. 2013;15:340
70. Matsushita K, Coresh J, Sang Y, Chalmers J, Fox C, Guallar E i sur. Estimated glomerular filtration rate and albuminuria for prediction of cardiovascular outcomes: a collaborative meta-analysis of individual participant data. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3:514-25.
71. Schiffrin E, Lipman ML, Mann J. Chronic Kidney Disease: Effects on the Cardiovascular System. *Circulation*. 2007;116:85-97.
72. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M i sur. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:2034-47.
73. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak M. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998;32:112-19.
74. Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic uremia. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10:1606-15.
75. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJ, Mann JF et al. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms and prevention. *Lancet*. 2013; 382:339-52.

76. Kerr M, Bray B, Medcalf J, O'Donoghue DJ, Matthews B. Estimating the financial cost of chronic kidney disease to the NHS in England. *Nephrol Dial Transplant*. 2012; 27:73-80.
77. Rupert W, Shepperd D, Medcalf JF, Gray LJ, Brunskill NJ. The Kidney Failure Risk Equation for prediction of end stage renal disease in UK primary care: An external validation and clinical impact projection cohort study. *PLoS Med*. 2019;16(11): e1002955.
78. Zhang S, Gao X, Ma Y, Jiang J, Dai Z, Yin X i sur. Expression and significance of SATB1 in the development of breast cancer. *Genet Mol Res*. 2015;14:3309-17.
79. Alvarez JD, Yasui DH, Niida H, Joh T, Loh DY, Kohwi-Shigematsu T. The MAR binding protein SATB1 orchestrates temporal and spatial expression of multiple genes during T-cell development. *Genes Dev*. 2000;14:521-35.
80. Ding M, Pan J, Guo Z, Liu Q, Yang C, Mao L. SATB1 is a novel molecular target for cancer therapy. *Cancer Invest*. 2018; 36:28-36.
81. Chenga Ch, Wan F, Li L. Overexpression of SATB1 Is Associated with Biologic Behavior in Human Renal Cell Carcinoma. *PLOS ONE*, 2014;9(5)e97406.
82. Kamalvishnu P. Gottimukkala, Mithila Burute and Sanjeev Galande. U SATB1: Key Regulator of T Cell Development and Differentiation, *Hematology - Science and Practice*, Dr. Charles Lawrie (Ed.), InTech, 2012.
83. Shukla S, Sharma H, Abbas A et al. Upregulation of SATB1 Is Associated with Prostate Cancer Aggressiveness and Disease Progression. *PLOS ONE*, 2013;8(1):e5352.
84. Yasuda K, Kitagawa Y, Kawakami R, Isaka Y, Watanabe H, Kondoh G i sur. Satb1 regulates the effector program of encephalitogenic tissue Th17 cells in chronic inflammation. *Nat Commun*. 2019;10:549
85. Hedner C, Gaber A, Korkocic D, Nodin B, Uhlén M, Kuteeva E i sur. SATB1 is an independent prognostic factor in radically resected upper gastrointestinal tract adenocarcinoma. *Virchows Arch*. 2014; 465:649-59.
86. Zhongya Pan, Wei Jing, Keli He, Li Zhang, Xinghua L. SATB1 is correlated with progression and metastasis of breast cancers: a meta-analysis. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38:1975-83.
87. Han HJ, Russo J, Kohwi Y, Kohwi-Shigematsu T. SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis. *Nature*. 2008; 452:187-193.



88. Zhao J, Tuo Y, Luo W, He Sh, Chen Y. Prognostic and Clinicopathological Significance of SATB1 in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *Front Physiol.* 2018; 9:535.
89. Nodin B, Hedner Ch, Uhlén M, Jirström K. Expression of the global regulator SATB1 is an independent factor of poor prognosis in high grade epithelial ovarian cancer. *J Ovarian Res.* 2012;5:24.
90. Chen H, Takahara M, Oba J, Xie L, Chiba T, Takeuchi S i sur. Clinicopathologic and prognostic significance of SATB1 in cutaneous malignant melanoma. *J Dermatol Sci.* 2011;64:39-44.
91. Wang Sh, Zeng J, Xiao R, Xu G, Liu G, Xiong D i sur. Poor prognosis and SATB1 overexpression in solid tumors: a meta-analysis. *Cancer Manag Res.* 2018;10:1471-78.
92. Larue L, Bellacosa A. Epithelial-mesenchymal transition in development and cancer: role of phosphatidylinositol 3' kinase/AKT pathways. *Oncogene.* 2005;24:7443-54.
93. Boyer B, Valles AM, Edme N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol.* 2000;60:1091-9.
94. Delić Jukić IK, Kostic S, Filipovic N, Gudelj Ensor L, Ivandic M, Dukic JJ i sur. Changes in expression of special AT-rich sequence binding protein 1 and phosphatase and tensin homologue in kidneys of diabetic rats during aging. *Nephrol Dial Transplant.* 2018; 33:1734-41.
95. Zhu H, Peng Wei Li J. FOXA1 suppresses SATB1 transcription and inactivates the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway to alleviate diabetic nephropathy in a mouse model. *Diabetes, Metab Syndr Obes.* 2021; 14: 3975-87.
96. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI i sur. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science.* 1997;275:1943-47.
97. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH i sur. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet.* 1997;15:356-62.
98. Chen L, Guo D. The functions of tumor suppressor PTEN in innate and adaptive immunity. *Cell Mol Immunol.* 2017;14:581-89.
99. Chen CY, Chen J, He L, Stiles BL. PTEN: tumor suppressor and metabolic regulator. *Front Endocrinol.* 2018;9:338-50.

100. Milella M, Falcone I, Conciatori F, Cesta Incani U, Del Curatolo A, Inzerilli N i sur. PTEN: multiple functions in human malignant tumors. *Front Oncol.* 2015;5:24.
101. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999.13; 96:4240-45.
102. Song MS, Salmena L, Pandolfi PP. The functions and regulation of the PTEN tumour suppressor. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13:283-96.
103. Osaki M, Oshimura M, Ito H. The PI3K-Akt pathways: its functions and alterations in human cancer. *Apoptosis.* 2004; 9:667-76.
104. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell.* 2007;129:1261-74.
105. Nicholson KM Anderson NG.. The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal.* 2002;14:381-95.
106. Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathyway: of feedbacks and cross-talks. *Oncogene.* 2008; 27:5527.
107. Gao HY, Han CX. The role of PTEN up-regulation in suppressing glomerular mesangial cells proliferation and nephritis pathogenesis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21:3634-41.
108. Wang H, Yu G, Wang L Wang L, Li Y, Xie M, Lu Y, Cui Y i sur. Expression of PTEN-long nephritis and its effect on renal inflammation. *Exp Ther Med.* 2019;17:1405-11.
109. Hlobilkova A, Guldberg P, Thullberg M, Zeuthen J, Lukas J, Bartek J. Cell cycle arrest by the PTEN tumor suppressor is target cell specific and may require protein phosphatase activity. *Exp Cell Res.* 2000;256:571-77.
110. Leslie NR, Foti M. Non-genomic loss of PTEN function in cancer: not in my genes. *Trends Pharmacol Sci.* 2011;32:131-40.
111. Garfin PM, Nguyen T, Sage J. Loss of Pten Disrupts the Thymic Epithelium and Alters Thymic Function. *PLoS One.* 2016;11(2):e0149430.
112. Eng C. PTEN: one gene, many syndromes. *Hum Mutat.* 2003;22:183-98.
113. Liaw D, Marsh D, Li P, Dahia PL, Wang SI, Zheng Z i sur. Germline mutations of the PTEN gene in Cowden disease, an inherited breast and thyroid cancer syndrome. *Nat Genet.* 1997;16:64-7.

114. Mester JL, Moore RA, Eng C. PTEN germline mutations in patients initially tested for other hereditary cancer syndromes: would use of risk assessment tools reduce genetic testing? *Oncologist* 2013;18:1083-90.
115. Suzuki A, Yamaguchi MT, T Ohteki T, Sasaki T, Kaisho T, Kimura Y i sur. T cell-specific loss of PTEN leads to defects in central and peripheral tolerance. *Immunity*. 2001;14:523-34.
116. Ray JP, Craft J. PTEN initiating autoimmunity through Treg cell deregulation. *Nat Immunol*. 2015;16:139-40.
117. Lee SH, Park JS, Byun JK, Jhun J, Jung K, Seo HB i sur. PTEN ameliorates autoimmune arthritis through down-regulating STAT3 activation with reciprocal balance of Th17 and Tregs. *Sci Rep*. 2016;6:34617.
118. Gao J, Zhou XI, Kong RN, Ji IM, He II, Zhao DB. MicroRNA-126 targeting PI3K2 promotes rheumatoid arthritis synovial fibro-blasts proliferation and resistance to apoptosis by regulating PI3K/ AKT pathway. *Exp Mol Pathol*. 2016;100:192-98.
119. Besliu AN, Pistol G, Marica CM, Bănică LM, Chițonu C, Ionescu R, Tănăseanu C i sur. PI3K/Akt signaling in peripheral T lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients. *Roum Arch Microbiol Immunol*. 2009;68:69-79.
120. Huang JG, Xia C, Zheng XP, Yi TT, Wang XY, Song G i sur. 17beta-Estradiol promotes cell proliferation in rat osteoarthritis model chondrocytes via PI3K/Akt pathway. *Cell Mol Biol Lett*. 2011;16:564-75.
121. Styliano UK, Petrakis I, Mavroeidi V, Stratakis S, Vardaki E, Perakis K i sur. The PI3K/Akt/mTOR pathway is activated in murine lupus nephritis and downregulated by rapamycin. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26:498-508.
122. Lin J, Shi Y, Peng H, Shen X, Thomas S, Wang Y i sur. Loss of PTEN promotes podocyte cytoskeletal rearrangement, aggravating diabetic nephropathy. *J Pathol*. 2015; 236:30-40.
123. Wang YY, Liu RX, Guo B, Xiao Y, Shi MJ, Pi MJ i sur. Down-regulation of PTEN expression in kidney and its role in development of diabetic nephropathy in rats . *Sheng Li Xue Bao*. 2011;63:325-32.
124. Gao HY, Han CX. The role of PTEN up-regulation in suppressing glomerular mesangial cells proliferation and nephritis pathogenesis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21:3634-41.

125. Samarakoon R, Helo S, Dobberfuhr AD, Khakoo NS, Falke L, Overstreet JM i sur. Loss of tumour suppressor PTEN expression in renal injury initiates SMAD3 and p53 dependent fibrotic responses. *J Pathol.* 2015;236:421-32.
126. White ES, Atrasz RG, Hu B, Phan SH, Stambolic V, Mak TW i sur. Negative regulation of myofibroblast differentiation by PTEN (Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on chromosome 10). *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173:112-21.
127. Miyoshi K, Yanagi S, Kawahara K, Nishio M, Tsubouchi H, Imazu Y i sur. Epithelial Pten controls acute lung injury and fibrosis by regulating alveolar epithelial cell integrity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:262-75.
128. Zhou J, Fan Y, Tang S, Wu H, Zhong J, Huang Z i sur. Inhibition of PTEN activity aggravates cisplatin-induced acute kidney injury. *Oncotarget.* 2017;8:103154-166.
129. Yuan J, Benway CJ, Bagley J, Iacomini J. MicroRNA-494 promotes cyclosporine-induced nephrotoxicity and epithelial to mesenchymal transition by inhibiting PTEN. *Am J Transplant.* 2015;15:1682-91.
130. Zhou J, Jia L, Hu Z, Wang Y. Pharmacological Inhibition of PTEN Aggravates Acute Kidney Injury. *Sci Rep.* 2017;7:9503.
131. Zhou J, Zhong J, Lin S, Chen H, Tang S, Yang C i sur. Inhibition of PTEN activity aggravates post renal fibrosis in mice with ischemia reperfusion-induced acute kidney injury. *Cell Physiol Biochem.* 2017;43:1841-54.
132. Bao H, Hu Sh, Zhang Ch, Shi S, Qin W, Zeng i sur. Inhibition of miRNA-21 prevents fibrogenic activation in podocytes and tubular cells in IgA nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014; 444:455-60.
133. Cui D, Zhu D, Ren H, Lin J, Lai W, Huang Q i sur. MicroRNA-198 contributes to lupus nephritis progression by inhibition of phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten expression. *Mol Med Rep.* 2017;16:7813-20.
134. Qingjuan L, Xiaojuan F, Wei Z, Chao W, Pengpeng K, Hongbo L i sur. miR-148a-3p overexpression contributes to glomerular cell proliferation by targeting PTEN in lupus nephritis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2016;310:470-8.
135. Luciano RL, Moeckel GW. Update on the native kidney biopsy: core curriculum 2019. *Am J Kidney Dis.* 2019;73:404-15.
136. Menn-Josephy H, Lee CS, Nolin A, Christov M, Rybin DV, Weinberg JM i sur. Renal interstitial fibrosis: an imperfect predictor of kidney disease progression in some patient cohorts. *Am J Nephrol.* 2016;44:289-99.

137. Boutet A, A De Frutos C, Maxwell PH, Mayol MJ, Romero J, Nieto MA i sur. Snail activation disrupts tissue homeostasis and induces fibrosis in the adult kidney. *EMBO J*. 2006;25:5603-13.
138. Vitlov Uljević M, Starčević K, Masek T, Bočina I, Restović I, Kević N i sur. Dietary DHA/EPA supplementation ameliorates diabetic nephropathy by protecting from distal tubular cell damage. *Cell Tissue Res*. 2019;378:301-17.
139. Naik R, Galande S. SATB family chromatin organizers as master regulators of tumor progression. *Oncogene*. 2019;38:1989-2004.
140. Liu Y. New Insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol*. 2010: 212-22.
141. Liu L, Sun Q, Davis F, Mao J, Zhao H, Ma D et al. Epithelial–mesenchymal transition in organ fibrosis development: current understanding and treatment strategies. *Burns Trauma*. 2022;10:011.
142. Mao L, Yang Ch, Wang J, Li W, Wen R, Chen J, Zheng J i sur. SATB1 is overexpressed in metastatic prostate cancer and promotes prostate cancer cell growth and invasion. *J Transl Med*. 2013;11:111.
143. Han S, Xia J, Qin X, Wu A. Phosphorylated SATB1 is associated with the progression and prognosis of glioma. *Cell Death Dis*. 2013;4:901.
144. Yehia L, Ngeow J, Eng C. PTEN-opathies: from biological insights to evidence-based precision medicine. *J Clin Invest*. 2019;129:452-64.
145. Alimonti A, Carracedo A, Clohessy JG, Trotman LC, Nardella C, Egia A i sur. Subtle variations in PTEN dose determine cancer susceptibility. *Nat Genet*. 2010;42: 454-8.
146. Hollander MC, Blumenthal GM, Dennis PA. PTEN loss in the continuum of common cancers, 34 rare syndromes and mouse models. *Nat Rev Cancer*. 2011;11: 289-301.
147. Stambolic V, Woodgett JR. Functional distinctions of protein kinase B/Akt isoforms defined by their influence on cell migration. *Trends Cell Biol*. 2006;16:461-66.
148. Moorehead RA, Hojilla CV, De Belle I, Wood GA, Fata JE, Adamson ED i sur. Insulin-like growth factor-II regulates PTEN expression in the mammary gland. *J Biol Chem*. 2003;278:50422-27.
149. Virolle T, Adamson ED, Baron V, Birle D, Mercola D, Mustelin T, de Belle I i sur. The Egr-1 transcription factor directly activates PTEN during irradiation-induced signalling. *Nat Cell Biol*. 2001;3:1124-28.

150. Patel L, Pass I, Coxon P, Downes CP, Smith SA, Macphee CH. Tumor suppressor and anti-inflammatory actions of PPAR gamma agonists are mediated via upregulation of PTEN. *Curr Biol.* 2001;11:764-68.
151. Zhou Y, Xiong M, Fang L, Jiang L, Wen P, Dai C, Zhang CY, Yang J i sur. miR-21- containing microvesicles from injured tubular epithelial cells promote tubular phenotype transition by targeting PTEN protein. *Am J Pathol.* 2013;183:1183-96.
152. Wang X, Shen E, Wang Y, Li J, Cheng D, Chen Y, Gui D, Wang N. Cross talk between miR-214 and PTEN attenuates glomerular hypertrophy under diabetic conditions. *Sci Rep.* 2019;6:31506.
153. Denby L, Ramdas V, Lu R, Conway BR, Grant JS, Dickinson B i sur. MicroRNA-214 antagonism protects against renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2014;1: 65-80.
154. Wang J, Yang X. The function of miRNA in cardiac hypertrophy. *Cell Mol Life Sci.* 2012;21:3561-70.
155. Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, Erikci E, Kardasinski M, Sandor Batkai S i sur. The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. *Nat Commun.* 2012;3:1078.
156. Bhatt K , Kato M, Natarajan R. Mini-review: emerging roles of microRNAs in the pathophysiology of renal diseases. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;310:109-18.
157. Mohamed JS, Lopez MA, Boriek AM. Mechanical stretch up-regulates microRNA-26a and induces human airway smooth muscle hypertrophy by suppressing glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . *J Biol Chem.* 2010;38:29336-47.
158. Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology.* 2007;133:647-55.
159. Zhang JG, Wang JJ, Zhao F, Liu Q, Jiang K, Yang GH. MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Clin Chim Acta.* 2010;411:846-52.
160. Huo J, Zhang Y, Li R, Wang Y, Wu J, Zhang D i sur. Upregulated microRNA-25 mediates the migration of melanoma cells by targeting DKK3 through the WNT/ $\beta$ -catenin pathway. *Int J Mol Sci.* 2016;17:1124.
161. Xiao B, Wang L-N, Wei L, Gong L, Yu T, Zuo QF i sur. Plasma microRNA panel is a novel biomarker for focal segmental glomerulosclerosis and associated with podocyte apoptosis. *Cell Death Dis.* 2018;9:533.

162. Zhang Y, Zhao S, Wu D, Liu X, Shi M, Yuanyuan Wang Y i sur. MicroRNA-22 promotes renal tubulointerstitial fibrosis by targeting PTEN and suppressing autophagy in diabetic nephropathy. *J Diabetes Res.* 2018;9:533.
163. Wang J, Duan L, Tian L, Liu J, Wang S, Gao Y, Yang J i sur. Serum miR-21 may be a potential diagnostic biomarker for diabetic nephropathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2016;124:417-23.
164. Cao Y, Hu J, Sui J, Jiang I, Cong Y, Ren G. Quercetin is able to alleviate TGF- $\beta$ -induced fibrosis in renal tubular epithelial cells by suppressing miR-21. *Exp Ther Med.* 2018; 16: 2442–2448
165. Yuksel Y, Yukse R, Yagmurca M, Haltas H, Erdamar H, Toktas M and Ozcan O. Effects of quercetin on methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2017; 36:51-61.
166. Elbe H, Dogan Z, Taslidere E, Cetin A, Turkoz Y: Beneficial effects of quercetin on renal injury and oxidative stress caused by ciprofloxacin in rats: A histological and biochemical study. *Hum Exp Toxicol.* 2016; 35: 276–281
167. Amodio N, Scrima M, Palaia L, Salman AN, Quintiero A, Franco R et al. Oncogenic role of the E3 ubiquitin ligase NEDD4-1, a PTEN negative regulator, in non-small-cell lung carcinomas. *Am J Pathol.* 2010; 177(5): 2622–2634
168. Boosani CS, Agrawal DK. PTEN modulators: a patent review. *Expert Opin Ther Pat.* 2013;23(5): 569–580
169. Verrastro I, Tveen-Jensen K, Woscholski R, Spickett CM, Pitt AR. Reversible oxidation of phosphatase and tensin homolog (PTEN) alters its interactions with signaling and regulatory proteins. *Free Radic Biol Med.* 2016; 90: 24–34
170. Cruz CM, Rinna A, Forman HJ, Ventura ALM, Persechini PM, Ojcius DM. Activates a Reactive Oxygen Species-dependent Oxidative Stress Response and Secretion of Proinflammatory Cytokines in Macrophages. *Journal of Biological Chemistry.* 2007; 282: 2871–2879
171. Li S, Zhu M, Pan R, Fang T, Cao YY, Chen S et al. The tumor suppressor PTEN has a critical role in antiviral innate immunity. *Nat Immunol.* 2016; 17: 241–249
172. Champion BR, Fisher K, Seymour LA. PTENal cause for the selectivity of oncolytic viruses? *Nat Immunol.* 2016; 17: 225–226
173. Ahmed RA, Hopkins B, Palermo C, Sastra SA, Rapp Z et al. PTEN-Long and gemcitabine combination treatment as a therapeutic for pancreatic cancer. [abstract]. In: *Proceedings of the AACR Special Conference on Pancreatic Cancer: Innovations in*

- Research and Treatment; May 18-21, 2014; New Orleans, LA. Philadelphia (PA): AACR; Cancer Res 2015;75:Abstract nr PR14.
174. Stiles B, Wang Y, Stahl A, Bassilian S, Lee WP, Kim YJ et al. Liver-specific deletion of negative regulator Pten results in fatty liver and insulin hypersensitivity [corrected]. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 2082–2087
175. Stiles BL, Kuralwalla-Martinez C, Guo W, Gregorian C, Wang Y, Tian J et al. Selective deletion of Pten in pancreatic beta cells leads to increased islet mass and resistance to STZ-induced diabetes. *Mol Cell Biol*. 2006; 26: 2772–2781
176. Wijesekara N, Konrad D, Eweida M, Jefferies C, Liadis N, Giacca A et al. Muscle-specific Pten deletion protects against insulin resistance and diabetes. *Mol Cell Biol*. 2005; 25: 1135–1145
177. Rountree CB, Ding W, He L, Stiles B. Expansion of CD133-expressing liver cancer stem cells in liver-specific phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10-deleted mice. *Stem Cells*. 2009; 27: 290–299
178. Ding W, You H, Dang H, Leblanc F, Galicia V, Lu SC et al. Epithelial-to-mesenchymal transition of murine liver tumor cells promotes invasion. *Hepatology*. 2010; 52: 945–953
179. Debebe A, Medina V, Chen CY, Mahajan IM, Jia C, Fu D et al. Wnt/beta-catenin activation and macrophage induction during liver cancer development following steatosis. *Oncogene*. 2017; 36: 6020–6029
180. Galicia VA, He L, Dang H, Kanel G, Vendryes C, French BA, et al. Expansion of hepatic tumor progenitor cells in Pten-null mice requires liver injury and is reversed by loss of AKT2. *Gastroenterology*. 2010;139:2170–2182
181. Pal A, Barber TM, Van de Bunt M, Rudge SA, Zhang Q, Lachlan KL et al. PTEN mutations as a cause of constitutive insulin sensitivity and obesity. *N Engl J Med*. 2012; 367(11): 1001–1011
182. Chen JK, Nagai K, Chen J, Plieth D, Hino M, Xu J et al. Phosphatidylinositol 3-kinase signaling determines kidney size. *J Clin Invest*. 2015; 125: 2429–2444
183. Mahimainathan L, Das F, Venkatesan B, Choudhury G. Mesangial cell hypertrophy by high glucose is mediated by downregulation of the tumor suppressor PTEN. *Diabetes*. 2006; 55(7): 2115–2125
184. Chen S, Hong SW, Iglesias-de la Cruz MC, Isono M, Casaretto A, Ziyadeh FN: The key role of the transforming growth factor-beta system in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Ren Fail*. 2001; 23: 471–481



185. Bhatt K, Wei Q, Pabla N, Dong G, Mi QS, Liang Mingyu et al. MicroRNA-687 Induced by Hypoxia-Inducible Factor-1 Targets Phosphatase and Tensin Homolog in Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2015; 6(7): 1588–1596
186. Parapuram SK, Shi-wen X, Elliott Ch, Welch ID, Jones H, Baron M et al. Loss of PTEN Expression by Dermal Fibroblasts Causes Skin Fibrosis. *J Invest Dermatol*. 2011; 131: 1996–2003
187. Lan R, Geng H, Polichnowski AJ, Singha PK, Saikumar P, McEwen DG et al. PTEN loss defines a TGF--induced tubule phenotype of failed differentiation and JNK signaling during renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012; 302(9): 1210–1223

## **10. ŽIVOTOPIS**

### **OSOBNI PODACI**

**Ime i prezime:** Dijana Borić Škaro

**Adresa:** Ruđera Boškovića 21, 21000 Split

**Telefon:** +385 95 357 43 15; 021 470 076; 021 557 298

**Elektronička pošta:** zanaboric@gmail.com, dborskaro@kbsplit.hr

**Državljanstvo:** Hrvatsko

**Datum i mjesto rođenja:** 12. 08. 1964., Split

### **ŠKOLOVANJE**

1989.

Završen Medicinski fakultet u Splitu Sveučilišta u Zagrebu

2001.

Završena specijalizacija iz Interne medicine

2008.

Završena uža specijalizacija iz nefrologije

2016./2017.

Poslijediplomski doktorski studij

„Klinička medicina utemeljena na dokazima“

Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

### **RADNO ISKUSTVO**

1989.-1990.

Obvezni staž, DZ Split, KBC Split

1989.-1990.

Predavač u Srednjoj medicinskoj školi u Splitu

1990.-1992.

Liječnik opće medicine, DZ Hvar, Ambulanta Jelsa

1992.-1994.

Liječnik u postrojbama HV

1994.-1997.

Liječnik opće prakse, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split

1997.-2001.

Specijalizant Interne medicine, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split

2001.-2008.

Internist, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split

2008. do danas

Internist-nefrolog, Zavod za nefrologiju i dijalizu, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Split

2006.- 2022.

Asistent pri Veleučilištu u Splitu i Medicinskom fakultetu u Splitu,

Katedra Propedeutika interne medicine i Interna medicina

Predavač na Poslijediplomskom studiju MEFST

## **MATERINSKI JEZIK**

- Hrvatski jezik

## **OSTALI JEZICI**

- Engleski jezik

## **PUBLIKACIJE**

1. Serum Adropin Levels in Patients on Hemodialysis.

Boric-Skaro D, Mizdrak M, Luketin M, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Kurir TT, Bozic J.

Life (Basel). 2021 Apr 11;11(4):337. doi: 10.3390/life11040337.

2. Expression of renal vitamin D receptors and metabolizing enzymes in IgA nephropathy. Arapović A, Vukojević K, Glavina Durdov M, Benzon B, Šolić I, Racetin A, Jurić M, Čujić T, Kosović I, Lozić M, Borić Škaro D, Ljutić D, Saraga-Babić M, Simičić Majce A, Saraga M, Filipović N.

Acta Histochem. 2021 Jul;123(5):151740. doi: 10.1016/j.acthis.2021.151740. Epub 2021 Jun 8.

3. SATB1 and PTEN expression patterns in biopsy proven kidney diseases.

Borić Škaro D, Filipović N, Mizdrak M, Glavina Durdov M, Šolić I, Kosović I, Lozić M, Racetin A, Jurić M, Ljutić D, Vukojević K.

Acta Histochem. 2020 Dec;122(8):151631. doi: 10.1016/j.acthis.2020.151631. Epub 2020 Nov 2.

4. Epidemiology of 10-year paediatric renal biopsies in the region of southern Croatia.

Arapović A, Vukojević K, Filipović N, Glavina Durdov M, Ljubanović-Galešić D, Saraga-Babić M, Prgomet S, Simičić Majce A, Belavić A, Borić Škaro D, Ljutić D, Saraga M.

BMC Nephrol. 2020 Feb 26;21(1):65. doi: 10.1186/s12882-020-01727-7.

5. Plasma Catestatin Levels and Advanced Glycation End Products in Patients on Hemodialysis.

Luketin M, Mizdrak M, Boric-Skaro D, Martinovic D, Tokic D, Vilovic M, Supe-Domic D, Ticinovic Kurir T, Bozic J.

Biomolecules. 2021 Mar 18;11(3):456. doi: 10.3390/biom11030456.

6. Association of the novel CROW-65 risk score and mortality in hospitalized kidney transplant recipients with COVID-19 : A retrospective observational study.

Domjanović J, Matetić A, Baković Kramarić D, Domjanović Škopinić T, Borić Škaro D, Delić N, Runjić F, Jeličić I.

Wien Klin Wochenschr. 2022 Jul 7:1-8. doi: 10.1007/s00508-022-02052-9. Online ahead of print.

### **Knjige (koautor):**

Akutno oštećenje bubrega. Kes P. i suradnici. Zagreb: Medicinska naklada; 2018.

Farmakoterapija u gerijatriji. Duraković Z. i sur. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.

Hitna stanja u internoj medicini. Marasović Krstulović D. i sur. Zagreb: Medicinska naklada; 2022.

### **Ostalo**

Predavač na većem broju simpozija i stručnih skupova u organizaciji HDNDT-a  
Aktivni sudionik na većem broju skupova/tečaja sa međunarodnim sudjelovanjem

Od 02/2021.

Pročelnik Zavoda za nefrologiju i dijalizu, Klinike za unutarnje bolesti KBC Split

### **Članstva**

Hrvatska liječnička komora

Hrvatski liječnički zbor

Hrvatsko društvo za nefrologiju, dijalizu i transplantaciju (HDNDT)

European renal association, European dialysis and transplant association (ERA-EDTA)