

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
BELGYÓGYÁSZATI TANSZÉK ÉS KLINIKA

A VIZELET ALBUMIN/ÖSSZFEHÉRJE ARÁNY MEGHATÁROZÁSÁNAK
JELENTŐSÉGE PROTEINURIÁS KUTYÁKBAN

TÖRÖK BARBARA

ÁLLATORVOSTAN HALLGATÓ, VI. ÉVFOLYAM

TÉMAVEZETŐ:

DR. FALUS FRUZSINA ANNA

TUDOMÁNYOS SEGÉDMUNKATÁRS

ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM

BELGYÓGYÁSZATI TANSZÉK ÉS KLINIKA

2018

TARTALOM

1. Irodalmi áttekintés	4
1.1. Proteinuria.....	4
1.1.1. A proteinuria jelentősége	4
1.1.2. Élettan	5
1.1.3 A proteinuria kimutatása	6
1.1.4. A vizelet összfehérje/kreatinin aránya	7
1.1.5. A proteinuria háttérében álló kórokok elkülönítése	8
1.1.6. A glomerularis és tubularis proteinuria elkülönítése	10
1.1.7. Glomerularis megbetegedések és elkülönítésük	11
1.1.8. Vesebiopszia	12
1.2. Microalbuminuria	13
1.2.1. A microalbuminuria jelentősége	13
1.2.2. Microalbuminuria előfordulása emberekben	13
1.2.3. Microalbuminuria előfordulása kutyák és macskák esetén.....	14
1.2.4. Az albuminuria mérése	17
1.2.5. A microalbuminuria vizsgálatának indikációja.....	17
1.3. Albumin/összfehérje arány a vizeletben	18
2. Célkitűzések	20
3. Anyag és módszer.....	21
3.1. Mintagyűjtés	21
3.2. A minták feldolgozása	21
3.3. Az adatok feldolgozása	22
4. Eredmények	23
5. Megbeszélés, következtetések	29
6. Összefoglaló	34
7. Abstract.....	35
8. Irodalom jegyzék	36
9. Köszönetnyilvánítás	38

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACE: angiotensin-converting enzyme – angiotenzin-konvertáló enzim

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay – enzimhez kapcsolt immunszorbens vizsgálat

E.R.D.: early renal damage – korai vesekárosodás

FLUTD: feline lower urinary tract disease – macskák alsó húgyúti betegségei

HIV: human immunodeficiency virus – emberi immunhiányt okozó vírus

HMW: high molecular weight – nagy molekulatömegű

IBD: inflammatory bowel disease – gyulladáscélbélbetegségek

IMGN: immune-mediated glomerulonephritis – immun-mediált glomerulonephritis

LMW: low molecular weight – kis molekulatömegű

NAG: N-acetyl- β -D-glucosaminidáz

PLN: protein losing nephropathies – fehérjevesztéses nephropathiák

RBP: retinol binding protein – retinol kötő fehérje

ROC: receiver operating characteristic – vevő működési karakterisztika

SDS-PAGE: sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis – nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézis

UAC: urinary albumin-to-creatinine ratio – az albumin/kreatinin aránya a vizeletben

uAPR: urinary albumin-to-total protein ratio – vizelet albumin/összfehérje arány

UPC: urinary protein-to-creatinine ratio – az összfehérje/kreatinin aránya a vizeletben

uPEI: urinary protein electrophoresis and immunofixation – vizeletfehérje elektroforézis és immunfixáció

WHWT: west highland white terrier

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1. PROTEINURIA

1.1.1. A PROTEINURIA JELENTŐSÉGE

A proteinuria, vagy más néven fehérjevizelés, a különféle fehérjék vizeletben történő megjelenését leíró általános fogalom. Számos különböző kórok állhat a fehérjevizelés hátterében, amelyek változó minőségű és mennyiségű fehérjék átmeneti vagy tartós ürítéséhez vezethetnek.

A megnövekedett mennyiségű fehérje tartós jelenléte a vizeletben kóros (Grauer, 2011), és általában a fehérjevesztéses nephropathiák (protein losing nephropathies – PLN) jellemzője. Kutyaiban a PLN előfordulása sokkal gyakoribb, mint macskáiban (Littman, 2011).

Jacob és mtsai (2005) krónikus vesebeteg kutyákban kimutatták, hogy a proteinuriát (urinary protein-to-creatinine ratio – UPC ≥ 1) mutató betegek esetén nagyobb eséllyel fordul elő uraemiás krízis, és magasabb a mortalitás, továbbá a proteinuria növekedésével, a kedvezőtlen kimenetel kockázata is megnő. Krónikus vesebetegségben szenvedő macskák esetén nem jellemző a nagymértékű fehérjevizelés, mindemellett a kezdeti proteinuria mértéke összefüggésbe hozható a túléléssel. A kisebb UPC érték jobb prognózissal jár, azonban viszonylag enyhe proteinuria (UPC $\geq 0,43$) is megnöveli a bármely oktanú elhullás esélyét vesebeteg macskáiban. Egy kutatás során macskák esetén a fehérjevizelés akkor is negatív hatással volt a túlélésre, ha nem járt együtt azotaemiával, és a referenciatartományon belül maradt (Lees et al., 2005). Következésképpen, a proteinuria mindkét fajban fontos markere és prognosztikai faktora a vesebetegségnek, vizsgálata ajánlott az egészséges állatok éves rutinvizsgálatainak részeként, különösen a predisponált fajták esetében (Lees et al., 2005; Littman, 2011).

Diagnosztikai jelentősége mellett, felmerül a proteinuriának a vesebetegség progressziójára való hatása. A proteinuria, különböző gyulladáshoz vezető mediátorok és növekedési faktorok felszabadulása révén, vagy akár a tubulus hámsejteket közvetlen károsítva, szövetközi gyulladást és a tubulusok körül fibrózist idézhet elő, ezzel hozzájárulva a betegség előrehaladtához. A proteinuria ártalmas hatását támaszthatja alá, hogy kutyában és macskáiban, a humán medicinában tapasztaltakhoz hasonlóan, a fehérjevizelés csökkentése lassítja a betegség progresszióját, és csökkenti a szövetközi gyulladást. Így az ezt előidéző, angiotenzin-konvertáló enzimet (angiotensin-converting enzyme – ACE) gátló szerek renoprotektív hatásúak (Harley and Langston, 2012).

1.1.2. ÉLETTAN

Egészséges kutyák és macskák esetén csak kis mennyiségű fehérje, elsősorban albumin, ürül a vizelettel (Grauer, 2007). Ebben kulcsszerepet játszik az ultrafiltráció során gátat képző glomerulusmembrán, amely szelektív áteresztőképessége révén megakadályozza a plazmafehérjék jelentős részének filtrátumba jutását (Harley and Langston, 2012). A szelektivitást a glomerulusfal felépítése teszi lehetővé, amely a különféle fehérjék átjutását elsősorban méretük, továbbá töltésük és térbeli szerkezetük alapján, különböző mértékben gátolja (Grauer, 2007). Kiemelt szerepe van az alaphártyának, amely a szorosan kapcsolódó négyes típusú kollagén mellett, többek között negatív töltésű glükózaminoglikánokat is tartalmaz. Az alaphártyával együtt, a podocyták nyúlványai által létrehozott nanométeres nagyságú pórusokat képező „sliccelt diafragma” (Falus és mtsai, 2017) biztosítja a szelektivitás nagy részét (Littman, 2011). A glomerulusmembrán harmadik fő alkotójaként, a kapilláris fal fenestrált endotheliumának negatív töltésű felületi molekulái is hozzájárulnak az átjutó fehérjék kiválogatásához. Ennek megfelelően az ultrafiltrátumba elsősorban kisméretű, semleges vagy pozitív töltésű fehérjék juthatnak át, így egészséges kutyák és macskák esetén a nagyobb méretű (69 000 Da) és negatív töltésű albumin csak korlátozott mértékben, a 4 g/dl plazmakoncentrációhoz képest mindössze 2-3 mg/dl mennyiségben jelenik meg a filtrátumban (Grauer, 2011). Ennél fogva a glomerulusmembrán első és legfontosabb korlátja a fehérjevesztésnek, így működési zavara gyakran nagymértékű proteinuriával jár.

A glomerulusmembránon átjutott fehérjék szinte teljes egésze endocitózis révén a proximális tubulus hámsejtjeibe jut, majd lizoszómális lebontásra kerül a sejtek által (Harley and Langston, 2012). Az így képződött vizelet albumintartalma végül 1 mg/dl alá csökken (Grauer, 2011). Az endocitózishoz azonban receptorok szükségesek, amelyek száma és kapacitása limitált, így ha a filtrátum fehérjetartalma megnő vagy a tubulus hámsejtek károsodnak, akkor a vizelettel ürülő fehérje mennyisége is megnövekszik (Harley and Langston, 2012).

A filtráció hajtóereje a transzkapilláris nyomás, ebből adódóan haemodinamikai tényezők is befolyásolhatják a proteinuriát (Littman, 2011). Glomerularis hipertenzió alakul ki, ha angiotenzin II, lokális prosztaglandinok vagy egyéb vasoaktív mediátorok hatására az afferens arteriola átmérője, az efferens arteriola átmérőjéhez képest megnő. Túlnyomás esetén, az egy nefronra jutó glomerularis filtrációs ráta is megnő, amely több fehérje ultrafiltrációjához vezet (Harley and Langston, 2012).

Mindemellett egészséges állatokban a vizelet fehérjetartalmának akár 50 százalékát is adhatják, az alsó húgyutak, nemi utak epithelsejtjei, valamint a tubulus hámsejtek által szekretált enzimek, mucoproteinek vagy immunglobulinok (Grauer, 2007).

1.1.3 A PROTEINURIA KIMUTATÁSA

A vizelettel ürülő fehérjék kimutatására több szemikvantitatív és kvantitatív teszt is rendelkezésre áll. A vizelet tesztsík elterjedt, olcsó és egyszerűen alkalmazható szemikvantitatív, kolorimetrián alapuló módszer, amely a vizelet fehérjetartalmát 30 mg/dl felett képes kimutatni (Grauer, 2011). A teszt elsősorban a vizeletben lévő albuminra érzékeny, azonban a faj-specifikus ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) teszthez képest viszonylag alacsony specificitás és szenzitivitás jellemzi (Grauer, 2007; Lyon et al., 2010). Így például, Lyon és mtsai (2010) által végzett kutatás során, a szenzitivitás kutyák esetén 81,2%, macskák esetén 90,1% volt, a specificitás pedig mindössze 47,8% volt kutyákban, és 11% macskákban. Következésképpen, a fals pozitív reakciók mindkét faj esetén jelentősek, macskában azonban gyakrabban fordulnak elő (Grauer, 2011). Fals pozitívítást okozhatnak a vizelet különböző elváltozásai, így a vizelet magas pH-ja, pyuria, hematuria, bacteruria, illetve a vizelettel hosszabb ideig érintkező tesztsíkból kioldódó citrát puffer is (Grauer, 2007). Tekintve, hogy a tesztsíkot eredetileg humán alkalmazásra szánták, a kutyák és macskák esetén gyakrabban előforduló, erősen koncentrált vizelet fals pozitív reakciót adhat. Az előbbiekből adódóan a tesztsíkkal kimutatott proteinurát, ezt követően kvalitatív mérési módszerrel meg kell erősíteni (Harley and Langston, 2012). Fals negatív eredmény is előfordulhat, ha az albumin alacsony koncentrációban van jelen a vizeletben, ha a proteinuriát Bence-Jones fehérjék okozzák, valamint ha a vizelet sűrűsége vagy pH-ja alacsony.

A szulfoszalicilsav próba turbidimetrián alapuló szemikvantitatív vizsgálati módszer, amely az albumin mellett, a globulinokra és a Bence-Jones fehérjékre is érzékeny. A teszt 5 mg/dl feletti fehérjetartalmat képes kimutatni, ebből adódóan a fals negatív eredmények ritkábban fordulnak elő, a tesztsíknál tapasztaltakhoz képest (Grauer, 2007). Albuminra azonban kevésbé érzékeny, szenzitivitása kutyák esetén 73,3%, macskák esetén 58% volt a Lyon és mtsai (2010) által végzett vizsgálat során. Fals pozitív reakciók előfordulhatnak, ha a vizelet röntgenkontraszt anyagot, penicillint, cefalosporinokat, sulfisoxazolt vagy timolt tartalmaz. Illetve, mivel a módszer turbidimetrián alapul, a zavaros vizelet fehérjetartalmát túlbecsülheti (Grauer, 2011). A specificitása albuminra nézve a tesztsíkhöz képest jobb,

azonban nem kielégítő, kutyák esetén 63,9%, macskák esetén 25,4% volt (Lyon et al., 2010). A specificitás növelése érdekében a vizelet tesztcsíkot és a szulfoszalicilsav próbát gyakran együtt alkalmazzák a proteinuria kimutatására, azonban a pozitív reakciót ebben az esetben is érdemes ezt követően, kvantitatív teszttel számszerűsíteni.

Macskák esetén egyik teszt sem működik elvárt megbízhatósággal, így diagnosztikai értékük csekély. Ebből következik, hogy esetükben a proteinuria kimutatására érzékenyebb módszereket kell alkalmazni, mint például a faj-specifikus ELISA teszt (Grauer, 2011).

1.1.4. A VIZELET ÖSSZFEHÉRJE/KREATININ ARÁNYA

A proteinuria háttérében számos kórkép állhat, így a fehérjevizelés megállapítását követően, a diagnózis felállításához, a kórjóslat, terápiás lehetőségek meghatározásához további vizsgálatokra van szükség. Ezek elsődleges célja a fehérjevizelés nagyságának, tartósságának és eredetének felderítése (Lees et al., 2005).

A humán orvoslásban a 24 órás fehérje kiválasztás mérése a vizelet fehérjetartalmának meghatározásának gold standard vizsgálata (Vilhena et al., 2015). Állatok esetén a 24 órás vizeletgyűjtés nehezen megvalósítható, így az állatorvoslásban a vizelet összfehérje/kreatinin arányának (UPC) meghatározása terjedt el (Harley and Langston, 2012). Számos vizsgálat támasztja alá, hogy az UPC egyszeri mintából történő meghatározása jól korrelál a 24 órás fehérje ürítéssel egészséges (Monroe et al., 1989), és sebészi úton előidézett krónikus vesebetegség esetén, macskákban (Adams et al., 1992), valamint egészséges és proteinuriás kutyákban egyaránt (White et al., 1984; Grauer et al., 1985). Mindemellett, a döntéshozatal során érdemes több mérést is figyelembe venni. Egészséges kutyák és macskák esetén, testtömeg kilogrammonként kevesebb, mint 10 mg fehérje ürül a vizelettel 24 óra alatt, illetve az UPC értéke <0,2. Kutyák esetén 0,2-0,5 között, macskáknál 0,2-0,4 között határérték proteinuriáról, és ezt meghaladó értékek esetén proteinuriáról beszélhetünk.

A proteinuria tartós, ha a három vagy több alkalommal, minimum kéthetes időközzel vett minták esetén az UPC határérték feletti (Grauer, 2011). A tartós proteinuria, inaktív vizeletüledék mellett, általában renalis eredetre utal, így további monitorozást, kivizsgálást és szükség esetén kezelést igényel (Lees et al., 2005). Ezzel szemben az átmeneti fehérjevizelés a háttér ok megszűnésével normalizálódik, és jó eséllyel nem jár következményekkel, ezért kezelése nem szükséges (Grauer, 2011).

1.1.5. A PROTEINURIA HÁTTÉRÉBEN ÁLLÓ KÓROKOK ELKÜLÖNÍTÉSE

A fehérjevizelés lehet funkcionális vagy patológiás. A funkcionális, vagy más néven fiziológiás proteinuria során a vese élettani működése átmenetileg megváltozik, és ennek következtében enyhe (UPC <0,5), átmeneti fehérjevizelés alakul ki, ami azonban a kiváltó ok megszűnésével minden esetben elmúlik (Lees et al., 2005; Grauer, 2007). Pontos mechanizmusa nem tisztázott, valószínűleg a vese vérellátásának átmeneti megváltozása (pl. renalis vasoconstrictio, ischaemia vagy pangás) következtében alakul ki. Funkcionális proteinuriához vezethetnek görcsök, láz, megerőltető mozgás, extrém hőmérsékleti körülmények vagy stressz hatások (Grauer 2011). Egyes vizsgálatok az úszást (Joles et al., 1984) és a kórházi ketreces tartást (McCaw et al., 1985) is összefüggésbe hozták a fehérjevizelés kialakulásával, azonban ezekben az esetekben több tényező (pl. a stressz) is hozzájárulhat a proteinuriához (Harley and Langston, 2012).

A patológiás proteinuria háttérében álló okok a fehérjevesztés eredete, kórélettani mechanizmusa szerint praerenalis, renalis és postrenalis csoportokba sorolhatók. A praerenalis proteinuriát a vérplazmában kórosan megjelenő fehérjék okozzák, amelyek az ép glomerulusmembránon átjutva kimerítik a tubulus hámsejtek transzportkapacitását, így a vizelettel ürülnek. Jellemzően kisméretű fehérjék, amelyek normál esetben nem jelennek meg szabadon a véráramban, így például a haemoglobin és myoglobin, vagy képződésük kóros folyamatokra vezethető vissza, például a daganatosan transzformálódott plazmasejtek által termelt immunglobulin könnyűláncok, a Bence-Jones fehérjék (Harley and Langston, 2012). A praerenalis kórok általában enyhe proteinuriát okoznak, amely gyakran csak véletlenszerűen kerül kimutatásra, a haemolysis vagy az izomkárosodás jellemző tünetei mellett (van Dongen, 2013). A haemoglobinuria és a myoglobinuria általában jól diagnosztizálhatók a klinikai kép, hematológiai vizsgálatok eredménye és a vizelet elszíneződése alapján (Grauer, 2007). A ritkábban előforduló Bence-Jones proteinuria megállapítása a vizelet vagy vérplazma gélelektroforézisével történhet (van Dongen, 2013). Praerenalis proteinuriához vezethet továbbá, a szisztémás vérnyomás megemelkedése, az akut hasnyálmirigy gyulladás, gyógyszer reakciók, pajzsmirigy túlműködés, illetve a Cushing-kór (Harley and Langston, 2012).

Postrenalis proteinuria alakul ki, ha a vizelethez, a vesemedencébe történő megérkezését követően, fehérjék keverednek (Lees et al., 2005). Ide sorolhatóak az alsó húgyutak, valamint az ivarszervek gyulladással, fertőző vagy vérzéssel járó kórkepei. Az ivarszervi elváltozások okozta proteinuria kizárható, ha a mintavétel cystocentesissal történik.

A cystocentesis során esetlegesen a mintához keveredő kis mennyiségű vér nem növeli jelentősen a vizelet fehérjetartalmát (Harley and Langston, 2012). Amikor egy tanulmány során a kutatók a vizelethez teljes vért keverve vizsgálták annak fehérjetartalmát, az albuminkoncentráció mindaddig a referenciatartományon belül (<1 mg/dl) maradt, amíg a hozzáadott vér a vizelet jól látható elszíneződését nem okozta (Vaden et al., 2004). Postrenalis proteinuria mindig átmeneti, a kiváltó ok kezelésével meg kell szűnnie. A jellemző tünetek megléte (pl. pollakiuria, hematuria, stanguria), a fizikális vizsgálat eredménye (húgyhólyag tapintása, külső vizsgálat), a vizeletüledék kiértékelése során a gyulladásra, vézésre utaló jelek, valamint a pozitív baktériumtenyésztés alapján az alsó húgyúti kórképek diagnosztizálhatók (Lees et al., 2005; Grauer, 2011; van Dongen, 2013).

Ha a praerenalis és postrenalis okok kizárását vagy megszűnését követően a proteinuria továbbra is fennáll, akkor minden bizonnyal vese eredetű, amely további monitorozást, vizsgálatokat tesz szükségessé a vesefunkció felmérése, valamint a pontos diagnózis és prognózis meghatározása érdekében (Harley and Langston, 2012). A renalis proteinuria a vese funkciózavara, szöveti felépítésének sérülése következtében alakul ki (Lees et al., 2005), a károsodás érintheti a glomerulusmembránt, a tubulus hámsejtek reszorpciós tevékenységét vagy az interstitiumot (Harley and Langston, 2012). Ezek alapján a vese eredetű proteinuria továbbosztható glomerularis, tubularis, és interstitialis csoportokra, azonban nem ritka ezek kevert előfordulása sem (pl. tubulointerstitialis proteinuria) (Lavoué et al., 2015). A renalis proteinuria jellemzően tartós, az UPC kutyák esetén >0,5, macskák esetén >0,4 (Grauer, 2011).

Az interstitialis proteinuria a vese szövetközi gyulladással vagy infiltratív kórképei következtében alakulhat ki, így például pyelonephritis, leptospirosis, a vese daganatos elváltozásai vagy vesekövesség miatt (Harley and Langston, 2012). Az ide tartozó kórképek általában a kórelőzmény (pl. leptospirosis elleni védőoltás), a betegség tünetei (pl. láz, vesetájéki fájdalom), hematológiai elváltozások, a vizeletvizsgálat és hasi ultrahangvizsgálat eredménye alapján diagnosztizálhatók (DiBartola and Westropp, 2013; Lappin, 2013). Az elkülönítésében segíthet, a gyakran előforduló aktív vizeletüledék, és a bakteriológiai vizsgálat pozitív eredménye, amelyek a proteinuria következtében kialakult hyalin-hengereket leszámítva, a tubularis vagy glomerularis kórképekre általában nem jellemzők (Grauer, 2007).

Tubularis funkciózavar általában kismértékű (UPC 0,5-1), de perzisztens proteinúriával jár, egyes esetekben normoglikémiás glükózuria, és elektrolit elváltozások is kísérik (pl. Fanconi szindróma, akut tubularis károsodás), amelyek segíthetnek a diagnózisban (Grauer, 2011). A tubularis funkció károsodása következtében nagyrészt kisméretű fehérjék, és vese eredetű enzimek jelennek meg a vizeletben. Az enzimek a sérült tubulus hámsejtekből jutnak a vizeletbe, ilyen például a N-acetil- β -D-glükózaminidáz (NAG), vagy a retinol-kötő fehérje (RBP – retinol binding protein) amelynek vizeletből történő mérése humán betegségek korai diagnosztizálása szempontjából hasznosnak bizonyult (Smets et al., 2010).

A glomerularis proteinuria esetén a glomerulusmembrán szelektív átteresztőképessége változik meg, glomerularis hipertenzió, az endothelium funkciózavara vagy primer glomerularis betegség következtében. A renalis proteinuria, főleg ha az azotaemia nélkül jelentkezik, az esetek többségében glomerularis eredetű (Harley and Langston, 2012). Glomerularis elváltozások kutyák esetén gyakrabban fordulnak elő, mint macskákban (Littman, 2011). A glomerulusmembrán funkciózavara jellemzően súlyos proteinúriával jár, gyakran ≥ 2 UPC értékekkel kutyákban, azonban enyhe fehérjevizelés se zárja ki a glomerularis érintettséget. Macskák esetén ≥ 1 UPC értékek ritkák, és általában jó eséllyel utalnak a fehérjevizelés glomerularis eredetére, azonban olykor végstádiumú krónikus vesebetegség esetén is előfordulhatnak (Lees et al., 2005). A glomerularis funkció károsodásával az albumin és az annál nagyobb molekula tömegű fehérjék, amelyek normál veseműködés mellett csak korlátozott mértékben kerülnek filtrációra, megnövekedett mennyiségben jelennek meg a vizeletben. Ennek a tubularis proteinuriától való elkülönítésben van jelentősége (Smets et al., 2010). A nagymértékű proteinuria mellett, jellemző lelet a hypoalbuminaemia, hypercholesterolaemia, magas vérnyomás, hasvízkór, mellúri folyadékgyülem, és perifériás ödémás beszűrődés. Ezt a tünetcsoportot összefoglalóan nefrózis szindrómának nevezzük (Harley and Langston, 2012).

1.1.6. A GLOMERULARIS ÉS TUBULARIS PROTEINURIA ELKÜLÖNÍTÉSE

A glomerularis és tubularis proteinuria elkülönítésének nem invazív módja a vizelet nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézise (sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis – SDS-PAGE). A módszer a fehérjéket méretük szerint különíti el, az albuminnál (69 kDa) nagyobb (high molecular weight – HMW), és kisebb (low molecular weight – LMW) fehérjékre (Lavoué et al., 2015). A glomerularis kórképekre az albumin, illetve a betegség előrehaladtával a HMW fehérjék fokozott ürítése jellemző, ezzel szemben

kisebb molekula tömegű fehérjék megjelenése tubularis eredetre utal (Smets et al., 2010). Glomerularis és tubularis elváltozások együtt is jelentkezhetnek, amely kevert proteinuriával jár. A gél elektroforézis, a kórszövettani vizsgálathoz viszonyítva, szenzitív (92-100%), de mérsékelt specificitású (40-62%) vizsgálati módszer (Lavoué et al., 2015). Egy kutatás alapján a gélelektroforézissel megállapított tubularis és glomerularis károsodás mértéke a kórszövettani képpel jól korrelál (Brown et al., 2010), azonban a különböző glomerulopathiák elkülönítésére a módszer nem alkalmas (Zini et al., 2004).

1.1.7. GLOMERULARIS MEGBETEGEDÉSEK ÉS ELKÜLÖNÍTÉSÜK

A glomerularis megbetegedések lehetnek immunológiai és nem immunológiai eredetűek, kialakulásuk hátterében állhatnak örökletes, veleszületett és szerzett okok egyaránt. A humán gyógyászatban számos olyan mutációt mutattak ki, amelyek a „sliccelt diafragma” vagy az alaphártya molekuláris felépítésének megváltozásához vezetnek, és ezáltal a glomerulusmembrán szelektív átteresztőképességet befolyásolják, hajlamosítanak a keringő immunkomplexek lerakódására, vagy a környezeti hatások okozta glomerularis károsodásra.

Kutyák és macskák esetén sok fajtában leírtak már genetikai eredetű glomerulopathiákat, azonban a pontos mutációk azonosítása további kutatások alapját képezik. Szamojéd, angol cocker spániel, airdale terrier és az ír soft-coated wheaten terrier fajtákban már elérhetőek genetikai vizsgálatok.

Az amyloidosisnak szerzett és örökletes formája is ismert. Az örökletes forma a prediszponált fajták esetén (pl. shar pei, beagle, angol rókakopó, sziámi, abesszin macska) jellemzően fiatal korban jelentkezik, és mivel elsősorban a vese velőállományát érinti, nem mindig jár proteinuriával. A genetikai eredetű megbetegedések közös jellemzője, hogy általában glükokortikoidokra nem mutatnak javulást, ezért elkülönítésük terápiás jelentőséggel bír (Litmann, 2011).

Szerzett glomerulopathiák bármely fajtában jelentkezhetnek általában középkorú-idős állatokban, leggyakrabban immunmediált glomerulonephritis (immune-mediated glomerulonephritis – IMGN), amyloidosis vagy glomerulosclerosis formájában. Az IMGN esetén immunkomplexek rakódnak le a glomerulusban, amelyek helyi gyulladáshoz vezetnek. Az immunkomplexek származhatnak a keringésből, de helyben is képződhetnek.

Kutyákban az IMGN háttérében különböző autoimmun, daganatos, gyulladással járó vagy fertőző betegségek, krónikus bakteriális fertőzés (pl. endocarditis), parazita fertőzöttség (pl. szívférgesség), izeltlábúak közvetítette betegségek (pl. anaplasmosis, ehrlichiosis, leishmaniosis, babesiosis), vírusos megbetegedések (pl. Rubarth-kór, macskaleukózis, macskák szerzett immunhiányos betegsége) állhatnak. Terápiás szempontból, a kiváltó ok kezelése mellett, felmerül az immunszuppresszív gyógyszerek alkalmazásának lehetősége is.

A reaktív (szerzett) amyloidosis során a máj által termelt akut fázis fehérje, a szérumban amyloid A β -lemezeket képezve rakódik le a glomerulusban. A háttérben krónikus fertőzések, gyulladással vagy daganatos kórképek állhatnak, és más szerveket (pl. máj, lép) is érinthet. Bármely fajtában előfordulhat, elsősorban kutyákban. Gyakran súlyos proteinúriával és nefrózis szindrómával járó, rossz prognózisú kórkép (Litmann, 2011).

1.1.8. VESEBIOPSZIA

A vese kórszövettani vizsgálata minden esetben megfontolandó, ha a renalis proteinuria tartós, a konzervatív terápiára nem reagál, vagy egyéb okokból elsődleges glomerulopathia gyanúja merül fel.

Ebben az esetben a pontos diagnózis érdekében érdemes minél korábban elvégezni a mintavételt, mivel a betegség előrehaladtával a fibrózis és más idült elváltozások elfedhetik az elsődleges glomerularis kórképet. Glomerularis megbetegedések esetén a kórszövettani diagnózis segíthet terápiás döntések meghozásában (pl. immunszuppresszív terápia alkalmazása), és a prognózis felállításában (Littman, 2011), ezzel szemben tubularis funkciózavar illetve krónikus, interstitialis vesebetegség esetén ritkán jár döntő információval (Harley and Langston, 2012).

A kórszövettani vizsgálatot mindig hozzáértő specialista kell, hogy végezze. A fénymikroszkópos vizsgálattal a glomerularis elváltozások könnyen félrediagnosticszálhatók. A legújabb ajánlások alapján a pontos diagnózis felállításához elengedhetetlen a minta elektronmikroszkópos és immunfluoreszcenciás vizsgálata is. Az amyloidosis, kongóvörös festéssel, fénymikroszkópos vizsgálattal is kimutatható, ellenben az immunmediált folyamatok felderítésére ez a vizsgálat nem elegendő. Az elektronmikroszkóppal jól láthatók az alaphártya ultrastrukturális elváltozásai, az immunkomplex lerakódások, illetve a podocyták elváltozásai is, így alkalmas az örökletes és szerzett glomerularis kórképek elkülönítésére, tipizálására. Immunfluoreszcens festéssel az immunkomplexeket felépítő komplementek, és immunglobulinok is kimutathatók (Littman, 2011).

1.2. MICROALBUMINURIA

1.2.1. A MICROALBUMINURIA JELENTŐSÉGE

Egészséges kutyák és macskák esetén a vizelettel ürülő fehérje nagy része albumin, amely normál esetben <1 mg/dl értékben van jelen a vizeletben (Grauer, 2011). Az ezt meghaladó, de a standard vizelet tesztsík által még nem detektálható albumin koncentrációt (<30 mg/dl), microalbuminuriának nevezzük (Langston, 2004). A humángyógyászatban a microalbuminuria a vérérfal károsodás korai jelzőjeként, fontos biomarkere számos glomerulopathiához vezető szisztémás betegségnek, továbbá kockázati tényezőt jelent vese- és szívbetegség esetén (Koroshi, 2007). Kutyák és macskák esetén jelentősége kevésbé tisztázott, azonban az eddigi kutatások és a humán orvoslásban leírtak alapján, korai figyelmeztető jele lehet a glomerularis megbetegedések kialakulásának (Whittemore et al., 2006), szubklinikai kórképek előfordulására hívhatja fel a figyelmet, továbbá klinikai megbetegedések negatív prognosztikai faktora lehet (Vaden et al., 2010).

1.2.2. MICROALBUMINURIA ELŐFORDULÁSA EMBEREKBEN

Emberek esetén a microalbuminuria kialakulását több tényezőre vezetik vissza. Így a magas vérnyomás, a glomerularis filtrációs nyomás megemelése, és a következetes vesekárosodás révén vezethet fokozott albumin ürítéshez, de akár közös genetikai faktorok is szerepet játszhatnak kialakulásukban. Mindenesetre szignifikáns összefüggés van a kettő között, amely a normál tartományon belüli magasabb vérnyomás értékek mellett is a microalbuminuria gyakoribb előfordulását eredményezi, és ebből adódóan biomarkere lehet a megnövekedett szív- és érrendszeri kockázatnak. Emberekben az albuminürítés növekedése, önálló kockázati tényezőt jelent stroke, myocardialis infarktus és pangásos szívelégtelenség kialakulására (Koroshi, 2007).

Szisztémás betegségek, gyulladásos kaszkád mechanizmusok révén, az endothelium funkciózavarához, és ezáltal a kapillárisfal fokozott átteresztőképességéhez vezethetnek. A kapillárisfal károsodása a vesében a fehérjék fokozott filtrációját eredményezve, microalbuminuriában nyilvánulhat meg (Vaden et al., 2010). Ebből az összefüggésből adódóan a microalbuminuria jelenléte egyrésztől háttérbetegségekre hívhatja fel a figyelmet (Whittemore et al, 2006), továbbá klinikailag is megnyilvánuló kórképek esetén úgy tűnik, hogy arányos annak súlyosságával, a kórházi tartózkodás hosszával és a mortalitás előfordulásával. Ezt a feltevést támasztja alá, hogy a klinikailag beteg emberekben, az átlagpopulációhoz viszonyítva, gyakrabban fordul elő microalbuminuria. Számos krónikus

gyulladásos kórképet hoztak összefüggésbe fokozott albumin ürítéssel, így például gyulladásos bélbetegségeket (inflammatory bowel disease – IBD), daganatos kórképeket, a szisztémás szklerózist vagy a sarló sejtvesztést (Vaden et al., 2010).

Átmeneti microalbuminuriához vezethetnek egyes akut gyulladásos kórképek, így például jelentkezhet akut pancreatitis, myocardialis infarktus, műtéti beavatkozás, trauma és bakteriális meningitis következtében. Az átmeneti albuminvesztés jellemzően 48 órán belül megszűnik, azonban fontos információval szolgálhat az intenzív ellátásra szoruló betegek esetén a terápia hatékonyságáról, továbbá segítheti azon betegek azonosítását, akiknél nagyobb valószínűséggel alakulhat ki sokszervi- vagy heveny légzési elégtelenség a kórházi kezelés során. A microalbuminuria, ha tartósan fennáll fokozott kockázatot jelent későbbi szervi funkciózavarokra, mortalitásra. Emellett egy kutatás során, a műtéten átesett betegek esetén, a vizelet albumin/kreatinin arányának (urinary albumin-to-creatinine ratio – UAC) növekedésével a szepszis veszélye is megnőtt (Vaden et al., 2010).

Számos esetben a microalbuminuria első jele a más módszerrel még nem észlelhető vesekárosodásnak. Cukorbetegség és magas vérnyomás betegség esetén fontos előjelzője a vesekárosodás kialakulásának, illetve a kardiovaszkuláris események bekövetkeztének (Vaden et al., 2010). Monitorozása diabétesz esetén különös jelentőséggel bír, ugyanis a korai terápiás beavatkozás csökkenti a kardiovaszkuláris következmények előfordulását, és megakadályozhatja a proteinuria kialakulását, valamint a vesebetegség progresszióját (Koroshi, 2007).

1.2.3. MICROALBUMINURIA ELŐFORDULÁSA KUTYÁK ÉS MACSKÁK ESETÉN

Állatok esetében a microalbuminuria klinikai jelentősége nem teljesen tisztázott, azonban az eddigi kutatások alapján kutyák és macskák esetében egyaránt, jelentős arányban fordul elő. Egy nagy esetszámú vizsgálat során, a kórházi dolgozók kutyái körében közel 25%-os volt a microalbuminuria előfordulása (Radecki et al., 2003). Ezzel szemben a különböző okokból állatorvosi vizsgálatra érkező kutyák esetén a prevalencia 30-36% volt. Ez alapján feltételezhető, hogy emberekhez hasonlóan, kutyáknál is gyakrabban fordul elő microalbuminuria klinikai megbetegedés esetén (Vaden et al., 2010). Macskák esetében hasonló eredmények születtek: egészséges macskákban 14%-ban (Langston, 2004), az állatorvosi vizsgálatra szoruló macskák esetén 24,5%-ban fordult elő microalbuminuria.

A prevalencia az ismert betegnél macskák (pl. fogászati problémák, feline lower urinary tract disease – FLUTD, IBD, diabetes mellitus, hyperthyreosis, felső légúti és daganatos betegségek) esetén ennél is magasabb, 42,9% volt egy kutatás során (Vaden et al, 2010).

Az intenzív osztályon kezelt állatok esetén is magasabb prevalenciát tapasztaltak, kutyák esetén 60%, macskák esetén 63,6%-ban fordult elő microalbuminuria. A kutatók a vizsgálattal továbbá demonstrálták, hogy microalbuminuria, akár csak a humán orvoslásban, kutyák esetén is összefügg a túléléssel, ugyanis az albuminuriát mutató állatok esetén nagyobb arányban fordult elő elhullás, vagy eutanázia. Macskák esetén az összefüggés nem volt szignifikáns a fenti kutatásban, azonban a proteinuria és a túlélés közötti korreláció alapján lehetséges, hogy az esetszám növelésével a feltevés beigazolódná (Vaden et al, 2010).

A kutatások mindkét faj esetén azt igazolták, hogy klinikailag egészséges állatokban a microalbuminuria gyakorisága korrallal nő (Radecki et al., 2003; Langston, 2004), valószínűleg a természetszerű öregedés vagy a vesét érő fertőző, gyulladásos, daganatos és vascularis eredetű behatások következtében (Littman, 2011). Kutyák esetén az összefüggés független az egészségügyi állapottól, macskák esetén azonban ellentmondó eredmények születtek. Vaden és mtsai (2010) minden korcsoportban a prevalencia emelkedését tapasztalták intenzív ellátásra szoruló macskák esetén, ezzel szemben egy másik kutatás során, a beteg macskák esetén csak a fiatalabb korcsoportokban nőtt meg jelentősen a prevalencia az átlagpopulációhoz képest (Langston, 2004).

Jensen és mtsai (2003) a microalbuminuriához vezető okokat vizsgálva, a kutyák 56,3 százaléka esetén találtak a háttérben olyan gyulladásos, fertőző, daganatos vagy metabolikus kórképet, amely összefüggésbe hozható glomerularis funkciózavarral. További 31% esetén vesebetegség állt a háttérben, az esetek 12,1%-ában pedig nem jutottak pontos diagnózisra. A fennmaradó esetekben több betegség együttesen fordult elő, vagy a háttérbetegség nem volt összefüggésbe hozható a proteinuriával.

Egy másik kutatásban a microalbuminuria prediktív értékét vizsgálták, a kezdetben pozitív és negatív teszteredményű kutyák egészségi állapotának három hónapos nyomon követésével. A microalbuminuriát mutató kutyák esetén nagyobb százalékban fordult elő glomerularis funkciózavarral összefüggésbe hozható megbetegedés, mint a negatív csoportban, azonban az eredmény, feltehetően a kis mintaszámból adódóan, nem volt szignifikáns (Whittemore et al., 2006).

A humán kutatások alapján, a microalbuminuria és a megnövekedett vérnyomás közötti összefüggés az állatok esetén is felmerült. Macskáknál mind kísérleti célból előidézett krónikus vesebetegség esetén, mind természetesen előforduló veseelégtelenség esetén pozitív korreláció volt az albuminuria és a megnövekedett vérnyomás között (Langston, 2004). Hasonlóan egy vizsgálat során, a krónikus vesebeteg kutyáknál magas vérnyomás (≥ 180 Hgmm) esetén, magasabb UAC értékek voltak jellemzőek (Bacic et al., 2010).

A humángyógyászatban leírtak, illetve az eddigi kutatási eredmények alapján feltételezhető, hogy kutyákban a microalbuminuria, elsősorban glomerularis kórképek esetén, korai jele lehet a vesekárosodásnak (Grauer, 2007). Egy tanulmány során a microalbuminuria előfordulását vizsgálták egy fehérjevesztéses nephropathiára, és enteropathiára egyaránt predisponált fajtában, az ír soft-coated wheaten terrierben. A kutatásban résztvevő kutyák körében a prevalencia 76% volt, amely meghaladja a klinikailag egészséges állatok, vagy más betegségek esetén leírt előfordulást. Az albuminürítés idővel nőtt, és az érintett kutyák 23%-a esetén proteinuria (UPC $>0,5$) is jelentkezett (Vaden et al., 2001).

Egy másik vizsgálat során egy X-hez kötött öröklődést mutató nephropathia kialakulását kísérő fehérjeürítés változását vizsgálták kan kutyákban. A VI. típusú kollagén defektusával járó glomerularis kórkép gyorsan progrediál, és pár hónapos korra proteinuria megjelenését eredményezi. A vizsgálat során a microalbuminuria a proteinuria jelentkezését 0-16 héttel megelőzte, ebből adódóan korai markere lehet a kialakuló nephropathiának (Grauer, 2007).

Más kutatók a microalbuminuria kialakulását kísérleti *Dirofilaria immitis* fertőzöttség esetén vizsgálva, hasonló eredményekre jutottak. A vizsgálatban résztvevő kutyák idővel mind microalbuminuriát mutattak, amely jelentkezése megfelelt a vérbeli *Dirofilaria* antigének megjelenésének idejével. Az albuminürítés mértéke idővel nőtt, és végül kóros UPC értékekhez vezetett. A glomerularis elváltozásokat kórszövettanilag, fény- és elektronmikroszkóppal is igazolták a kutatás végén (Grauer, 2007).

Macskák esetén az elsődleges glomerularis megbetegedések ritkán fordulnak elő, ezért fokozott óvatossággal kezelendő a microalbuminuria és a kialakuló nephropathia közötti összefüggés (Harley and Langston, 2012).

1.2.4. AZ ALBUMINURIA MÉRÉSE

A microalbuminuria vizsgálatához az albuminra specifikus, és a proteinuriánál tárgyalt vizsgálatokhoz képest szenzitívebb eljárás szükséges, amely a vizeletben lévő kis mennyiségű albumin kimutatására is képes. A proteinuria méréséhez hasonlóan, az albuminuria számszerűsítése esetén is a 24 órás vizeletgyűjtés lenne az ideális, azonban állatok esetén ez nehezen megvalósítható, így a vizelet változó koncentrátsága miatt, különböző módszerekkel standardizálni kell az egyszeri mintavételkor kapott eredményeket (Langston, 2004).

Így például a kapott albumin koncentrációt, az UPC értékhez hasonlóan, a vizelet kreatinin koncentrációjának arányában megadva (UAC) az eredmények standardizálhatók. Az UAC mérése kutyákra validált, immunturbidimetrián alapuló automata műszeres vizsgálati módszer, amely humán albumin elleni monoklonális ellenanyagokat használ. A validálás során a teszt lineáris maradt a vizsgált 0-225 mg/dl albuminkoncentrációnál, így a microalbuminuriát meghaladó értékek, vagyis albuminuria, esetén is megbízható vizsgálati módszer lehet. További előnye, hogy a kapott értékeket nem befolyásolta jelentősen a haemoglobin vagy glükóz jelenléte a vizeletben (Gentilini et al., 2005). A humángyógyászatban a microalbuminuria kimutatására használt tesztsík kutyák esetén nem megbízható, macskákban nem vizsgálták (Langston, 2004).

A másik lehetőség az eredmények standardizálására, a vizelet sűrűség egységes (1010 g/L) értékre való beállítása, a teszt elvégzését megelőzően (Grauer, 2011). Ezt a módszert alkalmazzák a microalbuminuria szemikvantitatív mérésére alkalmas ELISA teszt (early renal damage – E.R.D. HealthScreen™) esetén, amely kutya, illetve macska albuminra specifikus ellenanyagokat használ. Az elbírálás szubjektív, a teszttablakban megjelenő két színes csík közti különbség alapján, negatív vagy erős, közepes, illetve gyenge pozitív eredmény születhet (Langston, 2004).

1.2.5. A MICROALBUMINURIA VIZSGÁLATÁNAK INDIKÁCIÓJA

A microalbuminuria mérése indokolt lehet, ha a proteinuria vizsgálatára használt tesztek esetén felmerül a fals pozitívitás, az eredmények ellentmondóak, kétértelműek vagy bármely más okból szenzitívebb vizsgálat szükséges (Grauer, 2011). A microalbuminuria vizsgálata emellett alkalmazható lehet a kialakuló vesebetegség, így a szerzett glomerularis betegedések gyanúja esetén (pl. Lyme-betegségre, vagy szívférgességre pozitív állatok).

Tekintve, hogy számos glomerulopathiához vezető szisztémás betegséggel, magas vérnyomással, vesebetegséggel összefüggésbe hozták kutyák és macskák esetén (Harley and Langston, 2012), érdemes lehet az éves rutinvizsgálatok részeként alkalmazni, különösen az örökletes nephropathiára prediszponált fajták esetén, akár már fiatal kortól, rendszeresen monitorozni (Littman, 2011).

A proteinuriához hasonlóan, az albumin mérését is befolyásolhatja az alsó húgyúti fertőzés, ezért értékelése a kórelőzmény, és az üledékvizsgálat figyelembevételével történjen (Grauer, 2011). Tekintve, hogy a korrallal nő az előfordulása, idősebb állatokban, a vizsgálat érzékenysége miatt, nem mindig jár hasznos információval. Ebből adódóan a microalbuminuria diagnosztikai értékelésénél mindig vizsgálni kell, hogy tartósan jelen van-e, illetve idővel mutat-e változást (Littman, 2011). Tartós, emelkedő tendencia esetén a további monitorozás, és háttérben álló lehetséges okok vizsgálata indokolt (Grauer, 2011).

1.3. ALBUMIN/ÖSSZFEHÉRJE ARÁNY A VIZELETBEN

A vizeletfehérje gélelektroforézissel történő vizsgálata a proteinuria jellegének megállapításának hatékony módszere, azonban kiértékelése szaktudást igényel, továbbá a költségek és a standardizáció hiánya korlátozzák széleskörű elterjedését (Smith et al., 2012). Egy humán kutatásban, Smith és mtsai (2012) a tubularis és glomerularis kórképek elkülönítésének egyszerű és olcsó lehetőségét vetették fel. A hipotézis szerint a vizelettel ürülő nagyobb molekulatömegű proteinek (pl. albumin) mennyiségét a vizelet teljes fehérjetartalmának arányában vizsgálva, a proteinuria típusa, az elektroforézisen és immunfixáción alapuló módszerhez (urinary protein electrophoresis and immunofixation – uPEI) hasonlóan megállapítható. A vizsgálat során 1011 beteg elektroforézisre beküldött vizeletmintáit felhasználva, meghatározták a minták albumin, illetve teljes fehérjetartalmának kreatininhez viszonyított arányát (UAC ill. UPC), majd ezek hányadosaként a vizelet albumin/összfehérje arányt (urinary albumin-to-total protein ratio – uAPR). Az uPEI vizsgálatlal elsődlegesen glomerularis mintázatot 69%-ban, tubularis mintázatot 24%-ban, kevert eredetre utaló mintázatot 5%-ban, és a Bence-Jones proteinuriára jellemző „túlcsorduló” mintázatot az esetek 3%-ában állapítottak meg. A tubularis proteinuriát mutató minták esetén az UAC értéke szignifikánsan alacsonyabb volt. Az eredmények alapján a <0,4-es uAPR határérték mutatta a legkiegyensúlyozottabb specificitást (73%) és szenzitivitást (75%) a tubularis mintázatra az elektroforézises vizsgálattal összehasonlítva. A módszer validálása érdekében 68 beteg esetén kórszövettani

vizsgálatot is végeztek, amely során 71%-ban elsődlegesen glomerularis, 12%-ban elsődlegesen tubulointerstitialis és 18%-ban kevert elváltozást találtak. A kórszövettani diagnózis jól korrelált mind az elektroforézis, mind az uAPR eredményeivel. A $<0,4$ uAPR határérték magas szenzitivitást (88%) és specificitást (99%) mutatott az kórszövettannal igazolt, elsődlegesen tubulointerstitialis elváltozás kimutatására. Továbbá, szignifikáns összefüggésben volt az elváltozás mértékével, így az alacsonyabb uAPR értékek enyhébb, a magasabb értékek súlyosabb tubulointerstitialis károsodáshoz társultak, aminek egyértelmű prognosztikai jelentősége is van. 248 nefrológiai beteg esetén tubularis markereket (N-acetil- β -D-glükózaminidáz, β_2 -microglobulin) is vizsgáltak. A markerek kreatininhez viszonyított értékei tubularis proteinuria esetén magasabbak voltak, és az uAPR meghatározásával megegyező hatékonysággal jósolták meg a tubularis mintázatot.

A módszer gyakorlati alkalmazására nyújthat példát a proteinuriás HIV (human immunodeficiency virus) -fertőzött betegek esetén végzett tanulmány. A betegcsoport esetén a krónikus vesebetegség kialakulhat a vírus hatására, a fertőzéstől függetlenül (pl. diabetes, magas vérnyomás betegség, oportunisták fertőzések), vagy a kombinált antiretrovirális terápia következtében. Mivel a kombinált antiretrovirális terápia elsősorban tubularis funkciózavart eredményezhet, így az uAPR segítséget nyújthat a terápiával összefüggésbe hozható toxicitás elkülönítésében, ezáltal a gyógykezelés időben módosítható. Amennyiben pedig glomerularis eredetű proteinuriára van gyanú, tekintve, hogy a HIV-fertőzött populációban gyakoriak a konkurens betegségek, ezeknél a betegeknél nefrológiai kivizsgálás indítható. 1378 HIV-fertőzött beteget vizsgálva 18%-ban találtak jelentős proteinuriát ($UPC \geq 30$ mg/mmol), amelyből 67 beteg esetén állt rendelkezésre UAC, és UPC eredmény is. A 67 esetből 46 esetén tubularis, 21 esetén glomerularis proteinuriát ($>0,4$) állapítottak meg az uAPR értékek alapján. Az uAPR értékek szignifikáns különbséget mutattak tubularis, és glomerularis kórképek esetén. A 8 beteg esetében elvégzett kórszövettani vizsgálat eredménye is jól korrelált az uAPR eredményeivel (Samarawickrama et al., 2012).

2. CÉLKITŰZÉSEK

Kutatásunk célja, hogy megvizsgáljuk a vizelet albumin/összfehérje arány alkalmasságát a vizelettel ürülő fehérjék eredetének megállapítására proteinuriás kutyákban, és összehasonlítsuk az eredményeket a glomerularis és tubularis elváltozások elkülönítésének egy megbízható, a klinikai gyakorlatban alkalmazott módszerével, a vizelet elektroforézissel.

Feltevésünk szerint a vizelet albumin/összfehérje arány meghatározásával megállapítható lehet, hogy a proteinuria kizárólag tubularis funkciózavarra vezethető vissza, vagy a glomerulus is érintett.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. MINTAGYŰJTÉS

A kutatásban felhasznált vizeletminták egy része az Állatorvostudományi Egyetem Kisállatklinikájára érkező kutyáktól származik. Vizsgálatainkat maradék vizeletmintákon végeztük el, ahol legalább 2 ml vizelet a rendelkezésünkre állt. A mintagyűjtésre 2017. október 12. és 2018. augusztus 29. között került sor. A minták másik része egy rutin egészségügyi szűrővizsgálat keretében 2016.09.02-án lett véve, a WOBE Kft. laboratóriumi beagle kutyáiból. A kutyák tenyészállatok, más vizsgálatban nem vettek részt. A vizsgálathoz tartozó kísérleti engedély száma: PEI/001/1708-4/2015 (Pest Megyei Kormányhivatal). A kutatásba minden olyan kutya bekerülhetett, amelynél a vizeletvizsgálat határérték proteinuriát (UPC 0,2-0,5) vagy proteinuriát (UPC >0,5) mutatott, függetlenül attól, hogy gyógyszeres kezelés alatt állt-e a mintavétel időpontjában. Ezen túl, egy normál fehérjeürítést mutató kutya mintája is vizsgálatra került (UPC <0,2). A mintavétel minden esetben cystocentesissel történt. A minták a szállítás és tárolás során hűtve voltak.

3.2. A MINTÁK FELDOLGOZÁSA

A minták feldolgozására a PraxisLab Kft. laboratóriumában került sor. A vizelet kreatinin mérését több lépcsős, enzimátikus, kolorimetrián alapuló módszerrel végezték, a Diagnosztikum Zrt. által forgalmazott kreatinin enzimátikus reagens-készlet felhasználásával. A vizelet teljes fehérjetartalmának meghatározására kolorimetriás módszert alkalmaztak, a pirogallol vörös tartalmú „total protein ultrasensitive” stabil folyékony reagens (Diagnosztikum Zrt.) használatával. Az UPC értéke a vizelet teljes fehérjetartalmának és a vizeletben lévő kreatininnek a hányadosaként lett meghatározva. Az albumintartalom mérése automatizált immunturbidimetriás módszerrel történt Beckman Coulter® microalbumin reagens segítségével. A reagens humán albumin elleni kecske ellenanyagokat tartalmaz, a módszer kutyákra validált. Az UAC értékét a vizelet albumin koncentrációjának és kreatinin tartalmának hányadosaként kaptuk meg.

A vizeletbeli fehérjemintázat meghatározása nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézises módszerrel történt az IDEXX németországi laboratóriumában. A módszer a denaturált fehérjéket a molekulatömegük alapján különíti el, majd a kialakult fehérjemintázatot megfestve a különböző méretű fehérjék megoszlása, és viszonylagos mennyisége is meghatározható. Mérsékelt albumin festődés, és microglobulinok jelenléte

normál fehérjemintázatként lett elbírálva. Erős microglobulin és gyenge albumin festődés esetén elsődlegesen tubularis proteinuriát, jelentős mennyiségű albumin és/vagy nagyobb molekulatömegű fehérjék kimutatása esetén elsődlegesen glomerularis proteinuriát, mindkét proteinuriás mintázatra jellemző fehérjék jelenléte esetén pedig kevert proteinuriát állapítottak meg a laboratóriumban.

3.3. AZ ADATOK FELDOLGOZÁSA

A vizelet albumin/összfehérje arányát (uAPR) az UAC és UPC értékek hányadosaként határoztuk meg, majd ROC (receiver operating characteristic) analízissel vizsgáltuk az ideális határértéket, amely alatt a kizárólag tubularis proteinuria, megfelelő specificitás és szenzitivitás mellett, megállapítható. Az UPC, UAC és uAPR értékek alapján három kategóriába soroltuk a mintákat. Ha az UPC ($<0,2$) és UAC ($<0,03$) eredmények alapján nem állt fent se proteinuria, se microalbuminuria, a minta normál minősítést kapott. A proteinuriás mintákat (UPC $>0,2$ vagy UAC $>0,03$), az uAPR értéke alapján, tubularis és nem-tubularis kategóriákba soroltuk. Mivel mind az albumin, mind az összfehérje mérésének van egy bizonyos mérési hibahatára, azokban az esetekben, amikor a vizelet szinte kizárólag albumint tartalmaz, előfordulhat, hogy a mért albumin érték az összfehérjénél magasabb, így az uAPR >1 értéket mutat. Mivel ez matematikailag nem lehetséges, ezeket az eredményeket 1-nek értelmeztük.

Vizsgálatunk során a vizelet gélelektroforézis eredményeit gold standardnak tekintettük a proteinuria eredetének meghatározására. Annak elbírálására, hogy a proteinuria kizárólag tubularis eredetű-e, a normál mintázatot „normál”, az elsődlegesen tubularis mintázatot „tubularis”, illetve minden olyan eredményt, ahol a glomerulus érintett lehet, így a kevert, és a kizárólag glomerularis mintázatot is „nem-tubularis” kategóriába soroltuk.

Az állatok életkorát, testsúlyát, a minták UPC, UAC és uAPR értékeit folytonos változónak tekintettük. Vizsgáltuk a változók normál eloszlását, így az összesített eredmények ennek megfelelően kerültek megadásra a dolgozatban. Az eredményeket gyógykezelt és kezeletlen proteinuriás csoportokban külön is elemeztük. Az egyes alcsoportok közötti összefüggéseket Mann-Whitney-U próbával vizsgáltuk.

4. EREDMÉNYEK

A kutatás során összesen 29 vizeletminta került vizsgálatra, ebből egy mintát kellett kizárni, mivel az azonos állattól származott, mint egy korábban vizsgált minta. A kizárást követően az összesen 28 különböző kutyától vett minta közül 11 (39,29%) származik laboratóriumi beagle kutyától, és 17 (60,71%) mintát gyűjtöttünk a klinikára érkező proteinuriás kutyákból. 9 kutya (32,14%) állt a proteinuriát csökkentő gyógyszeres kezelés alatt, 19 kutya (67,86%) pedig nem részesült ilyen gyógykezelésben. A kizárást követő eredményeket az 2. Táblázat szemlélteti.

A kutatásban résztvevő 28 kutya esetén az életkor mediánja 6,0 év, alsó és felső kvartilis 3,50; 9,94 év volt a mintavétel idején. A legfiatalabb kutya 3 hónapos, a legidősebb kutya közel 16 éves volt. A gyógykezelést kapott kutyák életkora (medián 10,92; alsó és felső kvartilis 7,18; 12,15) a nem-kezelt csoporténál (medián 5,0; alsó és felső kvartilis 3,50; 7,57) szignifikánsan magasabbnak bizonyult a kutatás során ($p = 0,013$). 10 szuka (35,71%), illetve 18 kan (64,29%) kutya mintái kerültek vizsgálatra, ezek közül 12 állat (42,86%, 5 szuka, 7 kan) volt ivartalanítva. A kutyák testsúlya esetén a medián, alsó és felső kvartilis 12,20 (11,22; 23,97) kg volt. Nem volt szignifikáns különbség a kezelt és nem-kezelt proteinuriás csoport kutyáinak testsúlya között ($p = 0,44$). A csoportok összesített eredményeit a 1. Táblázat tartalmazza. A kutyák közül 26 (92,86%) volt fajtatiszta, és kettő (7,14%) keverék (a fajták a 2. Táblázatban kerültek felsorolásra).

	Nem-kezelt proteinuriás csoport	Kezelt proteinuriás csoport
Életkor	4,0 (3,50; 7,18)	10,92 (7,18; 12,15)
Testsúly	11,95 (11,33; 19,85)	17,60 (9,0; 24,50)
UPC	0,87 (0,43; 1,57)	2,60 (2,27; 4,82)
UAC	0,185 (0,06; 0,73)	1,75 (0,85; 3,64)
uAPR	0,43 (0,05; 0,74)	0,72 (0,39; 0,77)

1. Táblázat: Az életkor, a testsúly, az UPC, UAC és uAPR értékek vizsgálati csoportonként. Az UPC, UAC és uAPR értékek mértékegység nélküliek, az életkor évben, a testsúly kilogrammban lett megadva, az eredmények két tizedesre kerekítettek.

*UPC – vizelet összfehérje/kreatinin arány UAC – vizelet albumin/kreatinin arány
uAPR – vizelet albumin/összfehérje arány*

Törzsszám	Fajta	Életkor	Nem	Testsúly	UPC	UAC	uAPR	Elektroforézis
Nem proteinuriás csoport (1)								
7340	beagle	3,5	♀	12,0	0,06	0,01	0,17	Normál
Nem-kezelt proteinuriás csoport (18)								
7228	beagle	3,5	♀	11,4	0,42	0,28	0,66	Kevert
7644	beagle	2	♂	11,9	0,36	0,11	0,31	Tubularis
7254	beagle	3,5	♂	11,5	1,67	0,02	0,01	Tubularis
5454	beagle	4	♂	11,5	0,56	0,00	0,00	Tubularis
2446792	beagle	3	♂	9,0	0,82	0,00	0,00	Tubularis
7148	beagle	6	♀	12,0	0,48	0,59	1	Normál
1299	beagle	6	♀	11,3	0,34	0,23	0,68	Glomerularis
7276	beagle	3,5	♂	12,4	0,47	0,00	0,01	Tubularis
7252	beagle	3,5	♂	13,0	0,36	0,13	0,35	Tubularis
7284	beagle	3,5	♂	11,0	0,21	0,14	0,66	Normál
265250	beagle	10,97	♂	25,0	3,45	3,91	1	Glomerularis
213640	golden retriever	8,87	(♂)	46,0	0,93	0,71	0,76	Glomerularis
266491	keverék	6,39	♂	13,4	9,75	3,98	0,41	Kevert
271957	labrador retriever	7,97	(♂)	26,2	0,92	0,08	0,09	Tubularis
271862	perzsa agár	9,96	(♂)	31,0	0,94	0,74	0,79	Glomerularis
265482	keverék	5,99	(♂)	9,0	3,76	11,7	1	Glomerularis
271099	golden retriever	0,25	♀	10,0	1,26	0,06	0,04	Normál
272354	bull terrier	9,67	(♂)	22,0	5,32	2,42	0,45	Kevert
Kezelt proteinuriás csoport (9)								
257634	WHWT	9,93	♂	9,0	2,27	1,65	0,73	Kevert
141275	tibeti terrier	15,23	(♂)	16,4	4,7	3,64	0,77	Glomerularis
268449	yorkshire terrier	12,04	(♀)	2,7	8,54	10,82	1	Kevert
268199	magyar vizsla	12,15	(♀)	23,8	12,44	10,9	0,88	Glomerularis
203733	golden retriever	10,92	(♀)	40,1	2,18	0,85	0,39	Glomerularis
267008	magyar vizsla	4,39	(♂)	24,5	4,82	3,48	0,72	Kevert
270162	beagle	15,91	(♀)	17,6	2,6	1,75	0,67	Kevert
249733	boxer	4,0	(♀)	27,0	1,28	0,43	0,34	Kevert
268830	bishon bolognese	7,18	♂	4,2	2,29	0,11	0,05	Tubularis

2. Táblázat: Eredmények a kizárások után. Az életkor évben, a testsúly kilogrammban van megadva, az UPC, UAC, uAPR értékek mértékegység nélküliek. Az értékek két tizedes jegyre kerekítettek. A színek az összehasonlítás érdekében létrehozott kategóriákat jelölik: a zöld a normál fehérjeürítést, a kék a tubularis és a lila a nem-tubularis proteinuriát képviseli.

WHWT – west highland white terrier UPC – vizelet összfehérje/kreatinin arány
UAC – vizelet albumin/kreatinin arány uAPR – vizelet albumin/összfehérje arány
♂ – kan (♂) – ivartalanított kan ♀ – szuka (♀) – ivartalanított szuka

A laboratóriumi beagle kutyák esetén, a vizsgálatot megelőzően egy állatnál sem született klinikai diagnózis a proteinuria eredetére, és gyógyszeres terápiát sem folytattak az esetükben.

A klinikára érkező kutyák esetén, egy állat kivételével, mindnél rendelkezésre állt klinikai diagnózis. 12 kutya (75,0%) esetén állapítottak meg krónikus vesebetegséget. Ennek háttérében számos különböző betegség állt, például vese agenesia, vese dysplasia, leishmaniosis, A krónikus vesebetegség mellett, egyes állatoknál társbetegségek is előfordultak, így például mellékvese daganat, krónikus bélbetegség vagy pajzsmirigy alulműködés. 3 kutya (18,75%) esetén a klinikai kép alapján felmerült az autoimmun glomerulonephritis gyanúja, azonban kórszövettani vizsgálat ennek megerősítésére nem történt. Egy-egy kutyánál (6,25%) került megállapításra iatrogén Addison-kór, myeloma multiplex és akut a krónikuson vesebetegség. Egy állatot (6,25%) az alomtársánál kialakult krónikus vesebetegség miatt vizsgáltunk, a mintavétel idején tünetmentes volt.

A klinikára érkező állatok közül, a vizsgálat időpontjában 9 (52,94%) állt proteinuriát csökkentő gyógykezelés alatt, 8 kutyát (47,06%) nem kezelték. A gyógykezelt csoportban 8 állat (88,88%) szedett angiotenzin-konvertáló enzim gátló szert (75% benazepril, 12,5% enalapril, 12,5% ramipril), 5 állat (55,56%) esetén alkalmaztak amlodipint (4 (44,44%) esetben ACE-gátlóval kombinálva), és egy kutya (11,11%) kapott telmisartant (benazepril mellett).

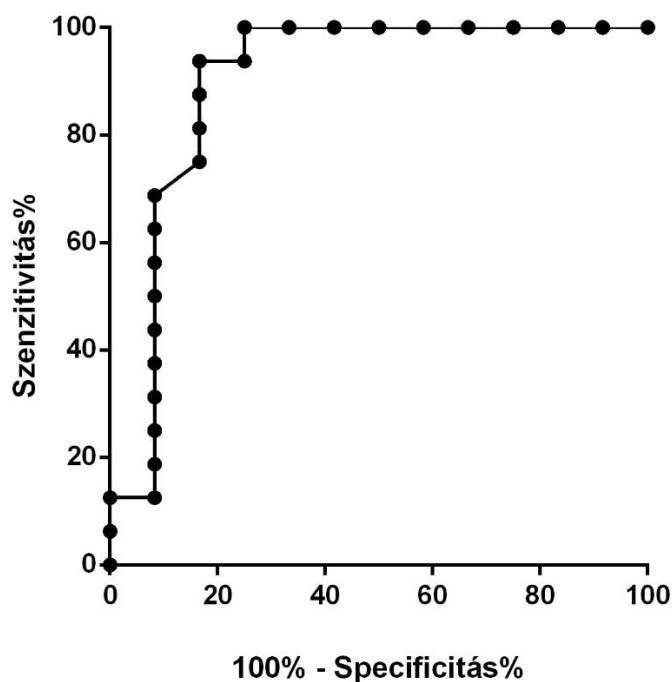
	UPC	UAC	uAPR
Medián	1,27	0,51	0,56
Alsó kvartilis	0,48	0,10	0,15
Felső kvartilis	3,53	2,68	0,77
Minimum érték	0,06	0	0
Maximum érték	12,44	11,70	3,11

3. Táblázat: Az UPC, UAC értékek és az uAPR összesítése. Az értékek mértékegység nélküliek, két tizedes jegyre kerekítve kerültek megadásra.

UPC – vizelet összfehérje/kreatinin arány UAC– vizelet albumin/kreatinin arány
uAPR – vizelet albumin/összfehérje arány

Az UAC, UPC és uAPR esetén az összesített eredményeket a 3. Táblázat szemlélteti. Az értékek csoportonkénti bontásban a 1. Táblázatban láthatók. Nem volt szignifikáns különbség a kezelt és a nem-kezelt proteinuriás csoport között sem az UPC ($p = 0,73$), sem az UAC ($p = 0,40$) sem az uAPR ($p = 0,42$) eredményében.

1. Ábra: Az uAPR = 0,37 határérték vizsgálata ROC analízissel

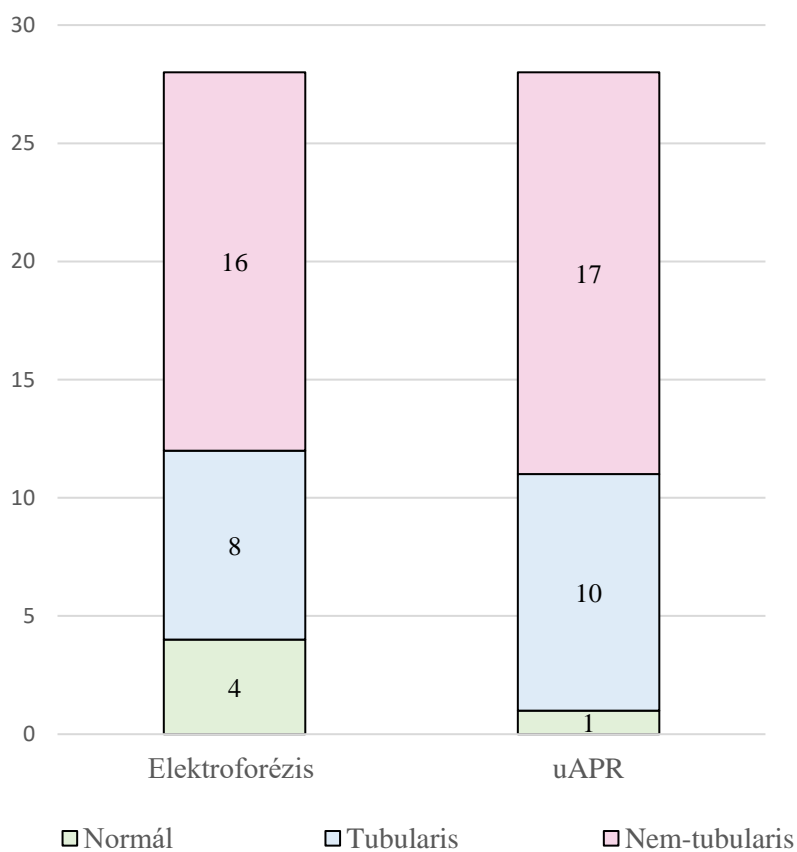


A ROC analízissel az uAPR = 0,37 mutatta a legkiegyensúlyozottabb szenzitivitást és specificitást a kizárólag tubularis proteinuria megállapítására (szenzitivitás = 93,75% specificitás = 75,0%, pozitív prediktív érték = 82,35%, negatív prediktív érték = 81,81%, az értékek kezelt és nem-kezelt csoportokra bontva az 4. Táblázatban láthatók). Az analízis során készített ROC görbe az 1. Ábrán látható. Ezt figyelembe véve az uAPR alapján 10 kutyánál (35,71%) tubularis (uAPR <0,37) és 17 állat (60,71%) esetében nem-tubularis (uAPR >0,37) eredetű proteinuriát állapítottunk meg. Egy kutya (3,57%) fehérjeürítése az UPC és UAC értékek, így az uAPR alapján is, normálnak minősült. Az uAPR és az elektroforézis eredményei mintánként összehasonlítva az 2. Táblázatban, az összesített eredmények az 1. Diagramon láthatók.

	Szenzitivitás (%)	Specifititás (%)	Pozitív prediktív érték (%)	Negatív prediktív érték (%)
Nem-kezelt proteinuriás csoport	100	72,73	72,73	100
Kezelt proteinuriás csoport	87,50	100	100	50,0

4. Táblázat: A szenzitivitás, specifititás, negatív és pozitív prediktív értékek a kezelt és nem-kezelt proteinuriás csoportokban. Az értékek két tizedes jegyre kerekítve vannak megadva.

1. Diagram: A normál fehérjeürítés, a tubularis és nem-tubularis proteinuria megoszlása a vizsgált minták esetén, a vizelet gélelektroforézis és az uAPR eredményei alapján.



Az uAPR a glomerularis érintettséget nem mutatta ki, azaz fals negatív eredmény született egy, az elektroforézis alapján kevert proteinuriával rendelkező kezelt kutya (uAPR = 0,34) esetén. Fals pozitívítás 3, elektroforézissel normál fehérjeürítést mutató mintánál fordult elő (két laboratóriumi beagle és egy nem kezelt kutya esetén). A minták uAPR értékei az elektroforézis eredményei alapján létrehozott normál, tubularis, glomerularis és kevert alcsoportok szerinti bontásban az 5. Táblázat szemlélteti. Az uAPR a vizsgálat során, az elsődlegesen glomerularis és tubularis mintázatot minden esetben, a kevert mintázatot 1 kivétellel, jól állapította meg, azonban a normál fehérjeürítésre jellemző mintázatot a 4-ből csak egy esetben jósolta meg helyesen.

uAPR	Normál (4)	Tubularis (8)	Glomerularis (7)	Kevert (9)
Medián	0,41	0,03	0,77	0,67
Alsó kvartilis	0,14	0,01	0,72	0,45
Felső kvartilis	0,80	0,14	0,88	0,73

5. Táblázat: Az uAPR értéke az elektroforézis eredménye alapján létrehozott normál, tubularis, glomerularis és kevert alcsoportokban. Az értékek mértékegység nélküliek, két tizedes jegyre kerekítve szerepelnek a táblázatban. A zárójelben szereplő számok az esetszámot jelölik.

5. MEGBESZÉLÉS, KÖVETKEZTETÉSEK

A tubularis és glomerularis megbetegedések elkülönítése fontos szempont a további diagnosztikai lépések megtervezésében (pl. kórszövettani vizsgálat), valamint a terápiás terv és a prognózis felállításában.

Glomerularis megbetegedések esetén a pontos diagnózis megállapításához elengedhetetlen a vese kórszövettani vizsgálata. Az autoimmun betegségek, amyloidosis vagy egyéb oktanú glomerulosclerosis elkülönítésével lehetőség nyílik a kezelhető kórokok célzott terápiájára és a prognózis felállítására. Az autoimmun betegségek esetén alkalmazható immunszuppresszív kezelés az egyéb oktanú glomerularis betegségek esetén nem okoz javulást, sőt a szteroid terápia a proteinuria súlyosbodásához vezethet. Tubularis funkciózavar esetén a kórszövettani vizsgálat eredménye nem befolyásolja számottevően az alkalmazott terápiát, így a biopsziás mintavétellel és a vesebeteg állapotátaltatásával járó kockázat felülmúlja a vizsgálattal szerezhető információ diagnosztikai értékét, ezért a beavatkozás elvégzése nem javasolt. A betegszelekciót indokolja továbbá, hogy a kórszövettani vizsgálat megfelelő elbírálása specialistát igényel, amely a magas költségek miatt korlátozza széleskörű elterjedését.

A proteinuria csökkentésére alkalmazott gyógyszerek (pl. ACE-gátlók, angiotenzin receptor-blokkolók) hatékonysága is eltér glomerularis és tubularis elváltozások esetén. Ezek a készítmények a renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer blokkolásán keresztül a glomerulusbeli efferens arteriola tágításával, az intraglomerularis nyomást csökkentve eredményezik a fehérjeürítés csökkenését. Ebből adódóan a glomerularis megbetegedések esetén jól alkalmazhatók, azonban a tubularis proteinuriára nincsenek jelentős hatással.

Klinikai jelentősége tehát a tisztán tubularis proteinuria megállapításának van, mivel így elkerülhető lehet a biopsziás mintavétel és a felesleges gyógyszerhasználat. Éppen ezért, vizsgálatunk során az uAPR érték alapján a proteinuriás mintákat két csoportba soroltuk: tubularis és nem-tubularis. Amikor az albumin nagy mennyiségben jelenik meg a vizeletben, akkor mindegy, hogy kevert vagy glomerularis formáról van szó, mind a gyógykezelés, mind a biopsziás mintavétel indokolt, így ezt a betegcsoportot együtt, nem-tubularis csoportként érdemes vizsgálni.

A rendelkezésre álló vizsgálati módszerek elérhetősége, költségei és szubjektivitása miatt a renalis proteinuria eredetének meghatározása számos esetben diagnosztikai kihívást jelenthet az állatorvos számára.

Nagymértékű proteinuria jellemzően glomerularis funkciózavar következménye, ezért UPC >2-3 esetén további diagnosztika és biopsziás mintavétel javasolható a pontos diagnózis felállításához. Enyhébb proteinuria (UPC 0,5-2) esetén azonban, annak eldöntésére, hogy tubularis, glomerularis vagy kevert eredetű a proteinuria, további vizsgálatok szükségesek. Erre a célra a kórszövettanon kívül, a vizelet fehérje összetételének vizsgálatán alapuló, nem invazív módszerek (pl. SDS-PAGE, tubularis markerek) is alkalmasak lehetnek. A vizelet gélelektroforézis, a kórszövetteni vizsgálathoz viszonyítva, szenzitív (92-100%), de mérsékelt specificitású (40-62%) vizsgálati módszer (Lavoué et al., 2015), hátránya, hogy kivitelezése és az eredmények interpretálása specialistát igényel, illetve a standardizáció hiánya, valamint a költségek korlátozzák a széleskörű alkalmazását. Tubularis markerek (pl. N-acetil- β -D-glükózaminidáz, β_2 -microglobulin) vizsgálata is segítséget nyújthat a tubularis funkciózavar diagnosztizálásában, azonban ezek jelenléte a vizeletben a glomerularis érintettséget nem zárja ki.

Az UAC és UPC értékek széles körben használt, megfizethető diagnosztikai paraméterek a proteinuria jellemzésére, így a humángyógyászatban elért kedvező kutatási eredményekkel együtt (Smith et al., 2012; Samarawickrama et al., 2012) indokolják az uAPR jelentőségének vizsgálatát kutyák esetében is.

A vizsgált állatok kiválasztásánál a proteinuriát az UPC érték alapján definiáltuk, ebből adódóan olyan állatok nem kerülhettek be a kutatásba, amelyek kizárólag microalbuminuriát, UAC eltérést mutattak. Ezzel szemben 4, az UPC érték alapján proteinuriásnak ítélt kutya esetén fordult elő normál albuminürítés (UAC <0,03). Ez egyfajta szelektációs elfogultságot is jelenthetett a kutatás során, azonban mivel a microalbuminuria klinikai jelentősége állatok esetén nem teljesen tisztázott, a kizárólag UAC eltérést mutató kutyák vizsgálata elbizonytalanította volna az eredményeket.

A minták 60,71%-a klinikai esetektől származik, ezáltal az uAPR diagnosztikai jelentősége klinikai körülmények esetén is vizsgálható volt. A vizsgálat a korosztályok széles spektrumát lefedte, és számos fajta, illetve nem fajtatiszta állat is előfordult. A vizsgálati csoport összetétele esetén azonban felmerülhetnek limitáló tényezők is. A minták egy részét laboratóriumi beagle kutyákból gyűjtöttünk, ezáltal beagle a többi kutyafajtához képest jelentősen gyakrabban fordult elő, illetve a csoport életkora is alacsonyabb volt. a klinikára érkező betegekéhez képest. Emellett, a teljes vizsgálati csoport ivararánya a kanok felé tolódott el. A fentiekből, illetve a viszonylag alacsony minta elemszámból adódóan, a

tubularis és nem-tubularis eredetű fehérjevizelés előfordulása eltérhet a proteinuriás kutyák teljes populációja esetén.

A laboratóriumi beagle kutyák vizsgálatánál előnyt jelent, hogy a populáció homogén, tartási és takarmányozási körülményeik azonosak, így ezek a tényezők a vizsgálati eredményeket nem befolyásolják. Ugyanakkor, mivel csupán egyszeri klinikai vizsgálat (fizikális vizsgálat, vér-, vizeletvizsgálat) eredményeit dolgoztuk fel, így a legtöbb esetben nem tudtuk megállapítani, hogy a proteinuria tartós vagy átmeneti, illetve praerenalis vagy renalis okokra vezethető-e vissza. A postrenalis kórok az inaktív vizeletüledék és a negatív mikrobiológiai vizsgálat eredménye alapján kizárásra kerültek. Azotaemia egy kutya esetén se volt kimutatható. Az uAPR teszt a laboratóriumi beagle kutyák esetében is megbízható eredményt adott, így akkor is jól használható lehet, ha nem tudjuk, hogy praerenalis vagy renalis proteinuriával állunk szemben.

A vizsgálatból nem zártuk ki a proteinuria ellenes gyógykezelésben részesülő kutyákat, ami az ürített fehérjék összetételének megváltoztatásával befolyásolhatta az eredményeket. A kezelt és nem-kezelt csoportokat összehasonlítva azonban azt tapasztaltuk, hogy bár a kezelt kutyák életkora magasabb volt, a két csoport eredményeiben nem volt szignifikáns különbség sem az UPC, sem az UAC, sem az uAPR esetében. A három fals pozitív kutya a nem-kezelt, míg a fals negatív eredményű kutya a kezelt csoportba tartozott. Az uAPR teszt megbízhatósága nem különbözött jelentősen a két csoport között a vizsgálat során, ezért gyógykezelés mellett is érdemesnek tartjuk elvégezni ezt a vizsgálatot.

Az uAPR alkalmazását korlátozhatja, hogy a vizeletbeli albumin kvantitatív mérésére több vizsgálati módszer is előfordul, illetve a laboratóriumok között is lehetnek különbségek. A vizsgálatunk során kutyákra validált immunturbidimetriás módszert alkalmaztunk. A teszt validálása során az eredmény lineáris maradt 0-225 mg/dl albumin koncentrációnál, így a microalbuminuriát meghaladó értékek, vagyis albuminuria esetén is megbízható vizsgálati módszer lehet Gentilini és mtsai vizsgálata alapján (2005). 4 állat esetén fordult elő, hogy az albuminürítés értéke meghaladta az összfehérje ürítés értékét, így a kapott uAPR >1 volt, tehát valamelyik mérés biztosan pontatlan volt. Ezekben az esetekben a vizeletbeli fehérjéket szinte kizárólag albumin alkotja. Mivel mind az albumin, mind az összfehérje mérésnek van egy bizonyos mérési hibahatára, így amennyiben az albumin csak kismértékben haladja meg az összfehérje értéket, az eredmény még elfogadhatónak tekinthető. A négyből csak egy esetben volt nagyobb mértékű mérési hiba gyanítható az eredmények alapján (UPC =3,76

UAC =11,7). A négyből három esetben volt az UPC >3 (glomerularis elváltozásra gyanút keltő), ezeknél a glomerularis érintettséget mind az uAPR, mind az elektroforézis igazolta. Ezek közül két állat esetén a mért albuminkoncentráció, a validált érték fölötti volt (650,9 és 315,5 mg/dl, UAC 11,7 és 10,8), amely az immunturbidimetriás módszer korlátaira hívhatja fel a figyelmet jelentősebb albuminürítés esetén. Egy állat esetében az uAPR >1 fals pozitív eredménnyel járt, az elektroforézis alapján normál mintázatot mutatott. Ebben az esetben, mivel nem valószínű, hogy mind az emelkedett albumin, mind az emelkedett összfehérje mérési hiba eredménye lenne, elképzelhető, hogy a vizelet kreatinin értéket mérték alacsonyabbnak, így az UPC és UAC arány magasabb lett, de felmerülhet az elektroforézis téves eredménye is. Biztos választ ezekre a kérdésekre a kórszövettani vizsgálat adhatja.

A kutatás limitációja, hogy a résztvevő betegeknél a tubularis és glomerularis betegségek elkülönítése esetén a valódi gold standardnak számító, kórszövettani vizsgálatot nem végeztük el. Ennek hiányában a kórszövettani diagnózissal általánosságban jól korreláló elektroforézis eredményét tekintettük igaznak, de sajnos a tévedés lehetőségét ez is magában hordozza.

A ROC analízissel megállapított uAPR = 0,37 határérték, a humán kutatásban megállapított 0,4-es határértékhez közeli (Smith et al., 2012). Az így kapott uAPR eredmények jól korreláltak az elektroforézis eredményeivel. A specificitás (75,0%) és szenzitivitás (93,75%) a humán kutatás alapján vártaknak megfelelően magas lett (Smith et al., 2012).

Összesen egy, amlodipin vérnyomáscsökkentővel kezelt, állat esetén született fals negatív eredmény, azonban az uAPR határérték közeli volt (0,34), és az elektroforézis kevert proteinuriára jellemző mintázatot mutatott. Ilyen eredmény akkor születhet, ha a glomerularis eredet miatt az albumin mellett más, nagy molekulatömegű fehérjék is megjelennek, amikre az albumin mérésére szolgáló teszt nem érzékeny, így az uAPR fals alacsony értéket mutat. Ilyen eseteket, bár előfordulásuk ritka, emberek esetén már leírtak (Smith et al., 2012).

Három kutya esetén fordult elő fals pozitivitás. Mind a három esetben az elektroforézis normál fehérjeürítést állapított meg, az uAPR szerint kettő tubularis, egy pedig nem-tubularis proteinuria volt. A három esetből két laboratóriumi beagle csak határérték proteinuriát mutatott (UPC 0,2-0,5), így náluk elképzelhető a fehérjemérés tévedése. A harmadik fals pozitív eredményt egy, a vizsgálat idején nem kezelt, vesediszpláziás kutyánál találtuk, itt az UPC (= 1,3) magasabb volt, ami alapján már felmerülhet az elektroforézis fals

eredménye is. Smith és mtsai (2012) által végzett humán kutatásban is azt tapasztalták, hogy az uAPR eredményeit a kórszövetten eredményeivel összevetve jobb specificitással és szenzitivitással állapítja meg a tubularis elváltozást, mintha az elektroforézissel összehasonlítva a tubularis fehérjemintázatot keresnénk.

Ha az elektroforézis eredménye alapján a csoportokat külön elemeztük, azt tapasztaltuk, hogy a glomerularis és tubularis csoportban az uAPR minden állatot helyesen sorolt be, tehát, ezekben az esetekben kiválóan alkalmazható lehet. A kevert csoportban egy kutyát hibásan a tubularis csoportba sorolt, bár a már említett 0,34-es uAPR közel esett a 0,37-es határértékhez. Az elektroforézissel normál fehérjeürítést mutató csoportban volt a legnagyobb a tévedési arány, itt az uAPR 4 kutyából 2 esetben nem-tubularis, 1 esetben pedig tubularis eredményt adott. Természetesen felmerül az elektroforézis tévedésének lehetősége is.

Eredményeink alapján az uAPR egy gyors, egyszerűen kivitelezhető, nem invazív és költséghatékony módja lehet a kizárólag tubularis eredetű proteinuria megállapításának vagy kizárásának, és ezáltal segítséget nyújthat diagnosztikai és terápiás döntések meghozásában proteinuriás kutyák esetén. A vizsgálataink alapján, az uAPR egyaránt alkalmazható lehet praerenalis és renalis eredetű proteinuriánál, valamint a fehérjevizelést csökkentő gyógyszerrel kezelt és nem kezelt kutyák esetében is.

Jövőbeli terveink között szerepel a vizsgálatot nagyobb esetszámmal kibővíteni, illetve az eredményeket kórszövetteni diagnózissal is alátámasztani. Érdekesnek tartjuk továbbá azt is megvizsgálni, hogy a fehérjevizelést csökkentő gyógykezelés hatására, hogyan változik idővel az elektroforézis, illetve az uAPR eredménye a különböző fehérjemintázatot mutató csoportokban.

6. ÖSSZEFOGLALÓ

A proteinuria a különféle fehérjék (pl. albumin) megjelenését jelenti a vizeletben, tartós fennállása kóros, és általában a fehérjevesztéses nephropathiák jellemzője. A fehérjevesztés többnyire glomerularis vagy tubularis funkciózavar következménye, ezek elkülönítése nagy diagnosztikai és terápiás jelentőséggel bír. Tubularis proteinuria esetén a vizelet elsősorban kisméretű fehérjéket tartalmaz, albumintartalma viszonylag alacsony.

Feltevésünk szerint a vizelet albumin/összfehérje arányának meghatározásával megállapítható lehet, hogy a proteinuria kizárólag tubularis funkciózavarra vezethető vissza, vagy a glomerulus is érintett.

Kutatásunk során 28 kutya vizeletmintájából meghatároztuk az albumin és az összfehérje kreatininhez viszonyított értékét (UAC és UPC), illetve, az ezek hányadosaként definiált, albumin/összfehérje arányt (uAPR). Ezeket az értékeket, a proteinuria eredetének megállapítása szempontjából – a vizsgálatunk során gold standardnak tekintett – nátrium-dodecil-szulfát poliakrilamid gélelektroforézis eredményeivel vetettük össze. Az eredményeket laboratóriumi beagle kutyákban, és a klinikára érkező, gyógykezelt és kezeletlen proteinuriás alcsoportokban külön is elemeztük.

A 28 megvizsgált minta esetén az UPC medián, alsó és felső kvartilis értékei 1,27 (0,48; 3,53), az UAC 0,51 (0,10; 2,69), az uAPR pedig 0,56 (0,15; 0,77) volt. ROC analízissel megállapítottuk, hogy az ideális határérték, ami alatt nagy bizonyossággal eldönthető, hogy a proteinuria eredete kizárólag tubularis az uAPR = 0,37 (szenzitivitás= 93,75% specificitás= 75,0%, pozitív prediktív érték = 82,35%, negatív prediktív érték = 81,81%).

Ezt figyelembe véve az uAPR alapján 10 (35,71%) kutyánál tubularis és 17 (60,71%) állat esetében nem-tubularis eredetű proteinuriát állapítottunk meg, egy (3,57%) kutya fehérjeürítése pedig normál mintázatot mutatott. Az uAPR eredményei jól korreláltak az elektroforézis eredményeivel. Fals negatív eredmény összesen 1 kezelt kutya esetén, fals pozitívítás 3, elektroforézissel normál fehérjeürítést mutató mintánál fordult elő (két laboratóriumi beagle és egy nem-kezelt kutya).

Eredményeink alapján az uAPR egy gyors, egyszerű és költséghatékony módja lehet a kizárólag tubularis eredetű proteinuria megállapításának vagy kizárásának, és ezáltal segítséget nyújthat diagnosztikai és terápiás döntések meghozásában proteinuriás kutyák esetén.

7. ABSTRACT

Proteinuria occurs when different types of proteins (e.g. albumin) appear in the urine. Persistent proteinuria is abnormal and is usually a sign of protein losing nephropathy. The renal loss of proteins is mainly caused by either tubular or glomerular dysfunction, and the differentiation between the two types holds a high diagnostic and therapeutic significance. Tubular proteinuria is defined by the loss of low molecular weight proteins, and comparatively small amounts of albumin.

We hypothesized that by assessing the urine albumin-to-total protein ratio (uAPR) we would be able to identify the source of proteinuria (i.e. whether it is solely tubular origin or caused by glomerular damage as well).

The urinary albumin-to-creatinine ratio (UAC), urinary protein-to-creatinine ratio (UPC), and the ratio of UAC and UPC (uAPR) were determined in 28 canine urine samples. The findings were compared to sodium dodecyl sulfate – polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE), which was considered the gold-standard for the determination of the source of proteinuria in this study. The urine specimens were obtained from laboratory beagles and from treated and untreated clinical patients. Subanalyses were performed in the different cohorts.

The median, lower and upper quartile of the UPC was 1.27 (0.48; 3.53), the UAC was 0.51 (0.10; 2.69), and the uAPR was 0.56 (0.15; 0.77) in the urine specimens. With receiver operating characteristic (ROC) curve analysis the ideal cut-off value was determined to be 0.37, below which the tubular proteinuria could be identified with high confidence (sensitivity = 93.75%, specificity = 75.0%, positive predictive value = 82.35%, negative predictive value = 81.81%). Using this cut-off value, tubular proteinuria was diagnosed in 10 dogs (35.71%), non-tubular proteinuria in 17 animals (60.71%), and one dog (3.57%) had normal protein excretion. The uAPR results showed a high correlation with the electrophoresis outcomes. There was only one dog with a false negative result (in the treated group), and 3 dogs had false positive results with normal protein excretion pattern on electrophoresis (2 laboratory beagles and one dog of the non-treated group).

Based on the results of this study we suggest that uAPR could be a simple and affordable method to identify the source of proteinuria, thus the determination of uAPR may help in the diagnostic and therapeutic decision-making in proteinuric dogs.

8. IRODALOM JEGYZÉK

- Adams, L.G., Polzin, D.J., Osborne, C.A., O'Brien, T.D., 1992: Correlation of urine protein/creatinine ratio and twenty-four-hour urinary protein excretion in normal cats and cats with surgically induced chronic renal failure. *J. Vet. Intern. Med.*, 6. p. 36-40.
- Bacic, A., Kogika, M.M., Barbaro, K.C., Iuamoto, C.S., Simões, D.M., Santoro, M.L., 2010: Evaluation of albuminuria and its relationship with blood pressure in dogs with chronic kidney disease. *Vet. Clin. Pathol.*, 39.2. p. 203-209.
- Brown, J.S., Nabity, M.B., Brock, R., Ciancolo, R., Lees, G.E., 2010: Comparison of urine SDS-PAGE with renal histological findings and clinicopathologic data in dogs with renal disease. *Vet. Clin. Pathol.*, 39. p. 556. (Abstract)
- DiBartola, S.P., Westropp, J.L., 2013: Part Five: Urinary Tract Disorders. In: Nelson, R.W., Couto, C.G. (Eds.): *Small Animal Internal Medicine*. 5th ed. St. Louis, Mosby. p. 629-712.
- Falus, F.A., Székely, D., Manczur, F., 2017: Kutyák és macskák proteinúriája: Irodalmi összefoglaló I. rész. *Magy. Állatorv. Lapja*, 139. p. 90.
- Gentilini, F., Dondi, F., Mastrorilli, C., Giunti, M., Calzolari, C., Gandini, G., Mancini, D., Bergamini, P.F., 2005: Validation of a human immunoturbidimetric assay to measure canine albumin in urine and cerebrospinal fluid. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 17. p. 179-183.
- Grauer, G.F., 2007: Measurement, Interpretation, and Implications of Proteinuria and Albuminuria. *Vet. Clin. Small Anim.*, 37. p. 283-295.
- Grauer, G.F., 2011: Proteinuria: Measurement and Interpretation. *Top. Companion Anim. Med.*, 26. p. 121-127.
- Grauer, G.F., Thomas, C.B., Eicker, S.W., 1985: Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from a random, voided sample. *Am. J. Vet. Res.* 46.10. p. 2116-2119.
- Harley, L., Langston, C., 2012: Proteinuria in dogs and cats. *Can. Vet. J.*, 53. p. 631-638.
- Jacob, F., Polzin, D.J., Osborne, C.A., Neaton, J.D., Kirk, C.A., Allen, T.A., Swanson, L.L., 2005: Evaluation of the association between initial proteinuria and mortality rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 226.3. p. 393-400.
- Jensen, W.A., Cleland, W.P., Donnelly, R., Stinchcomb, D. T., Heska Corp., Fort Collins, CO., 2003: New Data: Identification of Underlying Disease in Dogs that Test Positive with the E.R.D. HealthScreen™ Canine Urine Test. [PDF] URL: www.heska.com/documents/renalhealthscreen/erd_data572.aspx Megtekintve: 2018.08.31.
- Joles, J.A., Sanders, M., Veithuizen, J., Den Hertog, J.M., Van Dijk, C., 1984: Proteinuria in Intact and Splenectomized Dogs after Running and Swimming. *Int. J. Sports Med.*, 5.6. p. 311-316.
- Koroshi, A., 2007: Microalbuminuria, is it so important? *Hippokratia*, 11.3. p. 105-107.
- Langston, C., 2004: Microalbuminuria in Cats. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 40. p. 251-254.
- Lappin, M.R., 2013: Part thirteen: Infectious Diseases. In: Nelson, R.W., Couto, C.G. (Eds.): *Small Animal Internal Medicine*. 5th ed. St. Louis, Mosby. p. 1320.
- Lavoué, R., Trumel, C., Smets, P.M.Y., Braun, J.P., Aresu, L., Daminet, S., Concordet, D., Palanché, F., Peeters, D., 2015: Characterization of Proteinuria in Dogue de Bordeaux Dogs, a Breed Predisposed to a Familial Glomerulonephropathy: A Retrospective Study. *PLoS ONE*, 10.7. e0133311. doi: 10.1371/journal.pone.0133311
- Lees, G.E., Brown, S.A., Elliott, J., Grauer, G.F., Vaden, S.L., 2005: Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats: 2004 ACVIM Consensus Statement (Small Animal). *J. Vet. Intern. Med.*, 19. p. 377-385.
- Littman M.P., 2011: Protein-losing Nephropathy in Small Animals. *Vet. Clin. Small Anim.*, 41. p. 31-62.

- Lyon, S.D., Sanderson, M.W., Vaden, S.L., Lappin, M.R., Jensen, W.A., Grauer, G.F., 2010: Comparison of dipstick, sulfosalicylic acid, urine protein creatinine ratio, and species-specific ELISA methodologies for detection of albumin in canine and feline urine samples. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 236. p. 874-879.
- McCaw, D.L., Knapp, D.W., Hewett, J.E., 1985: Effect of collection time and exercise restriction on the prediction of urine protein excretion, using urine protein/creatinine ratio in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 46.8. p. 1665-1669.
- Monroe, W.E., Davenport, D.J., Saunders, G.K., 1989: Twenty-four hour urinary protein loss in healthy cats and the urinary protein-creatinine ratio as an estimate. *Am. J. Vet. Res.* 50.11. p. 1906-1909.
- Radecki, S., Donnelly, R., Jensen, W.A., Stinchcomb, D.T., Heska Corp., Fort Collins, CO., 2003: Effect of age and breed on the prevalence of microalbuminuria in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 17. p. 406. (Abstract)
- Samarawickrama, A., Cai, M., Smith, E.R., Nambiar, K., Sabin, C., Fisher, M., Gilleece, Y., Holt, S.G., 2012: Simultaneous measurement of urinary albumin and total protein may facilitate decision-making in HIV-infected patients with proteinuria. *HIV Medicine*, 13. p. 526-532.
- Sato, R., Soeta, S., Miyazaki, M., Syuto, B., Sato, J., Miyake, Y., Yasuda, J., Okoda, K., Naito, Y., 2002: Clinical availability of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase index in dogs with urinary diseases. *J. Vet. Med. Sci.*, 64.4. p. 361-365.
- Smets, P.M.Y., Meyer, E., Maddens, B.E.J., Duchateau, L., Daminet, S., 2010: Urinary Markers in Healthy Young and Aged Dogs and Dogs with Chronic Kindey Disease. *J. Vet. Intern. Med.*, 24. p. 65-72.
- Smith, E.R., Cai, M.M.X., McMahon, L.P., Wright, D.A., Holt, S.G., 2012: The value of simultaneous measurements of urinary albumin and total protein in proteinuric patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 27. p. 1534-1541.
- Vaden, S., Jensen, W., Longhofer, S., Simpson, D.F., 2001: Longitudinal Study of Microalbuminuria in Soft Coated Wheaten Terriers. *J. Vet. Intern. Med.*, 15. p. 300. (Abstract)
- Vaden, S.L., Pressler, B.M., Lappin, M.R., Jensen, W.A., 2004: Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples. *Vet. Clin. Pathol.*, 33. p. 14-19.
- Vaden, S.L., Turman, C.A., Harris, T.L., Marks, S.L., 2010: The prevalence of the albuminuria in dogs and cats in an ICU or recovering from anesthesia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20.5. p. 479-487.
- Van Dongen, A., 2013: Diagnostic implications of proteinuria. *Vet. Focus.*, 23.3. p. 47-48.
- Vilhena, H.C.R., Santos, R.R., Sargo, T.J., Lima, T.B., Dias, S.S., Pastorinho, M.R., Queiroga, F.L., Silvestre-Ferreira, A.C., 2015: Urine protein-to-creatinine concentration ratio in samples collected by means of cystocentesis versus manual compression in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 246. p. 862-867.
- White, J.V., Olivier, N.B., Reimann, K., Johnson, C., 1984: Use of protein-to-creatinine ratio in a single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 185.8. p. 882-885.
- Whittemore, J.C., Gill, V.L., Jensen, W.A., Radecki, S.V., Lappin, M.R., 2006: Evaluation of the association between microalbuminuria and the urine albumin-creatinine ratio and systemic disease in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 229.6. p. 958-963.
- Zini, E., Bonfanti, U., Zatelli, A., 2004: Diagnostic relevance of qualitative proteinuria evaluated by use of sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis and comparison with renal histologic findings in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 65. p. 964-971.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, dr. Falus Fruzsina Annának, akinek szakmai iránymutatása nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre. Szeretném megköszönni a segítségét dr. Manczur Ferencnek, illetve a statisztikai vizsgálatokban nyújtott segítséget, dr. Kiss Gergelynek. Köszönettel tartozom továbbá, a PraxisLab Kft. munkatársainak a szakszerűen elvégzett laboratóriumi vizsgálatokért. Végül, de nem utolsósorban, szeretnék köszönetet mondani a közreműködésükért, a WOBE Kft.-nek, illetve a klinikára érkező kutyák tulajdonosainak.

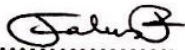
4. melléklet

Alulírott dr. Falus Fuzsina..... Igazolom, hogy

Török Barbara..... (a hallgató neve)

A vizelet albumin /összehégyé arány meghatározásának jelentősége
című diplomamunkát ismerem, azt beadásra és védésre alkalmasnak tartom. proteinuriás kutyákban.

Budapest, 2018. 11. 20.

dr. Falus Fuzsina 

a témavezető neve és aláírása


Belgyógyászati Tanszék és
Klinika.....

tanszék

NYILATKOZAT

Alulírott TÖRÖK BARBARA nyilatkozom, hogy diplomamunkám,
melynek címe A VIZELET AUBUNIN/ÖSSZTÉHÉJÉÉ ARÁNY
MEGHATÁROZÁSÁNAK JELENTŐSÉGE PROTEINURIÁS KUTYÁKBAN
tartalmi és formai szempontból teljes mértékben megegyezik azonos című, a 2018.
évi TDK konferencián szerepelt dolgozatommal.

Budapest, 2018. 11. 19.


.....
TÖRÖK BARBARA
a hallgató neve és aláírása

HuVetA
ELHELYEZÉSI MEGÁLLAPODÁS ÉS SZERZŐI JOGI NYILATKOZAT*

Név: TÓRÓK BARBARA
Elérhetőség (e-mail cím): tbarbi.1995@omail.com
A feltöltendő mű címe: A VIZELET ALBUMIN/ÖSSZTÉHÁRJE ARÁNY MEGHATÁROZÁSAINAK JELENTŐSÉGE PROTÉINURIÁS KUTYÁKBAN
A mű megjelenési adatai: 2018
Az átadott fájlok száma: 1

Jelen megállapodás elfogadásával a szerző, illetve a szerzői jogok tulajdonosa nem kizárólagos jogot biztosít a HuVetA számára, hogy archiválja (a tartalom megváltoztatása nélkül, a megőrzés és a hozzáférhetőség biztosításának érdekében) és másolásvédett PDF formára konvertálja és szolgáltatassa a fenti dokumentumot (beleértve annak kivonatát is).

Beleegyezik, hogy a HuVetA egynél több (csak a HuVetA adminisztrátorai számára hozzáférhető) másolatot tároljon az Ön által átadott dokumentumból kizárólag biztonsági, visszaállítási és megőrzési célból.

Kijelenti, hogy az átadott dokumentum az Ön műve, és/vagy jogosult biztosítani a megállapodásban foglalt rendelkezéseket arra vonatkozóan. Kijelenti továbbá, hogy a mű eredeti és legjobb tudomása szerint nem sérti vele senki más szerzői jogát. Amennyiben a mű tartalmaz olyan anyagot, melyre nézve nem Ön birtokolja a szerzői jogokat, fel kell tüntetnie, hogy korlátlan engedélyt kapott a szerzői jog tulajdonosától arra, hogy engedélyezhesse a jelen megállapodásban szereplő jogokat, és a harmadik személy által birtokolt anyagrész mellett egyértelműen fel van tüntetve az eredeti szerző neve a művön belül.

A szerzői jogok tulajdonosa a hozzáférés körét az alábbiakban határozza meg (egyetlen, a megfelelő négyzetben elhelyezett x jellel):

- engedélyezi, hogy a HuVetA-ban -ban tárolt művek korlátlanul hozzáférhetővé váljanak a világhálón,
- az Állatorvostudományi Egyetem belső hálózatára (IP címeire) korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- a Könyvtárban található, dedikált elérést biztosító számítógépre korlátozza a feltöltött dokumentum(ok) elérését,
- csak a dokumentum bibliográfiai adatainak és tartalmi kivonatának feltöltéséhez járul hozzá (korlátlan hozzáféréssel),

Kérjük, nyilatkozzon a négyzetben elhelyezett jellel a helyben használatról is:



Engedélyezem a dokumentum(ok) nyomtatott változatának helyben olvasását a könyvtárban.

Amennyiben a feltöltés alapját olyan mű képezi, melyet valamely cég vagy szervezet támogatott illetve szponzorált, kijelenti, hogy jogosult egyetérteni jelen megállapodással a műre vonatkozóan.

A HuVetA üzemeltetői a szerző, illetve a jogokat gyakorló személyek és szervezetek irányában nem vállalnak semmilyen felelősséget annak jogi orvoslására, ha valamely felhasználó a HuVetA-ban engedéllyel elhelyezett anyaggal törvénytörtő módon visszaélne.

Budapest, 2019. év ...11.....hó ...19....nap



aláírás

szerző/a szerzői jog tulajdonosa

A HuVetAMagyar Állatorvos-tudományi Archívum – Hungarian Veterinary Archive az Állatorvostudományi Egyetem Hutýra Ferenc Könyvtár, Levéltár és Múzeum által működtetett egyetemi és szakterületi online adattár, melynek célja, hogy a magyar állatorvos-tudomány és -történet dokumentumait, tudásvagyonát elektronikus formában összegyűjtse, rendszerezze, megőrizze, kereshetővé és hozzáférhetővé tegye, szolgáltassa, a hatályos jogi szabályozások figyelembe vételével.

A HuVetA a korszerű informatikai lehetőségek felhasználásával biztosítja a könnyű, (internetes keresőgépekkel is működő) kereshetőséget és lehetőség szerint a teljes szöveg azonnali elérését. Célja ezek révén

- *a magyar állatorvos-tudomány hazai és nemzetközi ismertségének növelése;*
- *a magyar állatorvosok publikációira történő hivatkozások számának, és ezen keresztül a hazai állatorvosi folyóiratok impakt faktorának növelése;*
- *az Állatorvostudományi Egyetem és az együttműködő partnerek tudásvagyonának koncentrált megjelenítése révén az intézmények és a hazai állatorvos-tudomány tekintélyének és versenyképességének növelése;*
- *a szakmai kapcsolatok és együttműködés elősegítése,*
- *a nyílt hozzáférés támogatása.*