

Značaj mikroskopske analize organskog mokraćnog sedimenta u veterinarskoj praksi

Muhamed Katica

SAŽETAK

Mokraća je tjelesni ekskret koji nam pruža dragocjene informacije o mnogim poremećajima u mokraćnom sistemu. Mikroskopska analiza sedimenta mokraćne, pored fizikalnih i hemijskih pretraga je najznačajniji dio analize mokraćne. Ekonomičan je dijagnostički alat, a koji se nerijetko izostavlja u veterinarskoj praksi. Zlatni standard za proučavanje elemenata mokraćnog sedimenta je upotreba tradicionalne, fazno-kontrastne mikroskopske manuelne analize. Mokraća zdrave životinje može sadržavati mali broj eritrocita i/ili leukocita, malo epitelnih skvamoznih ćelija, jedan hijalini ili granulirani cilindar i eventualno nekoliko kristala. Prisustvo velikog broja krvnih korpuskula, cilindara, kao i neobičnih vrsta kristala, neoplastičnih ćelija, parazita i mikroorganizama podrazumijeva abnormalni nalaz, što zahtijeva specijalizirani dijagnostički pristup. Ovaj članak pruža informacije o normalno očekivanim organskim elementima sedimenta mokraćne, a daje i klinički relevantno tumačenje abnormalnih nalaza organskog mokraćnog sedimenta kod pojedinih bolesti mokraćnog sistema. Ispravna identifikacija organskih komponenti mokraćnog sedimenta ključna je za tačnu i pravovremenu dijagnozu poremećaja bubrega i ostalih segmenata mokraćnog sistema.

Ključne riječi: sediment mokraćne, dismorfnih eritrociti, cilindri, epitelne ćelije, degenerirani leukociti.

Katedra za patološku fiziologiju, Veterinarski fakultet, Univerzitet u Sarajevu
Odgovorni autor: muhamed.katica@vfs.unsa.ba

Uvod

Citologija mokraćnog sedimenta se izučava kontinuirano, a mikroskopske analize su se kroz vrijeme modificirale i usavršavale. Evidentan je pomak u znanstvenom razvoju u istraživanju mokraćnih korpuskularnih, kao i drugih elemenata tokom proteklih 10 godina, kao i poboljšanju kliničke dijagnostike bubrežnih bolesti uopće. Zasluge pripadaju prvenstveno automatiziranim analizatorima, odnosno automatiziranoj mikroskopiji, tj. protočnoj citometriji i digitalnim sistemima za snimanje slika (Anderlini i sar., 2015; Bakan i sar., 2016; Bogaert i sar., 2016; Oyaert i Delanghe, 2018). Prednosti protočne citometrije se manifestiraju u tome što se za relativno kratak vremenski period može obaviti analiza velikog broja uzoraka mokraćne. Međutim, ukupna tačnost pomenutih instrumenata u identificiranju (eritrocita, leukocita, epitelnih ćelija, cilindara) je upitna (Bogaert i sar., 2016; Caleffi i Lippi, 2015).

Zlatni standard za proučavanje elemenata urinarnog sedimenta, odnosno najbolja identifikacija istih se još uvijek oslanja na tradicionalnu, fazno-kontrastnu mikroskopsku, manuelnu analizu (Bogaert i sar., 2016; Caleffi i Lippi, 2015; European Confederation, 2000).

Prije svega, identifikacija urinarnog sedimenta ključna je za tačnost i pravovremenu dijagnozu bubrežnih poremećaja kao što su: akutni pijelonefritis i glomerulonefritis, nefrolitijaza, urolitijaza, akutno i hronično zatajenje bubrega, cistitis i praćenje terapije (Ostović, 2015; Caleffi i Lippi, 2015).

U širem kontekstu, indikacije za mikroskopski pregled mokraćnog sedimenta su: detekcija ne-neoplastičnih, pre-malignih i malignih lezija, metastatskih tumora i trijaža kod simptomatskih pacijenata (Ostović, 2015).

Faktori koji utječu na identifikaciju mokraćnog sedimenta

Preduvjet preciznoj identifikaciji elemenata mokraćnog sedimenta su visokokvalitetni uzorci mokraćne. Različite metode prikupljanja urina; kateterizacija, punktiranje mokraćne bešike preko trbušne stijenke, imaju prednosti i nedostatke, a kliničar mora odlučiti o najboljoj metodi prikupljanja mokraćne, ovisno o pozadini bolesne životinje (Alatzas i sar., 2012).

Za analizu mokraćnog sedimenta može se uzeti u obzir i mokraćna dobivena tokom spontanog akta mikcije životinje. Međutim, mokraćna dobivena ovim putem je dijelom kontaminirana mikroorganizmima sa područja vagine ili prepucijuma, kao i distalnih dijelova uretre.

Nužno je da uzorkovani volumeni mokraćne trebaju biti standardizirani kako bi se omogućila korektna usporedba sedimenta urina i kompariranje s naknadnim uzorcima (Reine i Langston, 2005).

Kod životinja koje su bile izložene teškim fizičkim aktivnostima, a potom od istih životinja prikupljena mokraćna za analizu mokraćnog sedimenta, možemo očekivati značajnu promjenu sastava uključujući proteinuriju, hematuriju i tešku cilinduriju (Fogazzi, 2010; Caleffi i Lippi, 2015).

Alkalna elektrohemijaska reakcija mokraće prouzrokovat će povećanu lizu organskih elemenata sedimenta mokraće. Takav nepovoljan ambijent utječe na nedovoljno preciznu identifikaciju i klasifikaciju elemenata mokraćnog sedimenta. Nerijetko u takvom alkalnom ambijentu, javlja se velika količina neorganskih elemenata, prvenstveno amorfnih fosfata (Fogazzi, 2010; Caleffi i Lippi, 2015).

Veoma je važno voditi računa o postupcima prilikom transporta i pohrane uzoraka mokraće. Skladištenje uzoraka urina >4 h može uzrokovati lizu i degeneraciju elemenata urinarnog sedimenta (Manoni i sar., 2008). Uzorak mokraće treba biti pohranjen na +4°C, ali i takav način čuvanja treba biti što kraći jer se kod istih poslije dužeg skladištenja talože soli fosfata i urata pa obilna taloženja mogu prikriti dijagnostički značajne elemente sedimenta. Uzorak može biti pohranjen na sobnoj temperaturi +20°C, ako se obrada izvodi unutar 30 minuta, a nakon tog vremena dolazi do postepene lize ćelijskih elemenata (Sikirica i sar., 2002). Postoji izvještaj koji tvdi da je organska komponenta sedimenta mokraće očuvana tokom 90 dana skladištenja, uz adekvatno konzerviranje sa 3% natrijev fosfat-formaldehidom (Bottini i sar., 2005).

Tehnika pravljenja nativnog pripravka (preparata) i supravitalno bojenje mokraćnog sedimenta

Volumen mokraće predviđen za centrifugiranje je 5 - 15 ml. Poželjno je da se centrifugira uvijek isti volumen uzorka, primjerice 8 ml, uz preporuku upotrebe jednokratnih plastičnih epruveta s konusnim dnom na kojima su označene volumenske vrijednosti. Preporučeno vrijeme centrifugiranja je 5 minuta na 2500-3000 obrtaja. Sljedeći korak je uklanjanje tečnog dijela uzorka mokraće (supernatant) iznad sedimenta. Istaloženi dio (sediment) se pomiješa s preostalim dijelom urina (cca. 0,5 ml) i pipetom prenese kapljica sedimenta na predmetno staklo i pokrije pokrovnim staklom. Na ovakav način dobijen je neobojeni pripravak (nativni preparat) (Alatzas i sar., 2012; Sikirica i sar., 2002).

Moguće je dobiti obojen pripravak (preparat), ukoliko pomiješamo sediment mokraće i boju, primjerice, New Methylene Blue (Alatzas i sar., 2012). Na sediment mokraće doda se 10% boje od volumena sedimenta mokraće, primjerice 0,5 ml sedimenta mokraće i 50 mikrolitara boje. Kako bi sediment u potpunosti došao u dodir s bojom, potrebno je lagano promiješati epruvetu i sačekati 5-10 minuta. U tom vremenskom okviru obaviti će se supravitalno bojenje. Jednom obojeni sediment može se mikroskopirati narednih nekoliko sati (Kouri i sar., 2000, Sikirica i sar., 2002; Chew i DiBartola, 2004). Analiza mokraćnog sedimenta se najčešće vrši mikroskopiranjem nativnih i/ili obojenih pripravaka (preparata) u sklopu brze dijagnostike analize urina.

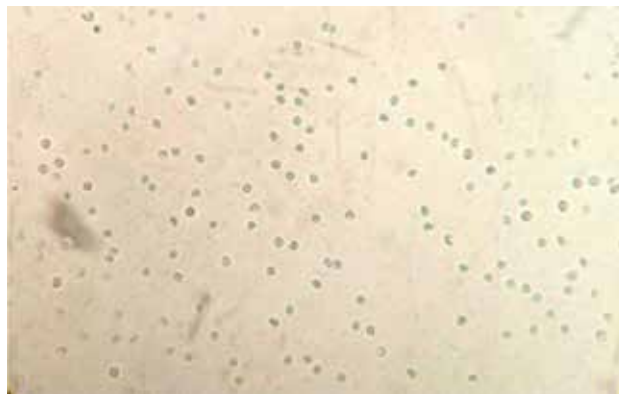
Mikroskopiranje mokraćnog sedimenta

Mikroskopska obrada dobivenog sedimenta mokraće predstavlja najsloženiji dio analitičkog postupka jer zahtijeva edukaciju, dugotrajnu vježbu i dobar optički instrument.

Hematurija (eritociturija)

Prisustvo eritrocita u svim vidnim mikroskopskim poljima je patofiziološki znak. Ukoliko je njihovo prisustvo dominantno (prisutna masa eritrocita u vidnim poljima), proglašavamo makrohaturiju. Hematurija može biti uzrokovana: tumorima, nekim hematološkim poremećajima, prisustvom nefrolita ili urolita, infekcijama, kao i upalnim bolestima (Kardum-Skelin, 2004; Sharma i sar., 2009; Katica i sar., 2019; Nakamura i sar., 2009; Knežević i sar., 2011).

Preciznom identifikacijom eritociturije u mokraćnom sedimentu možemo dovesti u vezu sa nekim bolestima kao što su: litijaza, glomerulonefritis, dijagnosticirati upale mokraćnog mjehura (Slika 1) (Ostović, 2015). Hematurija može biti posljedica manjeg ili obilnog krvarenja, uzrokovana lezijama distalnih ili proksimalnih partija urinarnog trakta ili pak posljedica sistemske koagulopatije. Kod pasa i mačaka, hematurija je najčešće posljedica bolesti donjeg dijela mokraćnog sistema (Adamama-Moraitou, 2017; Katica i sar., 2019; White i sar., 2008; Forrester, 2004).



Slika 1. Eritrociti u mokraći, povećanje 100 X (Katica i sar., 2019)



Slika 2. Dismorfični eritrociti, povećanje 400 X (Katica i sar., 2019)

Prisustvo 80% i više dismorfnih eritrocita (slika 2), upućuje na krvarenje iz gornjeg, dok mokraći upućuje na krvarenje iz donjeg dijela mokraćnog trakta (Kardum-Skelin, 2004; Knežević i sar., 2011).

Renalni uzroci hematurije uključuju glomerularne bolesti kao i eventualno prisustvo neoplazije, nefrolita, traume,

pielonefritisa, kao i idiopatsku bubrežnu hematuriju (Adamama-Moraitou, 2017; Forrester, 2004). Hematurija nije izražena karakteristika glomerularne bolesti kod mačaka i pasa (Cook i Cowgill, 1996), dok je u humanoj medicini obrnut slučaj. Bolesti bubrežnog parenhima treći su po učestalosti uzrok mikrohematurije, odmah nakon neoplazmi i kamenaca (Roth, 1991).

Sediment normalne mokraće bi trebao sadržavati vrlo malo eritrocita, ovisno od načina dobivanja mokraće. Prag mikroskopske hematurije u humanoj medicini iznosi 3 eritrocita/po vidnom mikroskopskom polju, što je ustanovila američka urološka asocijacija (Adamama-Moraitou i sar., 2017; Grossfeld i sar. 2001).

Granična vrijednost mikroskopske hematurije u veterinarskoj medicini je postavljen na ≥ 8 eritrocita po vidnom mikroskopskom polju u svježoj mokraći dobivene nakon akta mikcije ili uzorcima mokraće, nakon kateterizacije ≥ 5 te na ≥ 3 eritrocita za uzorke skupljene punktiranjem mokraćne bešike (cistocentezom) (Katica i sar., 2019; Chew i DiBartola, 2004). Ovisno o opsegu trauma prilikom prikupljanja uzoraka mokraće, posebno kod ponovljene cistocenteze, moguće je pronaći i do ≥ 50 eritrocita po vidnom mikroskopskom polju (Chew i DiBartola, 2004).

Na sadržaj sedimenta mokraće utječe njezina specifična težina. Primjerice, 10 eritrocita po jednom vidnom mikroskopskom polju u uzorku mokraće sa specifičnom težinom od 1.014 može biti usporedivo sa 20 do 30 eritrocita u uzorku mokraće sa specifičnom težinom mokraće od 1.050 (Chew i DiBartola, 2004). Eritrociti u visokokonzentriranoj mokraći bit će manjeg promjera i nerijetko će zauzimati nepravilan oblik, dok će veoma razrijeđena mokraća uzrokovati bubrenje eritrocita (Katica i sar., 2019; Chew i DiBartola, 2004).

Leukociturija

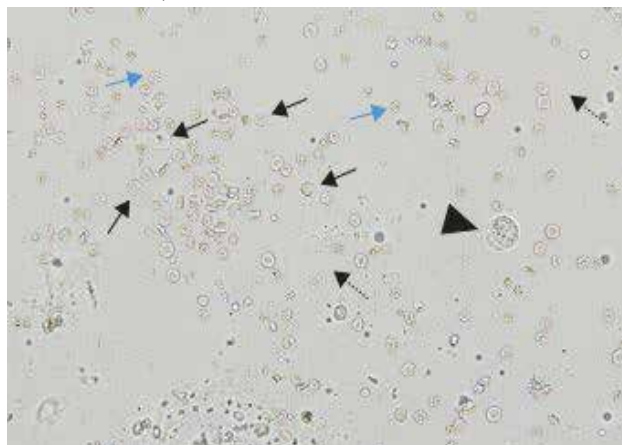
Povećan broja leukocita (piurija) upućuje na upalne procese u mokraćnom sistemu. Masa leukocita u vidnim mikroskopskim poljima, prvenstveno neutrofilni, kao i prisustvo bakterija i leukocitnih cilindara ukazuje na akutni pijelonefritis (Katica i sar., 2019; Jerkić i Božić, 2012). Leukociti u neobojenom i obojenom pripravku (preparatu) mokraćnog sedimenta su veći 150-200% od eritrocita (Slika 3 i Slika 4) (Alatzas i sar., 2011; Chew i DiBartola, 2004).

Limfocite i monocite u mokraćnom sedimentu je teško razlikovati od malih bubrežnih epitelnih ćelija (tubulocita) (Chew i DiBartola, 2004). Vrijede i za leukocite identični kriteriji za proglašavanje leukociturije; urin dobiven spontano ≥ 8 leukocita, nakon kateterizacije ≥ 5 i ≥ 3 leukocita za uzorke skupljene cistocentezom (Chew i DiBartola, 2004; Alatzas i sar., 2011; Katica i sar., 2019). Grupe leukocita često se javljaju s bakterijskom infekcijom mokraćnog sistema, čak i kada bakterije nisu vidljive. Pažljivim ispitivanjem prostora između skupljenih neutrofila često se otkrivaju nakupine bakterija (Slika 16) (Chew i DiBartola, 2004). Ukoliko u vidnim mikroskopskim poljima identificiramo prisustvo bakterija, a istovremeno odsustvo leukocita (neutrofila), mogući uzroci u ovom slučaju je diabetes mellitus-a, Kušingovog sindrom i dugotrajana terapija s

glukokortikosteroidima. Možemo pretpostaviti da je uzorak mokraće eventualno kontaminiran u uvjetima *in vitro*.



Slika 3. Leukociti u neobojenom pripravku. Povećanje 600 X leukociti crne strelice, eritrociti plave strelice (Rizzi i sar., 2017)



Slika 4. Sediment mokraće psa s brojnim kreniranim RBC-ovima (plave strelice), leukociti (crne strelice), jedna ćelija prelaznog tipa (crni trokut) i bakterije (isprekidane strelice). Povećanje 200 X (Rizzi i sar., 2017).

Epitelne ćelije

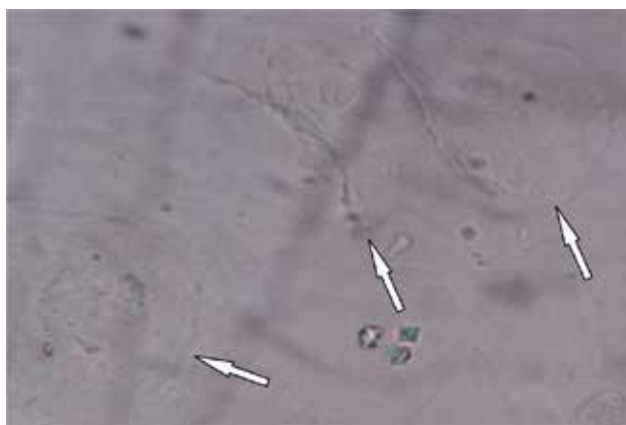
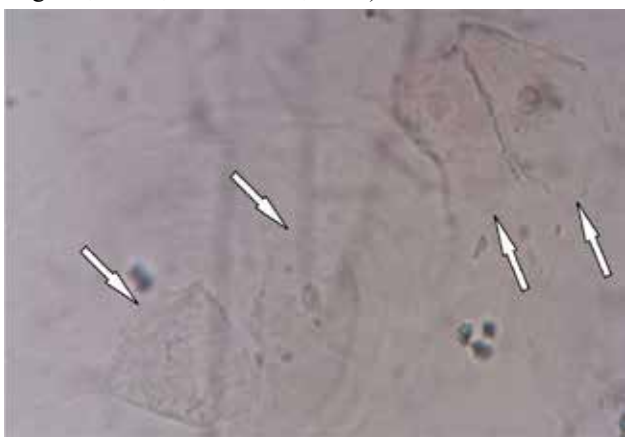
Tokom mikroskopskog pregleda mokraćnog sedimenta, uočavaju se epitelne ćelije različite veličine, a koje potječu iz različitih dijelova uro-genitalnog sistema. Općenito, najmanje su bubrežne ćelije (tubulociti) iz bubrežnih kanala. Značajno većeg dijametra su epitelne ćelije prelaznog tipa, a potječu iz uretre, mjehura i proksimalne uretre. Najveće ne-neoplastične ćelije koje dolaze iz distalnih područja uretre, vagine i prepucija su skvamozne ili pločaste ćelije. Mokraća zdravih pasa i mačaka sadrži nekoliko epitelnih ćelija u vidljivim mikroskopskim poljima tokom analiza mokraćnog sedimenta.

Skvamozne (pločaste) epitelne ćelije

One su najveće ćelije u mokraćnom sedimentu, dijametra 40-60 mikrometara. Potječu iz rubnih segmenata uretre, vagine i prepucijuma, zbog čega je često prisutan u malom broju u sedimentu mokraće. To su poligonalne ćelije, za-

obljenih uglova, čija je citoplazma velika s malim jedrom centralno ili ekscentrično položenim (Slika 5 i Slika 6).

Mogu biti prisutne pojedinačno, ali često i u skupinama u vidnim mikroskopskim poljima. Ako su prisutne pločaste epitelne ćelije u sedimentu, ali bez prisustva leukocita, to upućuje na kontaminaciju uzorka mokraće, odnosno nepravilno skupljanje ili loša primjena higijene vanjskih genitalija u humanoj medicini (Sikirica, i sar., 2002). U veterinarskoj praksi, povećano prisustvo skvamoznih pločastih ćelija u mokraćnom sedimentu ženki, ukazuje na tjeranje, odnosno estrusni ciklus kod ženki. U vrlo rijetkim slučajevima kod malignih procesa u donjim dijelovima mokraćnog sistema mogu se naći skvamozne epitelne ćelije u mokraćnom sedimentu, ali tada iste pokazuju promjene u strukturi i obliku jedra. U slučaju da se dobije takav nalaz, nužan je detaljan citološki tretman (Sikirica i sar., 2002; Fogazzi, 2010; Katica i sar., 2019).



Slika 5. i Slika 6. Skvamozne epitelne ćelije Neobojeni pripravci, povećanje 400X, (bijele srelice) (Katica i sar., 2019)

Epitelne ćelije prelaznog tipa

Epitelne ćelije prelaznog tipa su u morfološkom smislu veoma specifične. Pojavljuju se u više različitih oblika. Pored malih okruglih ili ovalnih ćelija, mogu se pojaviti kao “rep”, izdužene u obliku palice za bejzbol. Pokrivaju mokraćne prohodne putove, bubrežne karlice, mokraćnog mjehura i proksimalni dijela uretre. Najčešće zauzimaju okrugao oblik sa velikim jedrom, centralno položenim (slika 7) (Sikirica i sar., 2002; Fogazzi, 2010).



Slika 7 Epitela ćelija prelaznog tipa obojeni pripravak, povećanje 400X (Sikirica, i sar., 2002)

Bubrežne epitelne ćelije (tubulociti)

Bubrežni tubularni epitel koji pokriva nefron odnosno dijelove glomerula, proksimalne i distalne tubule kao i sabirne kanaliće. Tubulociti su zastupljeni u velikom broju, a različitih su oblika. Bubrežno-tubularne epitelne ćelije su obično dijametra oko 13 mikrometara, okrugli ili ovalni sa velikim, centralno ili pomalo ekscentrično postavljenim jedrom. Ćelije koje potječu iz sabirnih kanalića kvadratnog su oblika, dok one koje dolaze iz proksimalnih tubula su relativno veće, ovalne ili izdužene granulirane ćelije. Pojava ovih ćelija u mokraći se dovodi u vezu s akutnom tubularnom nekrozom. Prisutne su i u slučajevima febre, raznih toksičnih oštećenja, toksičnog djelovanja lijekova, kao i trovanja teškim metalima.

Cilindrurija

Cilindri vjerno odslikavaju unutrašnji cjevasti lumen uzlaznih dijelova Henleove petlje, distalnih tubula, sabirnih kanalića bubrega, gdje se zapravo i stvaraju. Najužeg promjera su cilindri koji potječu iz Henleove petlje, a najširi oni koji dolaze iz sabirnih kanalića (Rizzi i sar., 2017). Izrađeni su od specifičnog matriksa, tj. Tamm-Horsfall proteina kojima su pridodate najčešće epitelne ćelije i/ili krvni korpuskuli (eritrociti, leukociti). Od najveće je važnosti imati na umu da se cilindri formiraju u bubrežnim tubulima, a svi elementi ugrađeni u matriks cilindra potječu iz bubrega, što je značajna dijagnostička važnost (Fogazzi, 2010; Caleffi i Lippi, 2015). Prisustvo cilindara se može povezati s brojnim bubrežnim poremećajima, čija dijagnoza također može ovisiti o ispravnoj identifikaciji mokraće (Rizzi i sar., 2017; Caleffi i Lippi, 2015; Chew i Di Bartola, 2004). Jako alkalna mokraća sprečava stvaranje cilindara i pogoduje lizi drugih ćelijskih elemenata. Dodatni uvjeti koji mogu narušiti tačnu identifikaciju i klasifikaciju cilindara uključuju kontaminaciju uzorka genitalnim sekretima, prisustvo velikih količina amorfnih fosfata i kristala, kao i mokraća sa niskom specifičnom težinom (Fogazzi, 2010; Caleffi i Lippi, 2015).

Cilindri se dijele prema morfološkim karakteristikama i veličini. Također ovise i o tipovima ugrađenih ćelija (Tabela 1) (Chew i sar., 2011; Katica i sar., 2019; Rizzi i sar.,

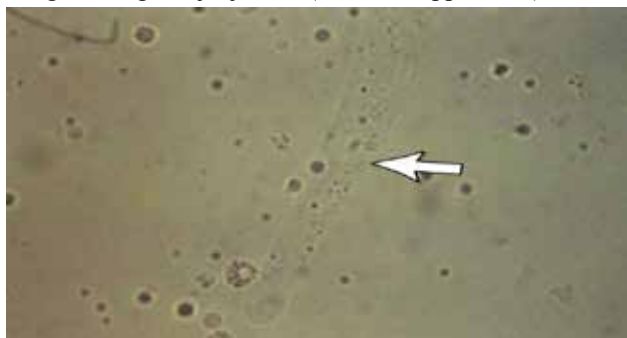
2017; Fogazzi, 2010; Caleffi i Lippi, 2015; Chew i Di Bartola, 2004; Alatzas i sar., 2012).

Tabela 1. Klasifikacija cilindara

Tip	Subtip
Hijalini	-
Granulirani	Fino granulirani
	Grubo granulirani
Voštani	-
Široki	-
Masni	-
Ćelijski	Leukocitni
	Eritrocitni
	Epitelijalni
Mješoviti	Hijalini-granulirani
	Granulirani-ćelijski
	Granulirani-masni
	Waxy-granular
	Voštani-ćelijski
Krvni	Degenerirani eritoriciti
Pigmentni	Hemoglobinski
	Mioglobinski
	Bilirubinski

Hijalini cilindri

Građeni su isključivo od Tamm-Horsfallovih proteina i oni su preteče svih ostalih cilindara (Tabela 1). Mogu zauzimati različite oblike, kao što su kompaktni, savijeni ili naborani oblici (Alatzas i sar., 2012; Caleffi i Lippi, 2015). Indeks loma svjetlosti hijalinih cilindara je vrlo nizak zbog čega se doimaju kao vrlo nježne strukture (Slika 8 i Slika 9), koje se trebaju promatrati prvo pod malim povećanjem kako se ne bi previdjeli. (Sikirica i sar., 2002). Mikroskopiranjem nativnih preparata hijalini cilindri se mogu uočiti kao blijede, bezbojne formacije i zato ih je relativno teže prepoznati te lako mogu biti zanemareni. Do dva hijalina cilindra po vidnom mikroskopskom polju mogu se naći u koncentriranom uzorku mokraće kod zdravih pasa i mačaka (Rizzi i sar., 2017). Hijalini cilindri mogu biti zastupljeni s većim brojem u vidnim mikroskopskim poljima, kod ne-bubrežnih poremećaja, groznice, dehidracije, akutnog kongestivnog zatajenja srca (Caleffi i Lippi, 2015).



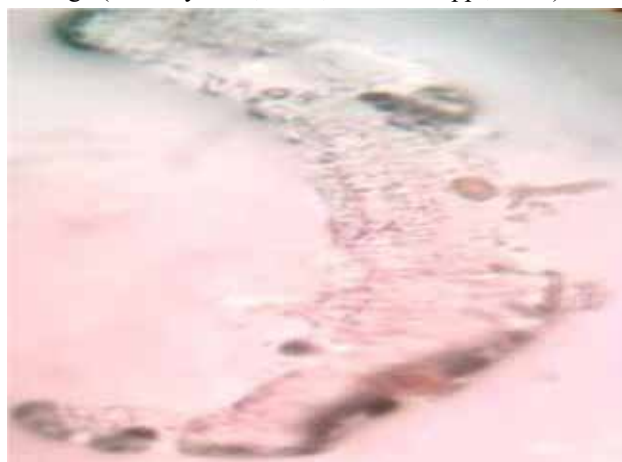
Slika 8. Hijalini cilindar neobojeni pripravak, povećanje 400X, bijela strelica (Chew i DiBartola, 2004)



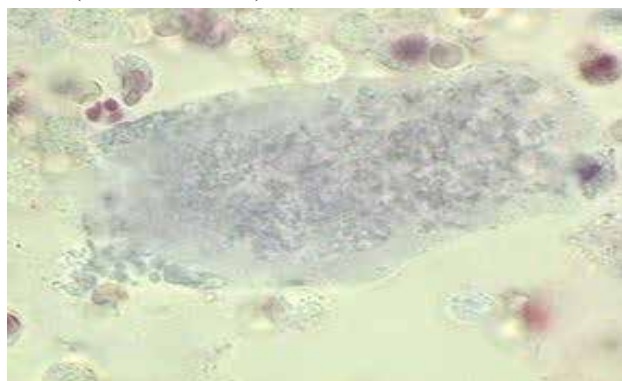
Slika 9. Hijalini cilindar neobojeni pripravak, povećanje 400X (Rizzi, 2017)

Granulirani cilindri

Postoje dva subtipa granuliranih cilindara (Tabela 1). Isti se sastoje od granula koje mogu varirati po veličini, od finih, granuliranih cilindara (Slika 10) te grubo granuliranih cilindara (Slika 11). Fino granulirani cilindri su utvrđeni kod pacijenata sa proteinurijom. Nerijetko su prisutni u mokraći grubo granulirani cilindri kod pacijenata kojima nije utvrđena proteinurija. Pretpostavka je da se sastoje od degeneriranih ćelijskih elemenata, leukocita, epitelnih ćelija itd. Prisustvo grubo granuliranih cilindara u mokraći (slika 11) također otvara sumnju na eventualnu povredu bubrega (Rutecky i sar., 1971; Caleffi i Lippi, 2015).



Slika 10. Finogranulirani cilindar neobojeni pripravak, povećanje 400X (Katica i sar., 2019)



Slika 11. Grubo granulirani cilindar obojeni pripravak, povećanje 500 X (Sikirica i sar., 2002)

Voštani cilindri

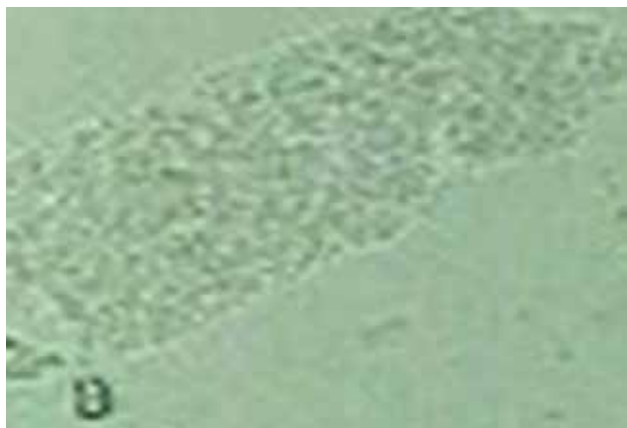
Noviji izvještaji ukazuju da voštani cilindri kod pacijenata sa glomerulonefritom ne sadrže Tam-Horsalove proteine već proteine krvne plazme (Spinelli i sar., 2013). Voštani cilindri su rijetki u mokraći domaćih životinja i smatraju se završnom fazom degeneriranih granuliranih cilindara (Rizzi i sar., 2017; Katica i sar., 2019). Prisutni su u mokraćnom sedimentu kod oštećenja bubrežnih funkcija; akutna ili hronična, renalna amiloidoza (Caleffi i Lippi, 2015; Chew i Di Bartola, 2004).

Masni (lipidni) cilindri

Masni cilindri su zrnaste strukture, koji sadrže veći broj masnih kapljica. Kapljice masti mogu varirati u veličini od male do vrlo velike i mogu varirati u veličini unutar istog cilindra (Rizzi i sar., 2017).

Široki cilindri

Mogu biti bilo kojeg subtipa (Tabela 1), a formiraju se najčešće u sabirnim kanalicima, gdje je u fiziološkim okvirima normalna velika brzina protoka mokraće. Da bi se formirao cilindar u ovom dijelu nefrona, mora doći do ozbiljnog smanjenja brzine protoka mokraće. Također široki cilindri se mogu formirati i u veoma dilatiranim dijelovima distalnih tubula. Prisutnost velikog broja širokih cilindara u mokraćnom sedimentu, ukazuje na teške bubrežne bolesti, ali može ukazivati i na oporavak, jer se uz oliguriju javlja akutna bubrežna slabost. Široki cilindri su često voštani zbog dužih intrarenalnih zastoja, ali bilo koja vrsta cilindra može se klasificirati kao široki cilindar (Slika 12) (Rizzi i sar., 2017; Chew i Di Bartola, 2004; Katica i sar., 2019).



Slika 12. Široki cilindar neobojeni pripravak, povećanje 560X (Chew i DiBartola, 2004)

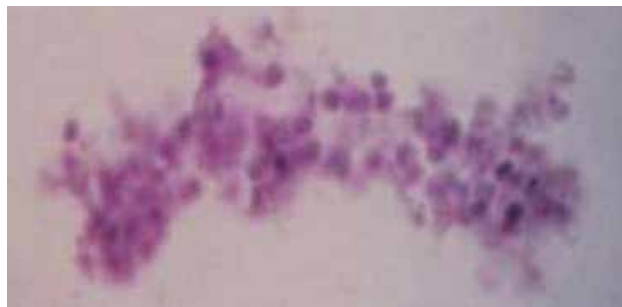
Leukocitni cilindri

Leukocitni cilindri (Tabela 1) su kombinacija mukoproteinskog cilindra sa ćelijama leukocitog reda (Slika 13). Prisutni su kod više vrsta hroničnih i akutnih bolesti bubrega, a najčešće kod pijelonefritisa. Nikada nisu prisutni u mokraći zdravih životinja (Jerkić i Božić, 2012; Sikirica i sar., 2002; Katica i sar., 2019).

Eritrocitni cilindri

Sastoje se od Tamm-Horsfall-ovih proteina, unutar kojih su ugrađeni intaktni eritrociti (Tabela 1), normalne morfologije (Slika 14). Ako se unutar proteinskog matriksa nalaze degenerirani eritrociti to su zapravo cilindri karak-

teristične crveno-smeđe boje i u literaturi su opisani kao krvni cilindri. Njihova prisutnost u urinu je uvijek pokazatelj krvarenja iz bubrega parenhima. Nikada nisu prisutni u urinu zdravih životinja (Ringsrud, 2001; Sikirica i sar., 2002; Katica i sar., 2019).



Slika 13. Leukocitni cilindar. Obojeni pripravak, povećanje 400X, (Chew i DiBartola, 2004)



Slika 14. Eritrocitni cilindar. Neobojeni pripravak, povećanje 400X, (Rizzi i sar., 2017)

Epitelni cilindri

Napravljeni su od mukoproteinskog matriksa i epitelnih ćelija bubrežnih tubula (Tabela 1 i Slika 15). Epitelne ćelije su vrlo često degenerirane, što je posljedica oštećenja tubula, a što uveliko otežava identifikaciju cilindra. Ova vrsta cilindra zastupljena je u mokraći u slučajevima kada se istovremeno mogu pronaći i pojedinačni primjerci epitelnih ćelija bubrežnih tubula. Nikada nisu prisutni u mokraći zdravih životinja (Chew i Di Bartola, 2004; Sikirica i sar., 2002).



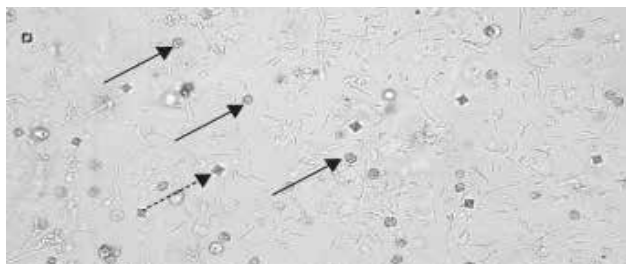
Slika 15 Epitelni cilindar, neobojeni pripravak, povećanje 400X (Rizzi i sar., 2017)

Cilindroidi (Pseudocilindri)

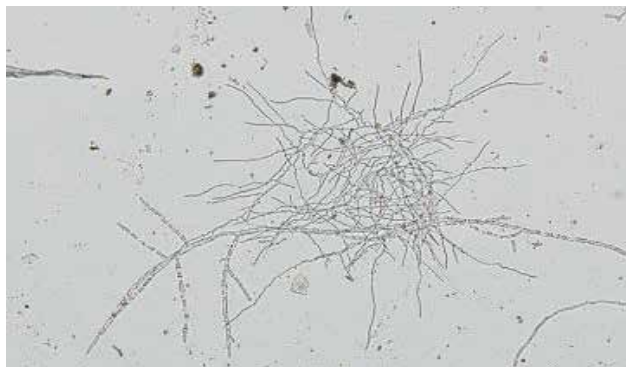
Tvorevine su cilindričnog oblika koje nastaju izvan bubrega, najviše u mokraćnoj bešici. Pojavljuju se u mokraći i morfološki su slični pravim cilindrima. Njihovo prisustvo u mokraći nema kliničke signifikantnosti (Sikirica i sar., 2002). Od čega su nastali cilindroidi, nije u potpunosti rasvijetljeno. Duži su i uži u odnosu na cilindre i ukoliko sačuvaju svoj integritet u cjelosti, tokom centrifugiranja mokraće i pravljenja pripravaka, mogu zauzeti više vidnih mikroskopskih polja.

Druge organske komponente koje su često prisutne u mokraćnom sedimentu

Bakterije nisu prisutne u urinu zdravih životinja, ali se može pronaći manji broj zbog kontaminacije, „iz vana“ prilikom nestručnog uzorkovanja mokraće. Također dolazi u obzir i duže skladištenje mokraće na sobnoj temperaturi, kao uzrok pojave bakterija u njoj. Tačna identifikacija bakterija u mokraći može biti samo uspostavljena na osnovu mikrobiološke analize. Gljivice se nerijetko pojavljuju u formi hifa ili pak zauzimaju ovalan oblik. Paraziti u mokraći se nerijetko javljaju, najčešće preko fekalnog materijala. U vidnim mikroskopskim poljima često se pojavljuju artefakti, koji su produkt kontaminacije „iz vana“, najčešće su u pitanju: pamučan nit, čovječija dlaka, škrobni prah od hirurških rukavica, masne kapljice, mječurići zraka i slično. Svi navedeni artefakti otežavaju mikroskopiranje, a pojedini nas mogu dovesti u zabunu te ih možemo zamijeniti s nekim od standardnih elemenata mokraćnog trakta. Primjerice, pamučna nit liči na cilindar ili pseudocilindar, a neke forme kapljica masti veoma liče eritrocitima (Sikirica i sar., 2001; Fogazzi, 2010; Katica i sar., 2019).



Slika 16. Obilna količina štapićastih bakterija sa evidentnim leukocitima (strelice) kristali (isprekidana strelica). Nebojeni preparat, povećanje 400X (Rizzi i sar., 2017)



Slika 17. Gljivične hife, nebojeni preparat, povećanje 100X (Rizzi i sar., 2017)



Slika 18. Gljivice (ovalnog oblika), obojeni pripravak, povećanje 200X (Rizzi i sar., 2017)

Zaključak

Analiza mokraćnog sedimenta, kao jedna od najčešće potrebitih pretraga brze dijagnostike, mora biti uslovljena kliničkom slikom pacijenta, kako bi tek mogla biti značajna pomoć u otkrivanju i praćenju različitih vrsta infekcija mokraćnog sistema. Također u otkrivanju i praćenju neinfektivnih bolesti bubrega, kao i uspostavljanju dijagnoze i praćenju djelotvornosti terapije.

Tačnost dobivenih rezultata kao fundamentalnog uslova za pravilnu kliničku interpretaciju osigurava se standardizacijom svih uvjeta od skupljanja i transporta mokraće, fizikalno-hemijske obrade te primjene preporučene standardizirane mikroskopske analize. Supravitalnim bojenjem sedimenta mokraće postiže se bolja vidljivost ćelijskih elemenata, a time i pouzdanost dobivenih rezultata.

Ova jeftina, jednostavna i brza analiza organskog mokraćnog sedimenta je važan alat za dijagnosticiranje bolesti mokraćnog sistema, ali na žalost se često izostavlja u veterinarskoj praksi, iako može biti veoma korisna.

Literatura

1. Adamama-Moraitou, K.K., Pardali, D., Prassinou, N.N., Menexes, G., Patsikas, M.N., Rallis, T.S., 2017. Evaluation of dogs with macroscopic haematuria: a retrospective study of 162 cases (2003–2010). *New Zealand Veterinary Journal*. 65(4), 204–208.
2. Alatzas, D.G., Mylonakis, M.E., Polyzopoulou, Z.S., Koutinas, A.F., 2012. Urine sediment evaluation in the dog and cat. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 63(2), 135–146.
3. Anderlini, R., Manieri, G., Lucchi, G., Raisi, O., Soliera, A.R., Torricelli, F., Varani, M., Trenti, T., 2015. Automated urinalysis with expert review for incidental identification of atypical urothelial cells: An anticipated bladder carcinoma diagnosis. *International Journal of Clinical Chemistry*. 451(Pt B), 252–256.
4. Bakan, E., Ozturk, N., Kilic Baygutalp, N., Polat, E., Akpinar, K., Dorman, E., Polat, H., Bakan, N., 2016. Comparison of Cobas 6500 and Iris IQ200 fully-automated urine analyzers to manual urine microscopy. *Biochemia Medica*. 26(3), 635–75.
5. Bogaert, L., Peeters, B., Billen, J., 2016. Evaluation of a new automated microscopy urine sediment analyser – sediMAX conTRUST®. *Acta Clinica Belgica*. DOI: 10.1080/17843286.2016.1249999
6. Bottini, P.V., Garlipp, C.R., Lauand, J.R., Cioffi, S.G.L., Afaz, S.H., Prates, R.L., 2005. Glomerular and Non-Glomerular Haematuria: Preservation of Urine Sediment. *Lab. Medicine*. 36 (10), 647–649.
7. Caleffi, A., Lippi, G., 2015. Cylindruria. *Clin. Chem. Lab. Med.* aop, 1-7. DOI: 10.1515/cclm-2015-0480

8. Chew, D.J., DiBartola, S.P., 2004. Interpretation of Canine and Feline Urinalysis. Clinical Handbook Series. USA, The Gloyd Group, Inc. Wilmington, Delaware.
9. Chew, D.J., DiBartola, S.P., Schenck, P.A., 2011. Canine and Feline Nephrology and Urology. 2nd (edn). St. Louis, MS: Elsevier Saunders.
10. Cook, A.K., Cowgill, L.D., 1996. Clinical and pathological features of protein-losing glomerular disease in the dog: A review of 137 cases (1985-1992). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 32(4), 313-322.
11. European Confederation of Laboratory Medicine., 2000. European urinalysis guidelines. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* 231, 1–86.
12. Fogazzi, G.B., 2010. The urinary sediment. An integrated view, 3rd (edn). Milan: Masson Elsevier.
13. Forrester, S., 2004. Diagnostic approach to hematuria in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*. 34, 849e867.
14. Grossfeld, G.D., Litwin, M.S., Wolf, J.S. Jr., Hricak, H., Schuler, C.L., Agerter, D.C., Carroll, P.R., 2001. Evaluation of asymptomatic microscopic hematuria in adults: The American Urological Association best practice policy – part I: definition, detection, prevalence and etiology. *Urology*. 57, 599–603.
15. Jerkić, M., Božić, T., 2012. Poremećaj funkcije bubrega. U: Božić, T. (Ur.), *Patološka fiziologija domaćih životinja Univerzitetski udžbenik*, 2. Izd., Beograd, Naučna KMD, str. 463-490.
16. Kardum-Skelin, I., 2004. Citologija mokraćne. U: Flegar-Meštrić, Z. (Ur.), *Kliničko-biokemijska korelacija rezultata kvalitativne analize mokraćne*, Medicinska naklada, Zagreb str. 81-106.
17. Katica, M., Ahmed, N.S. Salkić, A., Mukača, A., Bašić, A., Dervišević, E., 2019. The role of organic urine sediment analysis in the monitoring of renal disease. *J. Adv. VetBio. Sci. Tech.* 4(1), 40-50.
18. Knežević, G., Parigros, K., Križaj, B., Anić, V., Pažur, M., Jelić-Puškaric, B., Šušterčić, D., Kardum-Skelin, I., 2011. Erythrocyte morphology in urine determined by light microscopy in patients with bladder cancer. *Acta med Croatica*. 65 (Supl. 1), 121-125.
19. Kouri, T., Fogazzi, G., Gant, V., Hallander, H., Hofmann, W., Guder, W.G., 2000. European urinalysis guidelines. ECLM - European Urinalysis Group. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 231, 1-96.
20. Manoni, F., Valverde, S., Caleffi, A., Alessio, M.G., Silvestri, M.G., De Rosa, R., et al. (2008). Stability of common analytes and urine particles stored at room temperature before automated analysis. *RIMeL – IJLaM*. 4, 192–8.
21. Nakamura, K., Kasraeian, A., Iczkowski, K.A., Chang, M., Pendleton, J., Anai, S., Rosser, C.J., 2009. Utility of serial urinary cytology in the initial evaluation of the patient with microscopic hematuria. *BMC Urol*. 9, 12.
22. Ostović, K.T., 2015. Cytologic urinalysis with hematuria and glomerulonephritis. *Paediatr. Croat.* 59 (Supl 1), 66-71.
23. Oyaert, M., Delanghe, J., 2018. Progress in Automated Urinalysis. *Ann. Lab. Med.* 39,15-22.
24. Reine, N.J., Langston, C.E., 2005. Urinalysis Interpretation: How to squeeze out the maximum information from a small sample. *Clin. Tech. Small. Anim. Pract.* 20, 2-10.
25. Ringsrud, K.M., 2001. Cells in the urine sediment. *Lab Med.* 32(3), 153-5.
26. Rizzi, T.E., Valenciano, A., Bowles, M., Cowell, R., Tyler, R., DeNicola, D.B., 2017. Atlas of Canine and Feline Urinalysis, 1st (Edn.), USA: John Wiley & Sons, doi:10.1002/9781119365693.ch4
27. Roth, S., 1991. Urinary Erythrocyte Morphology and Diagnosis of Hematuria. In: Rather, P., Roth, S., Soloway, M.S. (Edn.), *Urinary Cytology*, 2nd. (Ed.), Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag, pp. 187-204.
28. Rutecky, G.J., Goldsmith, C., Schreiner, G.E., 1971. Characterization of proteins in urinary casts. *N. Engl. J. Med.* 284, 1049–52.
29. Sharma, S., Ksheersagar, P., Sharma, P., 2009. Diagnosis and treatment of bladder cancer. *Am. Fam. Physician.* 80(Suppl. 7), 717-23.
30. Sikirica, M., Bobetić-Vranić, T., Flegar-Meštrić, Z., Kardum-Skelin, I., Juretić, D., 2002. Standardized analysis of supravitaly stained urine sediment. *Biochemia Medica*. 12(3-4), 57-72.
31. Spinelli, D., Consonni, D., Garigali, G., Fogazzi, G.B., 2013. Waxy casts in the urinary sediment of patients with different types of glomerular diseases: results of a prospective study. *Clin. Chim. Acta.* 424, 47–52.
32. White, J.D., Norris, J.M., Bosward, K.L., Fleay, R., Malik, R., 2008. Persistent haematuria and proteinuria due to glomerular disease in related Abyssinian cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 10, 219e229. DOI:10.1016/j.jfms.2007.11.007