

# АЛПОРТОВ СИНДРОМ И БЕНИГНА ФАМИЛИЈАРНА ХЕМАТУРИЈА: СВЕТЛОСНОМИКРОСКОПСКА И ЕЛЕКТРОНСКОМИКРОСКОПСКА ИСПИТИВАЊА ТКИВА БУБРЕГА

Јован ДИМИТРИЈЕВИЋ<sup>1</sup>, Вера ТОДОРОВИЋ<sup>1</sup>, Анастасија АЛЕКСИЋ<sup>2</sup>,  
Дијана ЈОВАНОВИЋ<sup>3</sup>, Дијана ПИЛЧЕВИЋ<sup>4</sup>, Сања ВИГЊЕВИЋ<sup>1</sup>, Сава МИЋИЋ<sup>3</sup>,  
Драган ЈОВАНОВИЋ<sup>5</sup>, Дејан ПИЛЧЕВИЋ<sup>5</sup>, Зоран КОВАЧЕВИЋ<sup>5</sup>, Рајко ХРВАЧЕВИЋ<sup>5</sup>,  
Ђоко МАКСИЋ<sup>5</sup>, Горан БРАЈУШКОВИЋ<sup>6</sup>, Војин САВИЋ<sup>7</sup>, Радован БОГДАНОВИЋ<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Институт за медицинска истраживања, Београд; <sup>2</sup>*Asklepios Harzklinden, Goslar*, Немачка;

<sup>3</sup>Клиника за урологију и нефрологију, Клинички центар Србије, Београд;

<sup>4</sup>Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд;

<sup>5</sup>Клиника за нефрологију, Војномедицинска академија, Београд;

<sup>6</sup>Биолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд;

<sup>7</sup>Институт за нефрологију и хемодијализу, Клинички центар Ниш, Ниш;

<sup>8</sup>Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић”, Београд

## КРАТАК САДРЖАЈ

**Увод** Алпортов синдром (АС) и бенигна фамилијарна хематурија (БФХ) клинички се најчешће испољавају хематуријом са протеинуријом или без ње, уз многе клиничке симптоме повезане с фамилијарним поремећајима. Постоје јасне клиничке и морфолошке разлике између АС и БФХ, нарочито у каснијим фазама болести. Патолошко-морфолошке промене које доминирају у обе болести су истањене гломеруларне мембране и њихова изувијаност, а посебно су значајне лезије њеног средњег слоја (*lamina densa*). Постоје морфолошки и хистолошки елементи за препознавање АС и бенигне рекурентне хематурије помоћу светлосног микроскопа, али је за постављање коначне дијагнозе неопходна примена електронске микроскопије.

**Циљ рада** Циљ рада је био да се применом светлосне микроскопије испитају патохистолошке промене код болесника с херидитарним нефропатијама код којих је дијагноза потврђена електронскомикроскопском анализом, те да се на тај начин процени дијагностички значај светлосне микроскопије у АС и БФХ, имајући у виду то да електронскомикроскопска дијагностика није увек доступна.

**Метод рада** Анализирано је 48 биопсијских узорака ткива бубрега болесника с херидитарним нефропатијама применом светлосне и електронске микроскопије. Ткиво је фиксирано у пуферизованом параформалдехиду, укалупљено у парафин и бојено хематоксилин-еозиним, Мејсоновим трихромом (*Masson's trichrome*), PAS (*periodic acid-Schiff*) и силверметенамином. Ткиво за трансмисиону електронску микроскопију фиксирано је у четворопостотном пуферизованом глутар-алдехиду и постфиксирано у једнопостотном осмијум-тетраоксиду. После дехидратације укалупљено је у епону.

**Резултати** Светлосномикроскопски налаз испитаника са АС показао је истањене гломеруларне базалне мембране, сегментна истањења паријеталног листа Боуманове (*Bowman*) чауре, пенасте интерстицијалне ћелије (енгл. *foam cells*), феталне гломеруле, тубуларне ектазије, атрофију тубула и интерстицијалну фиброзу. Налази биопсије ткива бубрега испитаника са БФХ открили су уобичајени морфолошки изглед на светлосној микроскопији, без упадљивих патолошких лезија. Гломерули су имали наглашен мезангијални матрикс, а у већини узорака уочени су и еритроцити у субкапсуларном простору. Ултраструктурна анализа свих биопсија је потврдила дијагнозу херидитарне нефропатије.

**Закључак** Ово истраживање је указало на то да код болесника са АС и БФХ налаз добијен применом светлосне микроскопије може да буде веома користан на путу од препознавања херидитарне нефропатије до постављања коначне дијагнозе, која припада ултраструктурном налазу.

**Кључне речи:** херидитарна нефропатија; биопсија; електронска микроскопија; патологија

## УВОД

Херидитарне нефропатије Алпортов синдром (АС) и бенигна фамилијарна хематурија (БФХ), која се често назива и болест танких базалних мембрана, клинички се најчешће испољавају хематуријом са протеинуријом или без ње, уз многе клиничке симптоме повезане с фамилијарним поремећајима. Код АС се, у неколико генерација, уз прогресивни хематуријски нефритис, јавља и неурално оштећење слуха. Пратеће лезије су оштећења чула вида, церебралне дисфункције, полинеуропатије, ихтиоза, тромбозитопе-

није, поремећај функције тироидне и паратироидне жлезде и друго. АС и БФХ се морфолошки препознају по изувијаности и истањењу гломеруларне базалне мембране (ГБМ). Ипак, постоје јасне клиничке и морфолошке разлике између АС и БФХ, нарочито у каснијим фазама болести. Патолошко-морфолошке промене које доминирају у обе болести су истањене ГБМ. Код БФХ доминантна лезија је истањена ГБМ с очуваном структуром, док код АС структура ГБМ показује бројне патолошке промене. Поред истањења, упадљива је њена изувијаност, а посебно су значајне лезије средњег слоја (*lamina densa*), како је и описа-

но у многим радовима о херидитарним нефропатијама [1-9]. Сличне лезије у гломерулима јављају се код тзв. *nail-patella* синдрома, гломерулопатије типа III колагена и Пирсоновог (*Pierson*) синдрома. Ове лезије могу се препознати само електронскомикроскопском анализом ткива бубрега [10, 11]. АС, или херидитарни нефритис, клинички се испољава као прогресивна фамилијарна болест уз оштећење слуха и има малигнији ток од БФХ, која има знатно бољу прогнозу. Постоје морфолошки и хистолошки елементи за препознавање ових болести на светлосној микроскопији (СМ), али је за постављање коначне дијагнозе неопходна примена електронске микроскопије (ЕМ). Ово је посебно значајно јер се само применом ове технике може објаснити порекло неразјашњене хематурије код деце [12-15].

### ЦИЉ РАДА

Циљ рада је био да се применом светлосне микроскопије испитају патохистолошке промене код болесника с херидитарним нефропатијама (АС, БФХ) код којих је дијагноза потврђена електронскомикроскопском анализом, те да се на тај начин процени дијагностички значај светлосне микроскопије у АС и БФХ, имајући у виду да ЕМ дијагностика није увек доступна.

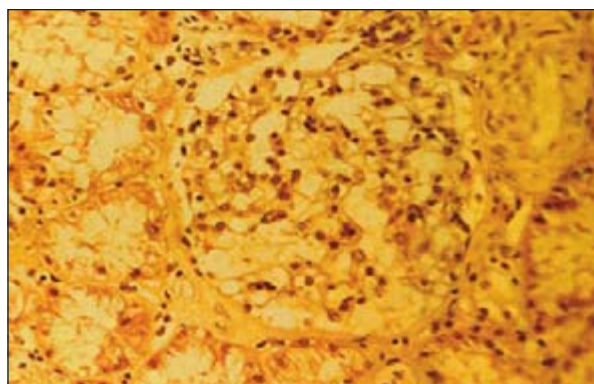
### МЕТОД РАДА

Анализирано је 48 биопсијских узорак ткива бубрега болесника с херидитарним нефропатијама. Ткиво је фиксирано у пуферизованом параформалдехиду, укалупљено у парафин и бојено методима: хематоксилин-еозин (HE), *Masson's trichrome*, PAS (*periodic acid-Schiff*) и *Jones' methenamine silver*. Ткиво за трансмисиону електронску микроскопију фиксирано је у четворопроцентном пуферизованом глутар-алдехиду и постфиксирано у једнопроцентном осмијум-тетраоксиду. После дехидратације укалупљено је у епону. Полутанки ткивни пресеци бојени су методом толуидин-плавим, а ултратанки пресеци уранил-ацетатом.

### РЕЗУЛТАТИ

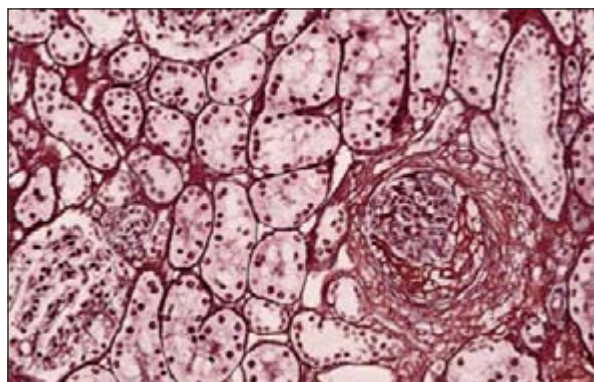
Хистопатолошки налаз светлосне микроскопије у 30 анализираних биопсијских узорак бубрега са АС имао је сличан морфолошки изглед. Доминантан налаз на гломерулима била је слабо до умерено изражена мезангијална ћелијска пролиферација, док су друге ненормалности биле мање изражене, као сегментна пролиферација мезангијалних и ендотелних ћелија. ГБМ су биле истањене, код појединих гломерула слабо видљиве, паучинастог изгледа, а број гломеруларних ћелија био је смањен (Слика 1). Ретки су би-

ли појединачни гломерули са глобалном склерозом, као и сегментне епителне формације у виду полумеца (енгл. *crescent*), док су гломеруларно-капсуларне синехије и адхезије чешће виђене (Слика 2). Утврђена су и сегментна истањења паријеталног листа Боуманове (*Bowman*) чауре. Фетални гломерули су уочени у 18 анализираних биопсијских узорак (Слика 3). Честе су биле фокална атрофија тубула и интерстицијална фиброза с очуваним околним морфолошким изгледом (Слике 4 и 5). Фокална дилатација тубула и



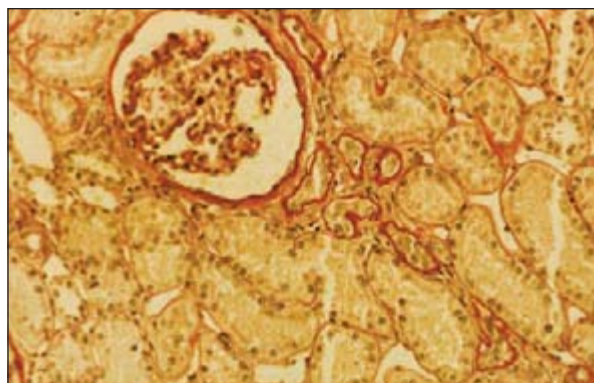
**СЛИКА 1.** Гломерул са танким гломеруларним базалним мембранама, оскудним мезангијалним матриксом и нормалном целоуларношћу (HE,  $\times 350$ ).

**FIGURE 1.** Abnormally thin and delicate glomerular basement membranes associated with scanty mesangial matrix and normal cellularity of the glomerulus (HE,  $\times 350$ ).



**СЛИКА 2.** Гломерул нормалне хистолошке грађе (лево); гломерул захваћен склерозом (десно) (*Jones' methenamine silver*,  $\times 250$ ).

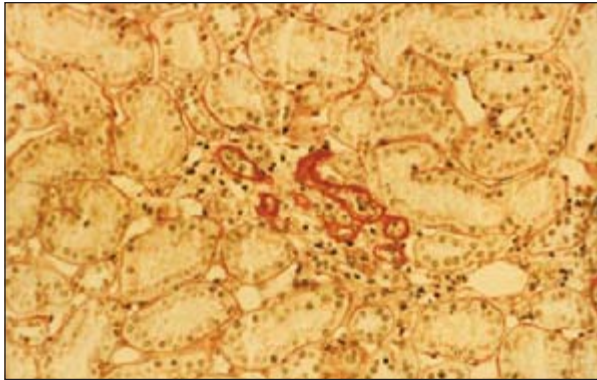
**FIGURE 2.** Normal glomerulus (left); complete glomerular sclerosis (right) (*Jones' methenamine silver*,  $\times 250$ ).



**СЛИКА 3.** Фетални гломерул (PAS,  $\times 250$ ).

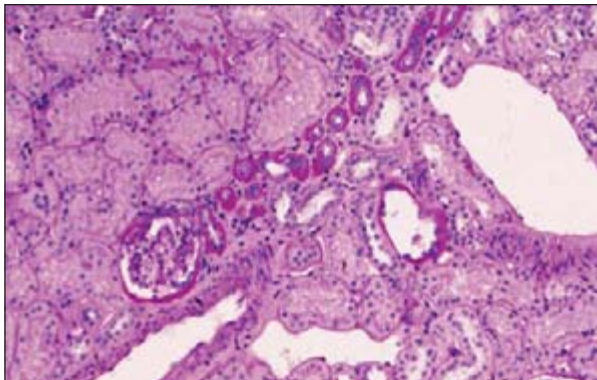
**FIGURE 3.** Foetal glomerulus (PAS,  $\times 250$ ).

тубуларне ектазије су такође уочене у анализираном ткиву (Слика 6). Пенасте интерстицијалне ћелије (енгл. *foam cells*) су забележене у 20 биопсијских узорака (Слика 7). Биопсије рађене код испитаника са БФХ на светлосној микроскопији имале су најчешће уобичајени морфолошки изглед, без упадљивих патолошких лезија. Гломерули су имали наглашен мезангијални матрикс, а у већини биопсија уочени су еритроцити у субкапсуларном простору, ређе у лумену тубула, у фазама распадања као хемоглобинуријски пигмент.



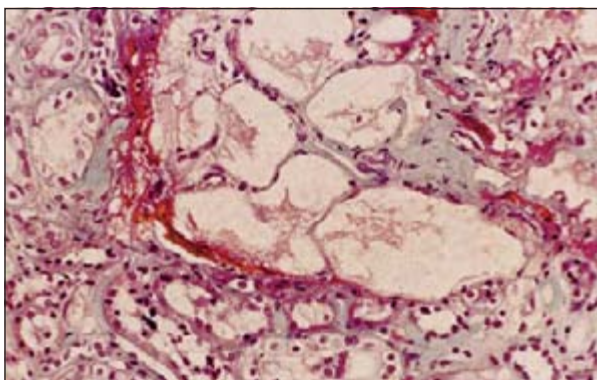
**СЛИКА 4.** Минимално изражена фокална атрофија тубула са интерстицијалном фиброзом (PAS, x250).

**FIGURE 4.** Focal areas of minimal interstitial fibrosis and tubular atrophy (PAS, x250).



**СЛИКА 5.** Атрофија основних структура нефрона: гломерула и тубуларног система (HE, x150).

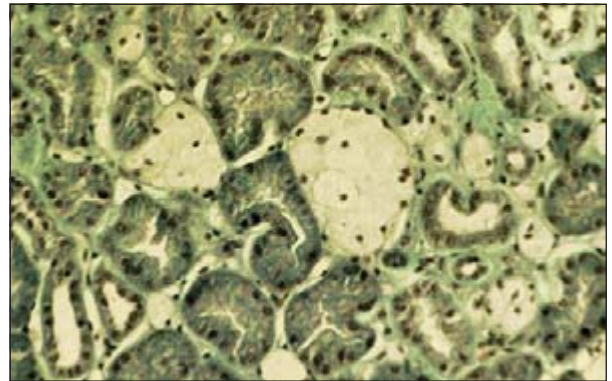
**FIGURE 5.** An unusual atrophy of nephrons, glomeruli and tubuli (HE, x150).



**СЛИКА 6.** Фокална дилатација тубула истањених базалних мембрана с атрофичним епителним ћелијама – тубуларна ектазија (PAS, x250).

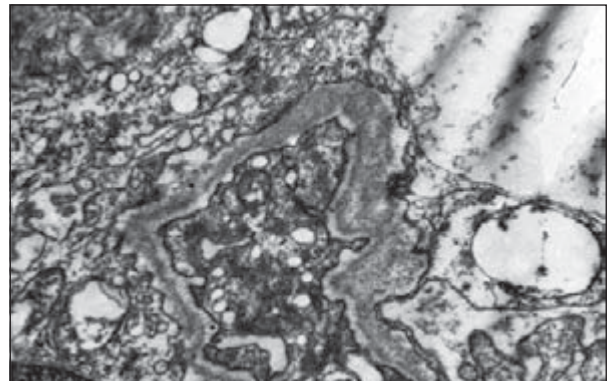
**FIGURE 6.** The tubules are dilated with patchy marked attenuation of the epithelial cells – tubular ectasia (PAS, x250).

Имунофлуоресцентна анализа (ИФ) је урађена код 32 болесника, где је постојало одговарајуће ткиво за ову анализу. Од 20 биопсија ткива испитаника са АС, у 12 су откривени слабо изражени грануларни депозити С3 у мезангијуму гломерула, а у 10 узорака били су удружени са IgA депозитима исте локализације. У три биопсије уочени су IgG депозити на капиларима гломерула. IgM депозити истог интензитета



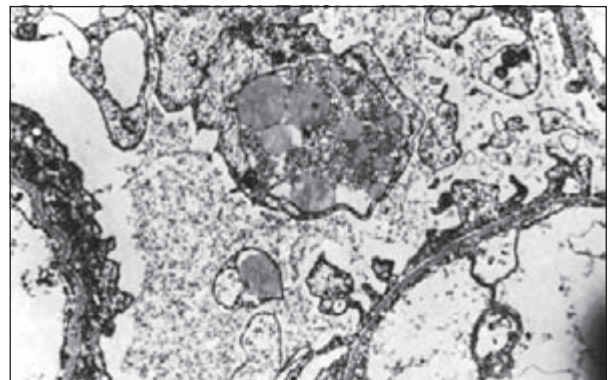
**СЛИКА 7.** Интерстицијалне пенасте ћелије (Masson's trichrome, x300).

**FIGURE 7.** The clusters of interstitial foam cells (Masson's Trichrome, x300).



**СЛИКА 8.** Алпортов синдром: неједнако истањена и изувијана ГБМ са прекидима средишњег слоја (*lamina densa*), попут мрежице кош (EM, x1600).

**FIGURE 8.** Alport's nephropathy: focal splitting and fragmentation of the glomerular basement membrane, basket weaving (EM, x1600).



**СЛИКА 9.** Бенигна рекурентна хематурија: истањене базалне мембране гломерула са местимичним губитком цитоплазматских наставка епителних ћелија (EM, x8000).

**FIGURE 9.** Benign recurrent haematuria: the glomerular capillary shows widespread thinning of the glomerular basement membrane with focal effacement of foot processes (EM, x8000).

утврђени су у мезангијуму у седам биопсијских узорака. ИФ анализа је урађена и код 12 испитаника са БФХ, и само у три биопсије је откривена слабо изражена флуоресценција.

Електронска микроскопија (ЕМ) је примењена код 48 испитаника (30 са АС и 18 са БФХ), где су најочљивије лезије забележене на ГБМ. Најчешће дифузно, ређе фокално, изражена истањена и изувијана ГБМ била је доминантан налаз у свим биопсијама ткива бубрега болесника са АС. Уочена истањења су била различите дужине, испрекидана задебљањима, тако да је ГБМ са овако неправилним контурама имала дебљину 80-120 nm. У појединим деловима уочене су перфорације ГБМ које су личиле на мрежицу коша (Слика 8). Најчешће је измењен средњи слој (*lamina densa*), са прекидима, без јасног континуитета, са светлим зонама или грануларним електронско густим зонама налик на делове мембране, пречника 20-60 nm. У неким

деловима ГБМ њен средњи слој је и удвостручен. На местима руптуре ГБМ налазиле су се ендотелне и епителне ћелије које учествују у њеној репарацији. Поред тога, у тим деловима уочен је и губитак цитоплазматских наставака епителних ћелија (енгл. *foot processes*). Често су забележени увећање мезангијалног матрикса и пролиферација мезангијалних ћелија. Ендотелне ћелије су биле најмање патолошки измењене. У ЕМ налазу испитаника са БФХ такође су доминирале промене на ГБМ, али си биле далеко мање изражене него у узорцима ткива испитаника са АС. У свим биопсијским узорцима ГБМ је била неједнако истањена, а дужи сегменти истањења су се настављали краћим деловима задебљања или нормалног изгледа. Углавном су били заступљени и очувани сви слојеви ГБМ (спољашњи, средњи и унутрашњи). Задебљања ГБМ су била најчешћа у перимезангијалној локализацији, док су у другим деловима капиларног зида ГБМ би-

**ТАБЕЛА 1.** Морфолошке промене ткива бубрега болесника с Алпортовим синдромом.  
**TABLE 1.** Morphological changes in the renal tissue in patients with Alport's syndrome.

Метод Method	N	Морфолошке промене Morphological changes	Број биопсија Number of biopsies
Светлосна микроскопија Light microscopy	30	Мезангијална пролиферација ћелија Mesangial cell proliferation	30 (100%)
		Гломеруларно-капсуларне синехије и адхезије Glomerular capsular adhesions and sinechiae	20 (66.67%)
		Фетални гломерули Foetal-like glomeruli	18 (60%)
		Фокална атрофија тубула и интерстицијална фиброза Focal tubular atrophy and interstitial fibrosis	22 (73.34%)
		Фокална дилатација тубула Focal tubular dilatation	12 (40%)
Имунофлуоресцентна микроскопија Immunofluorescence	20	Пенасте интерстицијалне ћелије Interstitial foam cells	20 (66.67%)
		Депозити C3 у мезангијуму гломерула Mesangial C3 deposits	12 (60%)
		Депозити IgA у мезангијуму гломерула Mesangial IgA deposits	10 (50%)
		Депозити IgM у мезангијуму гломерула Mesangial IgM deposits	7 (35%)
Електронска микроскопија Electron microscopy	30	Депозити IgG у зиду капилара гломерула IgG deposits along the glomerular capillary wall	3 (15%)
		Неправилно сегментно задебљање и истањење ГБМ са раслојавањем ламине дензе (структура попут мрежице за кош) Irregular and segmental thickening of the GBM with splitting of the lamina densa (basket weave pattern)	30 (100%)

N – укупан број анализираних биопсија; ГБМ – гломеруларна базална мембрана  
N – the number of analysed biopsies; GBM – glomerular basement membrane

**ТАБЕЛА 2.** Морфолошке промене у ткиву бубрега болесника са бенигом фамилијарном хематуријом.  
**TABLE 2.** Morphological changes in the renal tissue in patients with benign familial haematuria.

Метод Method	N	Морфолошке промене Morphological changes	Број биопсија Number of biopsies
Светлосна-микроскопија Light microscopy	18	Наглашен мезангијални матрикс Increased mesangial matrix	5 (27.78%)
Имунофлуоресцентна микроскопија Immunofluorescence	12	Налаз је био негативан и неспецифичан за све имуноглобулине и комплемент The finding was negative for immunoglobulins and complement fractions or showed nonspecific fluorescent signals	-
Електронска микроскопија Electron microscopy	18	Неједнако истањење ГБМ с очуваном ламином дензом Irregular diffuse thinning of the GBM, while structure of lamina densa remains unchanged	18 (100%)

N – укупан број анализираних биопсија; ГБМ – гломеруларна базална мембрана  
N – the number of analysed biopsies; GBM – glomerular basement membrane

ле изувијане и истањене (Слика 9). Само у три биопсијска узорка уочени су мањи фокуси њене руптуре. Појединачни еритроцити у субкапсуларном простору забележени су у већини узорака ткива. Епителне ћелије, како паријеталног, тако и висцералног листа, биле су нормалне величине, док су ретке биле оне са смањеним волуменом, уз смањење цитоплазме, и мањим бројем органела. Фокално слабо изражено увећање мезангијалног матрикса уочено је у четири анализирана биопсијска узорка. Интерстицијум и тубули су били уобичајеног изгледа, а у лумену мањег броја тубула налазили су се остаци распаднутих еритроцита. Значајне патолошко-морфолошке промене откривене на СМ, ИФ и ЕМ у узорцима ткива испитаника са АС приказане су у табели 1, док је у табели 2 дат приказ ових промена код болесника са БФХ.

## ДИСКУСИЈА

Алпортов синдром (АС) и бенигна фамилијарна хематурија (БФХ) су наследне болести бубрега које се јављају у дечјем добу, а праћене су симптомима који су заступљени и у другим болестима бубрега [10, 13]. За постављање дијагнозе ових херeditарних нефропатија неопходно је учинити биопсију ткива бубрега, где посебну вредност има ултраструктурни налаз. Код испитаника нашег истраживања, узраста до 23 године, први клинички симптом била је микроскопска хематурија са протеинуријом или без ње, најчешће откривена током рутинске анализе мокраће болесника [6, 16-19].

СМ налаз не открива морфолошке елементе за постављање дијагнозе херeditарне нефропатије, па је зато неопходна ЕМ анализа. Основне морфолошке и патолошке промене код болесника са АС и БФХ постоје и на ГБМ, а могу се уочити једино помоћу електронског микроскопа. Због тога је улога ултраструктурног налаза у биопсији бубрега код ових, а и других болести, задржала свој значај, за разлику од туморске патологије, где су примат преузели имунохистохемијско и молекуларнопатолошко испитивање [8, 20-23].

Клинички и патохистолошки налаз, поготово у СМ, сличан је код многих болести бубрега. Почетна фаза многих гломерулонефритиса има сличне симптоме и лезије у ткиву бубрега, нарочито ако је реч о првим стадијумима IgA нефропатије и лупус нефритиса [6, 24, 25]. Препознавање ових морфолошких лезија има велики значај у примени најбољег начина лечења терминалне инсуфицијенције бубрега трансплантацијом бубрега. Ово је важно у патохистолошкој анализи ткива бубрега и код даваоца и код примаоца органа. БФХ је херeditарно-фамилијарна болест са гломеруларном хематуријом и стањењем ГБМ, док су остале структуре правилне. АС је болест која има прогресиван ток, како клинички, тако и морфолошки. Стањење ГБМ одликује обе болести, док се оштећење средњег слоја ГБМ јавља код АС, где се

налазе изувијане ГБМ са хернијацијама, руптурама и другим променама [6, 24, 26, 27].

Нажалост, ЕМ анализу није могуће увек урадити; због тога смо пуну пажњу посветили морфолошким променама које се јављају код херeditарних нефропатија које се могу видети на СМ, а дијагноза је потврђена клиничким испитивањем и ЕМ [2].

Познато је да су фетални гломерули, пенасе ћелије интерстицијума и других структура често приказивани у литератури о херeditарним нефропатијама. Промене које су такође уочене биле су гломерули прозирних (паучинастих) базалних мембрана, слабо израженог мезангијалног матрикса и са мањим бројем гломеруларних ћелија смањеног волумена. Тубулске лезије, као што су фокалне дилатације тубула (тубуларне екстазије) или мање изоловане фокалне атрофије са фиброзом интерстицијума необичног изгледа, такође су уочене у анализираним биопсијским узорцима ткива бубрега [1, 3, 12, 28]. Сматрамо да збир свих ових промена које се могу видети применом СМ чине мозаик који, по свом изгледу, упућује на то да су ове лезије настале током развојног периода, те да су као такве доста значајне да се посумња на наследну болест која се јавља у дечјем узрасту [12]. Ове лезије се појединачно могу развити у бројним ненаследним болестима бубрега, али исто тако, ако се појављују удружено, упућују на поремећај структуре ГБМ, што је такође забележено у овом раду. Сигурно је да у овом раду има елемента који, према савременим сазнањима о херeditарним нефропатијама, представљају историју, међутим, приказани су резултати СМ који се срећу у свакодневном раду, који су доступни свим патолозима широм света и стварају могућност да се постави морфолошка сумња за постојање ових болести. Како се сваким даном отварају нове могућности за комуникацију међу патолозима, односно центрима у којима постоје бољи услови рада, постављена дијагноза може да се потврди или искључи [2, 15, 19, 27, 29].

Примарно оштећење је на ГБМ, у њеним колагеним и неколагеним гликопротеинима базалне мембране, што објашњава порекло лезија у бубрегу и оптичкоакустичном систему. Промене на ГБМ изазване антителима серума болесника са Гудпастановим (*Goodpasture*) синдромом откривене су и на ГБМ болесника са АС [23, 26].

Раније имунофлуоресцентне (ИФ) микроскопске студије указују на неспецифичан налаз са грануларним, неједнако израженим депозитима имуноглобулина и комплемента у мезангијуму, васкуларном полу и дуж капиларног зида гломерула. Слични резултати су добијени и ИФ анализом ткива бубрега испитаника нашег истраживања. У БФХ истањење ГБМ је основни патохистолошки налаз. Сличан налаз је забележен и код испитаника са АС, али само у раној фази болести, где је удружен са спорадичном и слабо израженом хематуријом и протеинуријом [21, 22, 26].

Важно је напоменути да је ГБМ, нарочито њен средњи слој, код деце тањи него код особа стари-

је животне доби. У АС оштећења ГБМ су упадљива – она је извијана, истањена, са перфорацијама. Како гломеруларна, тако и тубуларна базална мембрана има слична оштећења. Све ово доводи до поремећаја функције нефрона у филтрацији и реасорпцији воде и молекула [16-18].

У херидитарним нефропатијама (АС и БФХ) и у полицистичним бубрезима морфолошка оштећења базалних мембрана у нефрону су удружена с поремећајима протеина појединих типова колагена, ламинина, фибронектина и др. Најновија истраживања указују на велики значај сагледавања колагена типа IV у постављању морфолошке дијагнозе херидитарних нефропатија, а радови објављени последњих година показују да је перзистентна фамилијарна хематурија често удружена с мутацијама на гену који кодира колаген тип IV [25, 30-33].

### ЗАКЉУЧАК

Листа херидитарних нефропатија са оштећењима ГБМ са досад објављеним резултатима истраживања није завршена. Ова студија указује на то да код болесника са АС и БФХ налаз добијен применом светлосне микроскопије може да буде веома користан на путу од препознавања херидитарне нефропатије до коначне дијагнозе, која припада ултраструктурном налазу.

### НАПОМЕНА

Резултати патохистолошких анализа су део докторских дисертација проф. др Зорана Ковачевића, проф. др Ђоке Максића и проф. др Рајка Хрвачевића.

### ЛИТЕРАТУРА

- Churg J, Sherman RL. Pathologic characteristics of hereditary nephritis. *Arch Pathol* 1973; 95:374-9.
- Dishe FE, Weston MJ, Parsons V. Abnormally thin glomerular basement membrane associated with hematuria, proteinuria or renal failure in adults. *Am J Nephrol* 1985; 5:103-9.
- Savage J. Hereditary abnormalities of renal basement membrane. *Pathology* 1991; 23:350-5.
- Bubalo FS, Davidson DD. Recent developments in hereditary nephritis (Alport's syndrome). *Indiana Med* 1991; 84:860-6.
- Bailey RR. Familial haematuria due to thin basement membrane nephropathy. *N Z Med J* 1990; 103:312-3.
- Hrvačević R, Dimitrijević J, Spasić P, et al. Histopatološke promene u bubrežima kod bolesnika sa asimptomatskim patološkim nalazom u urinu. *Vojnosanit Pregl* 1999; 55(5):477-82.
- Alport AS. Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. *Br Med J* 1927; 1:504.
- Kovačević Z, Jovanović D, Rabrenović V, Dimitrijević J, Djukanović LJ. Asymptomatic microscopic haematuria in young males. *Int J*

- Clin Pract* 2008; 62(3):406-12.
- Kasthan CE. Familial hematuria due to type IV collagen mutations: Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy. *Curr Opin Pediatr* 2004; 16:117-81.
- Emancipator NS. Benign essential hematuria, IgA nephropathy and Alport syndrome. In: Silva GF, D'Agati DV, Nadasdy T, editors. *Renal Biopsy Interpretation*. New York: Churchill Livingstone; 1996. p.147-179.
- Yoshikawa N, Cameron AH, White RH. The glomerular basal lamina in hereditary nephritis. *J Pathol* 1981; 135(3):199-209.
- Rumpell HJ, Steinke A, Thoenes W. Alport-type glomerulopathy: evidence for diminished capillary loop size. *Clin Nephrol* 1992; 37(2):57-64.
- Gubler M, Levy M, Broeyer M, et al. Alport's syndrome. A report of 58 cases and review of the literature. *Am J Med* 1981; 70(3):493-505.
- Tina L, Jenis E, Jose P, Medani C, Papadopoulou Z, Calcagno P. The glomerular basement membrane in benign recurrent hematuria. *Clin Nephrol* 1982; 17(1):1-4.
- Kasthan CE. The nongenetic diagnosis of thin basement membrane nephropathy. *Semin Nephrol* 2005; 25(3):159-62.
- Foster K, Markowitz GS, D'Agati VD. Pathology of thin basement membrane nephropathy. *Semin Nephrol* 2005; 25(3):149-58.
- Tryggvason K, Patrakk J. Thin basement membrane nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(3):813-22.
- Herrera G. Ultrastructural expectations in renal pathology. 21st European Congress of Pathology Proceedings. Update in Pathology, Istanbul, Turkey; 2007 p.60-1.
- Dimitrijević J, Brajušković G, Spasić P, Djuričić S, Bogdanović R, Radosavljević R. Pathologic characteristics of the kidney in hereditary nephropathy. *Materia Medica* 2006; 22(Suppl 1):37-9.
- Kasthan CE. Alport syndrome and thin basement membrane disease. *Curr Diag Pathol* 2002; 8:349-60.
- Kleppel MM, Fan WW, Cheong HI, Kasthan CE, Michael AF. Immunochemical studies of the Alport antigen. *Kidney Int* 1992; 41(6):1629-37.
- Weber M, Netzer KO, Pullig O. Molecular aspects of the Alport's syndrome. *Clin Invest* 1992; 70(9):809-15.
- Reeders ST. Molecular genetics of hereditary nephritis. *Kidney Int* 1992; 42(3):783-92.
- Maksić Dj, Marić M, Dimitrijević J, et al. Treatment of IgA nephropathy with nephrotic syndrome using pulse doses of IGG. *Vojnosanit Pregl* 1998; 55(2):79-84.
- Dimitrijević J, Maksić Dj, Spasić P, et al. Patohistološke promene intersticijuma u IgA nefropatiji. *Srp Arh Celok Lek* 1996; (Suppl 1):29-32.
- Gligić B, Milenković Lj, Mičić R, et al. Goodpasture-ov sindrom (plućna hemosideroza sa nefritisom). *Srp Arh Celok Lek* 1981; 109:223-41.
- Dimitrijević J, Spasić P, Radošević N, et al. Pathology of the kidney in Alport's syndrome and benign recurrent haematuria. *Zbornik radova VI kongres patologa Jugoslavije*; 1994. p.141-3.
- Franco M, Schmitt F, Rejaili WA, Viero RM, Bacchi CE. Renal interstitial foam cell are macrophages. *Histopathology* 1992; 20(2):173-6.
- Dimitrijević J, Spasić P, Marić M, et al. Značaj biopsije bubrega u dijagnostici glomerulopatija. *Medicinski časopis* 1995; 34(1):24-42.
- Zonvani J, Pierides A, Joannon K, Aristodemou S, Kyriakon K. The contribution of electron microscopy in the diagnosis of hereditary renal disease of type IV collagen; Alport's syndrome and thin basement membrane nephropathy. 21st European Congress of Pathology. Proceedings Update in Pathology, Istanbul, Turkey; 2007. p.62-6.
- Kasthan CE. Alport's syndrome and the X chromosome: implication of diagnosis of Alport's syndrome in females. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:1499-505.
- Šlajpah M, Gorinšek G, Berginc G, et al. Sixteen novel mutations identified in COL4A3, COL4A4 and COL4A5 genes in Slovenian families with Alport syndrome and benign familial hematuria. *Kidney Int* 2007; 71(12):1287-95.
- Markowitz GS, Ojebber C, D'Agati VD. An 18-year-old male with hematuria, renal insufficiency, and defective synthesis of type IV collagen. *Kidney Int* 2006; 69:2278-82.

## ALPORT'S SYNDROME AND BENIGN FAMILIAL HAEMATURIA: LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES OF THE KIDNEY

Jovan DIMITRIJEVIĆ<sup>1</sup>, Vera TODORVIĆ<sup>1</sup>, Anastasija ALEKSIĆ<sup>2</sup>, Dijana JOVANOVIĆ<sup>3</sup>, Dijana PILČEVIĆ<sup>4</sup>, Sanja VIGNJEVIĆ<sup>1</sup>, Sava MIČIĆ<sup>3</sup>, Dragan JOVANOVIĆ<sup>5</sup>, Dejan PILČEVIĆ<sup>5</sup>, Zoran KOVAČEVIĆ<sup>5</sup>, Rajko HRVAČEVIĆ<sup>5</sup>, Djoko MAKSIĆ<sup>5</sup>, Goran BRAJUŠKOVIĆ<sup>6</sup>, Vojin SAVIĆ<sup>7</sup>, Radovan BOGDANOVIĆ<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Institute for Medical Research, Belgrade; <sup>2</sup>Asklepios Clinic, Goslar, Germany;

<sup>3</sup>Clinic of Urology and Nephrology, Clinical Centre of Serbia, Belgrade;

<sup>4</sup>Institute for Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade; <sup>5</sup>Nephrology Clinic, Military Medical Academy, Belgrade;

<sup>6</sup>The Faculty of Biology, University of Belgrade, Belgrade; <sup>7</sup>Institute of Nephrology and Haemodialysis, Clinical Centre, Niš;

<sup>8</sup>Mother and Child Health Care Institute of Serbia "Dr Vukan Čupić", Belgrade

**INTRODUCTION** Hereditary nephropathy is clinically characterized by the familial occurrence in successive generations of progressive haematuric nephritis and neural hearing loss. Hereditary nephropathy of Alport's syndrome (AS) and benign familial (recurrent) haematuria (BFH) are morphologically characterized by specific and diagnostically important thickening and splitting of lamina densa of the glomerular basement membranes. Those lesions can be recognized only by electron microscopy. Hereditary nephritis is usually present clinically with haematuria, and new mutations without a family history of haematuria. It is therefore important to differentiate hereditary nephritis from BFH and no familial haematuria. Thus, electron microscopy is essential in diagnosis of haematuria.

**OBJECTIVE** The aim of this study was to describe, by light microscopy, constellation of renal alterations by which hereditary nephropathy can be recognized with high probability as well as to compare the diagnostic validity of the findings observed by light and electron microscopy in AS and BFH.

**METHOD** We examined 48 renal biopsies of the patients with hereditary nephropathies by light and electron microscopy. Tissue samples were fixed in buffered paraformaldehyde and embedded in paraffin for long-term preservation. For the electron microscopy analysis, the following fixation in 4% glutaraldehyde tissue was postfixed in 1% osmium tetroxide.

Thereafter, the following dehydration procedure tissue slices were embedded in epon.

**RESULTS** Our results demonstrated that the interstitial foam cells, foetal-like glomeruli, minimal glomerular abnormalities with stain less intense in basement membranes, mild irregular mesangial widening, focal thickening of Bowman's capsule, foci of dilatation tubules, tubular ectasia and atrophy, erythrocyte tubules casts were present in hereditary nephritis. Additionally, light microscopic biopsy findings in patients with BFH were either normal or revealed minor changes (e.g. increased mesangial matrix). All biopsies were reevaluated by electron microscopy and ultrastructural findings confirmed the diagnosis of hereditary nephropathies.

**CONCLUSION** The findings observed by light microscopy represent an important step that leads to a definitive diagnosis of AS and BFH. The definitive diagnosis, however, depends on electron microscopy.

**Key words:** hereditary nephropathy; biopsy; electron microscopy; pathology

Jovan DIMITRIJEVIĆ  
Institut za medicinska istraživanja  
Dr Subotića 4, 11000 Beograd  
E-mail: dimitrijevicibgd@eunet.rs