

# Kombinacija glomerularnih, vaskularnih i tubularnih biljega u ranom otkrivanju bubrežnoga oštećenja u djece sa šećernom bolesti tipa 1

---

Trutin, Ivana

Doctoral thesis / Disertacija

2021

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:234035>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-21**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ivana Trutin**

**Kombinacija glomerularnih,  
vaskularnih i tubularnih biljega u  
ranom otkrivanju bubrežnoga  
oštećenja u djece sa šećernom bolesti  
tipa 1**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2021.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Ivana Trutin**

**Kombinacija glomerularnih,  
vaskularnih i tubularnih biljega u  
ranom otkrivanju bubrežnoga  
oštećenja u djece sa šećernom bolesti  
tipa 1**

**DISERTACIJA**

Zagreb, 2021.

Disertacija je izrađena na Klinici za pedijatriju Kliničkoga bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu

Voditelji rada:

Doc. dr. sc. Mario Laganović, dr. med.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Izv. prof. dr. sc. Gordana Stipančić, dr. med.

Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu

## ZAHVALA

Zahvaljujem doc. dr. sc. Mariju Laganoviću i prof. dr. sc. Gordani Stipančić na pomoći, strpljenju i razumijevanju pri izradi ove disertacije.

Zahvljujem svima koji su mi na bilo koji način pomogli u izradi ove disertacije.

Disertaciju posvećujem Ivi, Luki, Kreši, mami i tati.

## Sadržaj

<b>1. UVOD I SVRHA RADA .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Šećerna bolest.....</b>	<b>1</b>
1.1.1. Definicija .....	1
1.1.2. Klasifikacija šećerne bolesti .....	3
1.1.3. Incidencija/epidemiologija .....	4
<b>1.2. Šećerna bolest tipa 1 .....</b>	<b>5</b>
1.2.1. Definicija i dijagnostički kriteriji .....	5
1.2.2. Patogeneza šećerne bolesti tipa 1 .....	7
1.2.3. Patofiziologija šećerne bolesti tipa 1 .....	8
1.2.4. Klinička slika šećerne bolesti tipa 1 .....	9
1.2.5. Liječenje šećerne bolesti tipa 1.....	10
1.2.6. Kronične komplikacije šećerne bolesti tipa 1.....	11
<b>1.3. Dijabetička bubrežna bolest .....</b>	<b>14</b>
1.3.1. Patohistološke promjene u bubregu u sklopu dijabetičke bubrežne bolesti ...	15
1.3.2. Metode dijagnosticiranja rane dijabetičke bubrežne bolesti.....	17
1.3.2.1. <i>Albuminurija</i> .....	17
1.3.2.2. <i>Serumski kreatinin i glomerularna filtracija</i> .....	18
1.3.2.3. <i>Cistatin C</i> .....	19
1.3.2.4. <i>Urinarni KIM-1</i> .....	21
1.3.2.5. <i>Doplerski renalni indeks otpora</i> .....	23
1.3.3. Liječenje dijabetičke bubrežne bolesti .....	24
<b>1.4. Svrha rada.....</b>	<b>25</b>
<b>2. HIPOTEZA .....</b>	<b>27</b>
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>28</b>
<b>3.1. Opći cilj.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2. Specifični ciljevi .....</b>	<b>28</b>
<b>4. ISPITANICI I METODE.....</b>	<b>29</b>
<b>4.1. Ustroj ispitivanja .....</b>	<b>29</b>
<b>4.2. Ispitanici .....</b>	<b>29</b>
4.2.1. Vrsta uzorka.....	30
4.2.2. Potrebna veličina uzorka .....	30
<b>4.3. Postupci i metode.....</b>	<b>31</b>
4.3.1. Ishod (pokazatelji bubrežne funkcije) .....	31
4.3.2. Istraživani pretkazatelji.....	34
4.3.2.1. <i>Cistatin C</i> .....	34
4.3.2.2. <i>Doplerski renalni indeks otpora</i> .....	34
4.3.2.3. <i>KIM-1</i> .....	35
4.3.3. Ostale varijable .....	36
<b>4.4. Statistička analiza.....</b>	<b>37</b>

<b>5. REZULTATI.....</b>	<b>38</b>
<b>5.1. Opis uzorka .....</b>	<b>38</b>
5.1.1. Sociodemografske i vitalne karakteristike.....	38
5.1.2. Kliničke karakteristike ispitanika sa šećernom bolesti tipa 1 .....	40
5.1.3. Krvni tlak i lipidni i drugi biokemijski pokazatelji .....	42
5.1.3.1. <i>Povezanost albumina u urinu sa sociodemografskim i kliničkim parametrima u skupini sa šećernom bolesti tipa 1</i> .....	43
<b>5.2. Kompozitni pokazatelji bubrežne funkcije .....</b>	<b>44</b>
5.2.1. Prvi surogat-ishod.....	44
5.2.2. Drugi surogat-ishod .....	46
<b>5.3. Istraživani pretkazatelji.....</b>	<b>47</b>
<b>5.4. Povezanost pojedinih istraživanih pretkazatelja s pokazateljima bubrežne funkcije .....</b>	<b>48</b>
5.4.1. Ishod: Albumin u urinu .....	48
5.4.2. Ishod: Kreatinin u serumu .....	50
5.4.3. Ishod: Glomerularna filtracija .....	52
<b>5.5. Povezanost svih istraživanih pretkazatelja sa surogat-pokazateljima rizika od bubrežne bolesti.....</b>	<b>54</b>
5.5.1. Prvi surogat-ishod, pokazatelj rizika od DBB-a.....	54
5.5.2. Drugi surogat-ishod, završni pokazatelj rizika od DBB-a.....	54
<b>5.6. Završni, eksplorativni, multivarijabilni pretkazateljski model rizika od bubrežne bolesti .....</b>	<b>56</b>
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>62</b>
<b>6.1. Sažetak glavnih rezultata.....</b>	<b>62</b>
<b>6.2. Usporedba s dosadašnjim ispitivanjima .....</b>	<b>65</b>
6.2.1. Vrijednosti istraživanih pretkazatelja u oboljelih od šećerne bolesti tipa 1 i zdravih .....	65
6.2.2. Povezanost istraživanih pretkazatelja s indikatorima bubrežnoga oštećenja .	69
6.2.3. Rizični čimbenici za povišeni albumin u urinu .....	70
6.2.4. Multivarijabilna povezanost istraživanih pretkazatelja s pokazateljima bubrežnoga oštećenja.....	73
<b>6.3. Ograničenja istraživanja.....</b>	<b>76</b>
<b>7. ZAKLJUČCI.....</b>	<b>79</b>
<b>8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU .....</b>	<b>81</b>
<b>9. KRATKI SADRŽAJ NA ENGLLESKOM JEZIKU.....</b>	<b>83</b>
<b>10. POPIS LITERATURE .....</b>	<b>85</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>99</b>

## Popis kratica i oznaka

$\Delta_{75c}$	Apsolutna razlika 75. centila
ACEI	Inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (od engl. <i>Angiotensin-converting-enzyme inhibitors</i> )
ARB	Blokatori angiotenzinskih receptora (od engl. <i>Angiotensin II receptor blockers</i> )
AT	Arterijski tlak
CysC	Cistatin C
DASH	Dijetalni pristup sprečavanju hipertenzije (od engl. <i>Dietary approaches to stop hypertension</i> )
DBB	Dijabetička bubrežna bolest
DKA	Dijabetička ketoacidoza
ELISA	Enzim imunotest (od engl. <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> )
GAD	Protutijela na dekarboksilazu glutaminske kiseline (od engl. <i>Glutamic acid decarboxylase</i> )
GFR	Glomerularna filtracija
HAVCR	Stanični receptor za virus hepatitisa A (od engl. <i>Hepatitis A virus cellular receptor</i> )
HbA1c	Glikozirani hemoglobin
HDL	Lipoproteini visoke gustoće (od engl. <i>High density lipoproteins</i> )
HLA	Sustav glavnih antigena tkivne snošljivosti u ljudi (od engl. <i>Human Leukocyte Antigens</i> )
IA-2	Protutijelo na protein tirozin fosfatazu (od engl. <i>Tyrosine phosphatase-like insulinoma antigen 2</i> )
IAA	Protutijelo na endogeni inzulin (od engl. <i>Insulin autoantibodies</i> )
ICA	Cirkulirajuća protutijela na citoplazmu stanica Langerhansovih otočića (od engl. <i>Islet cell antibodies</i> )
IKR	Interkvartilni raspon
IP	Interval pouzdanosti
ISPAD	<i>International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes</i>
ITM	Indeks tjelesne mase
KBB	Kronična bubrežna bolest

KDIGO	<i>The Kidney Disease International Global Outcome</i>
KIM-1	Molekula bubrežne ozljede 1 (od engl. <i>Kidney injury molecule 1</i> )
LDL	Lipoproteini niske gustoće (od engl. <i>Low density lipoproteins</i> )
L-FABP	Jetreni protein-vezač masnih kiselina (od engl. <i>Liver fatty acid-binding protein</i> )
MA	Mikroalbuminurija
MODY 2	Autosomno-dominantna nasljedna šećerna bolest tipa 2 s početkom u mladosti (od engl. <i>Maturity onset diabetes of the young type 2</i> )
n	Broj sudionika
NAG	N-acetil-beta-glukozaminidaza (od engl. <i>N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase</i> )
NGAL	Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (od engl. <i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i> )
OR	Omjer izgleda (od engl. <i>odds ratio</i> )
p	Statistička značajnost odnosno vjerojatnost pogreške tipa I ( $\alpha$ )
PETIA	Česticom pojačana turbidimetrijska analiza (od engl. <i>Particle-enhanced turbidimetric immunoassay</i> )
r	Standardizirana mjera veličine učinka izračunata za Mann-Whitney U test
$r^2$	Pseudokoefficient bivarijabilne determinacije
$R^2$	Pseudokoefficient multivarijabilne determinacije
RI	Renalni indeks otpora
RR	Omjer rizika
SD	Standardna devijacija
SLO	Stopa lažnih otkrića (od engl. <i>False rate discovery</i> )
ss	Stupnjevi slobode
ŠB	Šećerna bolest
TIM-1	T-stanični imunoglobulin i mucin protein (od engl. <i>T-cell immunoglobulin and mucin protein</i> )
U	Mann-Whitney statistik
$\bar{x}$	Aritmetička sredina
z	Standardizirana vrijednost, odstupanja rezultata od aritmetičke sredine svih rezultata izražena su terminima standardne devijacije
z	Standardizirani Mann-Whitney U statistik



ZnT8	Protutijelo na transporter Zn8 (od engl. <i>Beta-cell specific zinc transporter 8 autoantibodies</i> )
$\alpha$	Cronbachov koeficijent unutarnje konzistencije
$\beta$	Standardizirani regresijski koeficijent
$\Delta_{\text{med}}$	Apsolutna razlika medijana
$\eta^2$	Parcijalni, kvadrirani eta-koeficijent dan kao standardizirana mjera veličine učinka
$\rho$	Spearmanov koeficijent korelacije ranga
$X^2$	Hi-kvadrat

# 1. UVOD I SVRHA RADA

## 1.1. Šećerna bolest

### 1.1.1. Definicija

Šećerna bolest (ŠB) obuhvaća kompleksni metabolički poremećaj karakteriziran kroničnom hiperglikemijom zbog nedostatne sekrecije inzulina, inzulinske rezistencije ili oboje. Inzulinska neaktivnost dovodi do abnormalnosti u metabolizmu ugljikohidrata, masti i proteina (1). Etiologija ŠB-a je heterogena, ali većina slučajeva može se klasificirati u dva osnovna oblika: šećerna bolest tipa 1 (ŠB-1) i šećerna bolest tipa 2 (ŠB-2). ŠB-1 primarno je uzrokovan nedostatnim izlučivanjem inzulina iz  $\beta$ -stanica gušterače, a ŠB-2 smanjenom osjetljivošću na inzulini u jetri, mišićima i masnim stanicama, koja se ne može kompenzirati ograničenim kapacitetom gušterače (2).

ŠB-1 je dominantna forma bolesti u djece i adolescenata, ali u posljednja dva desetljeća porast incidencije pretilih djece i adolescenata doveo je i do porasta incidencije ŠB-2 (3,4). Razlikovanje pojedinih tipova bolesti važno je i u kliničkoj praksi zbog razlika koje postoje u prognozi, pridruženim stanjima te terapijskom pristupu, a razlike između ŠB-1 i ŠB-2 u djece i adolescenata navedene su u tablici 1 (5).

Tip ŠB-a koji je rezultat mutacije na jednom genu, a koja dovodi do gubitka ili disfunkcije  $\beta$ -stanica gušterače, naziva se monogenkim tipom ŠB-a i javlja se u 1% do 4% oboljelih. Nasljeđuje se dominantno ili recesivno, a ponekad se pojavljuje i

sporadično uz negativnu obiteljsku anamnezu. Bolest se klinički manifestira nakon puberteta, osim kod autosomno-dominantno nasljedne šećerne bolesti tipa 2 s početkom u mladosti – MODY 2 (od engl. *Maturity onset diabetes of the young type 2*) i šećerne bolesti u novorođenačkoj dobi, s učestalošću 1% do 6% među svom djecom oboljelom od ŠB-a (6).

**Tablica 1.** Karakteristike ŠB-1 i ŠB-2 u djece i adolescenata (preuređeno prema Rosenbloom i sur. 1999. (5))

	ŠB-1	ŠB-2
Prevalencija	Raste	Raste
Dob prezentacije bolesti	Tijekom djetinjstva	U pubertetu
Početak bolesti	Akutna, često teška klinička slika	Postupan i podmukli početak
Prisutnost ketona na početku	često	5–10%
Bolest prisutna u srodnika	5–10%	75–90%
Ženski spol : muški spol	1 : 1	2 : 1
Nasljeđivanje	Poligensko	Poligensko
HLA-DR3/4	Snažna povezanost	Bez povezanosti
Sekrecija inzulina	Smanjena/odsutna	Varijabilna
Osjetljivost inzulina	Normalna pod kontrolom	Smanjena
Ovisnost o inzulinu	Stalna	Varijabilna
Prekomjerna TM	20–25% oboljelih	> 80%
Akantozis nigrikans	12%	50–90%
Prisutnost protutijela IAA, ICA, GAD, IA-2, IA-2-beta, ZnT8	Da	Ne

Legenda: ŠB-1– šećerna bolest tipa 1, ŠB-2 – šećerna bolest tipa 2, HLA – sustav glavnih antigena tkivne snošljivosti u ljudi (od engl. *Human leukocyte antigens*), IAA – protutijelo na endogeni inzulin (od engl. *Insulin autoantibodies*), ICA – cirkulirajuća protutijela na citoplazmu stanica Langerhansovih otočića (od engl. *Islet cell antibodies*), ZnT8 – protutijelo na transporter Zn8 (od engl. *Beta-cell specific zinc transporter 8 autoantibodies*)

### 1.1.2. Klasifikacija šećerne bolesti

Najnovija podjela ŠB-a temeljena je ponajprije na etiologiji (Tablica 2) (1). Dijete, odnosno adolescent će u pravilu oboljeti od ŠB-1, koji je karakteriziran potpunim deficitom inzulina.

**Tablica 2.** Klasifikacija ŠB-a prema etiologiji (preuređeno prema Craig i sur. 2009. (1))

I. ŠB-1
Razaranje $\beta$ -stanica gušterače što dovodi do apsolutnog deficita inzulina
A. Autoimuni
B. Idiopatski
II. ŠB- 2
Može varirati od inzulinske rezistencije s relativnim inzulinskim deficitom do poremećaja sekrecije s ili bez inzulinske rezistencije
III. Drugi specifični tipovi
A. Genetski uzrokovan poremećaj funkcije $\beta$ -stanice: MODY 1-6, mitohondrijska DNA mutacija
B. Genetski uzrokovan poremećaj djelovanja inzulina: leperhaunizam, Mendenhalov sindrom, lipoatrofija
C. Bolesti egzokrine gušterače: pankreatitis, trauma, neoplazme, cistična fibroza, hemokromatoza
D. Endokrinopatije: akromegalija, Cushingov sindrom, feokromocitom, hipertireoza
E. Uzrokovana lijekovima: glukokortikoidi, diazoksid, tiroidni hormoni, tiazidi, nikotinska kiselina, $\alpha$ -interferon, dilantin
F. Infekcije: kongenitalna rubeola, citomegalovirus
G. Neuobičajene forme imunološki posredovane šećerne bolesti: zbog protutijela na inzulinski receptor, u okviru poliendokrine autoimune deficijencije
H. Drugi genetski sindromi ponekad udruženi sa šećernom bolešću: Downov, Klinefelterov, Turnerov, Wolframov, Laurence-Moon-Biedlov, Prader-Willijev sindrom, porfirija
IV. Gestacijska ŠB

Legenda: MODY – autosomno-dominantno nasljedna šećerna bolest tipa 2 s početkom u mladosti (od engl. *Maturity onset diabetes of the young type*)

### 1.1.3. Incidencija/epidemiologija

Prisutan je globalni porast incidencije ŠB-a od približno 3% godišnje, s najbržim porastom u najmlađih u Europi, a unatrag dva desetljeća bilježi se porast incidencije debljine i posljedično incidencije ŠB-2 (7–9). Do početka 2000-ih, incidencija ŠB-1 u djetinjstvu rasla je stopom 2% do 5% godišnje u Europi, na Bliskom istoku i Australiji (10). U Sjedinjenim Američkim Državama ukupna je učestalost ŠB-1 također porasla u većini dobnih i etničkih skupina, s prosječnim godišnjim porastom od približno 2% i višim stopama među Latinoamerikancima (11). Razlozi ovog trenda ostaju nepoznati. Dob prezentacije bolesti tijekom djetinjstva ima bimodalnu raspodjelu, s jednim vrhom u dobi od četiri do šest godina i drugim u ranom pubertetu, u dobi od 10 do 14 godina. U približno 45% djece klinička prezentacija bolesti počne prije desete godine (12).

Iako je većina autoimunih bolesti češća u žena, čini se da nema spolne razlike u ukupnoj učestalosti ŠB-1 u djetinjstvu (4). Međutim, u odabranim populacijama ŠB-1 se češće pojavljuje u muškoga spola. Primjerice, starije muške osobe europskoga podrijetla ( $\geq 13$  godina) imaju veću vjerojatnost da će razviti ŠB-1 od žena slične dobi i zemljopisnog položaja, s omjerom muškaraca i žena približno 3 : 2 (13).

Čini se da je porast najviše vidljiv u mlađe djece. Izvješće koje koristi podatke iz 17 europskih zemalja otkrilo je godišnji porast stope za 5,4%, 4,3% i 2,9% za dobne skupine 0–4, 5–9 i 10–14 godina tijekom 15-godišnjeg razdoblja, 1989. – 2003., te ukupno povećanje od 3,9% (14). Ako se ti trendovi nastave, očekuje se da će se broj novih slučajeva ŠB-1 u djece mlađe od pet godina u nekim regijama udvostručiti

između 2005. i 2020. te da će porasti za 70% u djece mlađe od 15 godina (13). Podatci iz Philadelphije pokazali su da se učestalost u djece mlađe od pet godina povećala za 70% u razdoblju 1985. – 2004. (15). Međutim, trend mlađe životne dobi nije zabilježen u svim populacijama. Jedno istraživanje iz Švedske izvijestilo je o povećanju dobi kod dijagnoze za djecu rođenu u 2000. ili nakon te godine, što je preokrenulo prethodni trend (16). U studiji u kojoj se analizirao rast incidencije oboljelih od ŠB-1 u razdoblju 1995. – 2003. u Hrvatskoj, najveći porast uočen je u najmlađoj dobnoj skupini (0–4 godine; 15% u odnosu na 8,3% u dobnoj skupini 5–9 godina i 7,7% u djece 10–14 godina) (17). U studiji koja je analizirala incidenciju ŠB-1 u djece mlađe od 15 godina u Hrvatskoj u razdoblju od sljedećih devet godina (2004. – 2012.) prisutan je opći porast incidencije (5,7%), ali s najvećim porastom u djece u dobnoj skupini 10–14 godina (7,5%), potom u dobnoj skupini 5–9 godina (6,8%) (18). U dobnoj skupini 0–4 godine trend je i dalje bio pozitivan (2,4%), ali ne statistički značajan.

## **1.2. Šećerna bolest tipa 1**

### *1.2.1. Definicija i dijagnostički kriteriji*

ŠB-1 je oblik ŠB-a koji karakterizira razaranje  $\beta$ -stanica Langerhansovih otočića u gušterači autoimune geneze, što rezultira insuficijencijom i potpunim izostankom lučenja inzulina. ŠB-1 se u djece i adolescenata najčešće klinički prezentira karakterističnim simptomima, kao što su poliurija, polidipsija, nikturija, enureza, gubitak tjelesne mase, polifagija, poremećaji ponašanja, umor, smetnje vida (19). U najtežem kliničkom obliku može se prezentirati kao dijabetička ketoacidoza (DKA) ili,

rjeđe, kao neketotična hiperosmolarna koma. Ta klinička stanja mogu dovesti do stupora, kome ili čak smrti. Uz prisutnost simptoma potrebno je mjeriti šećer i ketone u krvi glukometrom, te mjeriti glukozuriju i ketonuriju specijaliziranim trakama za urin (20). Dijagnoza ŠB-1 može se postaviti temeljem povišenih koncentracija šećera u krvi ili na osnovi koncentracija u krvi glikoziliranoga hemoglobina A1c (HbA1c).

Kriteriji za dijagnozu ŠB-1 su:

- 1) Klasični simptomi ŠB-a ili hiperglikemična kriza, s koncentracijom glukoze u plazmi  $\geq 11.1$  mmol/L ( $\geq 200$  mg/dL) ili
- 2) Vrijednost glukoze u plazmi  $\geq 7.0$  mmol/L ( $\geq 126$  mg/dL) nakon najmanje osam sati gladovanja<sup>a</sup> ili
- 3) Koncentracija glukoze u plazmi  $\geq 11.1$  mmol/L ( $\geq 200$  mg/dL) nakon opterećenja tijekom izvođenja OGTT-a. Ispitivanje treba izvesti s glukoznim opterećenjem koje sadrži 75 g bezvodne glukoze otopljene u vodi ili 1,75 g/kg tjelesne težine do najviše 75 g ili
- 4) HbA1c  $\geq 6.5\%$ <sup>b</sup>

<sup>a</sup> U nedostatku nedvosmislene hiperglikemije, dijagnoza ŠB-a na temelju tih kriterija treba biti potvrđena ponovljenim testiranjem.

<sup>b</sup> Vrijednost manja od 6,5% ne isključuje ŠB dijagnosticiran testovima glukoze. Uloga HbA1c u dijagnosticiranju ŠB-a u djece dvojben je (10,21).

### 1.2.2. Patogeneza šećerne bolesti tipa 1

Razlog nastanka ŠB-1 je autoimuna destrukcija  $\beta$ -stanica gušterače koje proizvode inzulin u Langerhansovim otočićima, a predispoziciju imaju genetski osjetljivi pojedinci, pod utjecajem okolišnih uzročnika (22). Postoji latentno razdoblje tijekom kojeg se postupno gubi broj funkcionalnih  $\beta$ -stanica, što u konačnici rezultira hiperglikemijom. HLA regija na kromosomu 6 odgovorna je za 40% do 50% genetske predispozicije za razvoj ŠB-1, a uz njega postoji više od 40 genskih lokusa udruženih s rizikom od razvoja ŠB-1 (23). Najveći rizik od razvoja ŠB-1 nosi HLA (engl. *Human leukocyte antigen*) genotip DR3-DQ2 i/ili DR4-DQ8 (24). Osobe heterozigoti za dva HLA haplotipa (DR3/DR4) imaju 30 puta veći rizik od razvoja ŠB-1 (25). Postoje haplotipovi koji pružaju zaštitu od ŠB-1: DRB1 \* 15: 01-DQA1 \* 01: 02-DQB1 \* 06: 02, DRB1 \* 14: 01-DQA1 \* 01: 01- DQB \* 05: 03 i DRB1 \* 07: 01-DQA1 \* 02: 01-DQB1 \* 03: 03 (26,27).

Postoji određeni broj autoantigena unutar  $\beta$ -stanica gušterače koji mogu igrati ulogu u pokretanju ili napredovanju ozljeda otočića, uključujući protutijela na dekarboksilazu glutamičke kiseline (engl. *Glutamic acid decarboxylase, GAD*), protutijela na endogeni inzulin (engl. *Insulin autoantibodies, IAA*), protutijela na protein tirozin fosfatazu (engl. *Tyrosine phosphatase-like insulinoma antigen 2, IA-2*) i protutijela na transporter Zn8 (engl. *Beta-cell specific zinc transporter 8 autoantibodies, ZnT8*) (28). Dvojbeno je koji su od tih autoantigena uključeni u pokretanje ozljede, a koji su sekundarni i oslobađaju se tek nakon ozljede. Navedeni serološki markeri autoimunoga procesa prisutni su u 85–90% oboljelih. Rizik od razvoja bolesti je 4% u braće i sestara oboljelih, a u



jednojajčanih blizanaca 40%, za razliku od 0,5% u općoj populaciji. U djece čiji su očevi oboljeli, rizik je 3,6% do 8,5%, a u djece majki sa ŠB-om 1,3% do 3,6% (10,29). Čimbenici okoliša koji mogu utjecati na rizik uključuju trudnoću i perinatalne utjecaje, virusne infekcije, konzumaciju kravljeg mlijeka i žitarica (30,31).

### *1.2.3. Patofiziologija šećerne bolesti tipa 1*

Inzulin je glavni anabolni hormon i nakon unosa hrane u organizam stimulira skladištenje masti, bjelančevina i glikogena. Do glikogenolize, lipolize i proteolize, kao i glukoneogeneze u jetri, dolazi ako nema inzulina te posljedično tomu glukoza ne može ući u stanice. Zbog smanjenog ulaska glukoze u stanice, glukoneogeneze u jetri i glikogenolize, dolazi do hiperglikemije. Nedostatak inzulina dovodi i do poremećaja ugradnje aminokiselina u tkiva, negativnoga proteinskog balansa s gubitkom mišićnih bjelančevina i povećane glukoneogeneze preko alanina (22).

Hiperglikemija dominira u ranoj fazi bolesti, potom se javljaju ketonemija, ketonurija i acidoza (19). Povećane koncentracije triglicerida, glicerola i slobodnih masnih kiselina posljedično lipolizi, dovode do porasta ketona u plazmi i razvoja metaboličke acidoze. Osim nedostatka inzulina, za razvoj DKA-e važno je i lučenje kontraregulatornih hormona: glukagona, katekolamina, hormona rasta i kortizola. Povišene vrijednosti šećera u krvi i lučenje glukoze u mokraći uzrok su osmotske diureze i poliurije. Sva navedena zbivanja dovode do gubitka elektrolita i dehidracije (32).

#### 1.2.4. Klinička slika šećerne bolesti tipa 1

ŠB-1 se može prezentirati na nekoliko načina: klasičnom prezentacijom, kao DKA i asimptomatskom fazom („tihom prezentacijom“). Klasična prezentacija javlja se u više od 90% pacijenata, uz hiperglikemiju bez acidoze, a obuhvaća klasičan trijas: poliurija, polidipsija i gubitak tjelesne mase tijekom dva do šest tjedana (19).

Nikturija i sekundarna enureza nekada znaju biti prvi simptomi bolesti u mlade djece, a relativno često u djevojčica prvi znak bolesti bude perinealna kandidijaza (33). DKA je drugi najčešći oblik prezentacije ŠB-1, a javlja se u 15% do 70% pacijenata u Europi i Americi, sa smrtnim ishodom u 0,15%. Pod većim su rizikom od razvoja DKA-e mlađi od dvije godine, žene, osobe s negativnom obiteljskom anamnezom ŠB-a i nižega socioekonomskoga statusa (10). DKA je praćena glukozurijom, ketonurijom i ketonemijom, uz vrijednost šećera u krvi  $> 11$  mmol/L, metaboličkom acidozom s venskim pH  $< 7,3$  i/ili bikarbonatima  $< 15$  mmol/l (34). Asimptomatsku fazu („tihu prezentaciju bolesti“) najčešće nalazimo u visokorizične djece i u djece u čijim obiteljima već ima oboljelih od ŠB-1.

ŠB-1 ima četiri stadija (32) :

- 1) prvi stadij (karakteriziran presimptomatskom fazom, pozitivnim protutijelima na  $\beta$ -stanice gušterače, urednim vrijednostima šećera u plazmi),
- 2) drugi stadij (karakteriziran presimptomatskom fazom, pozitivnim protutijelima na  $\beta$ -stanice gušterače, povišenim vrijednostima šećera u plazmi),

- 3) treći stadij (simptomatska faza, povišena vrijednost šećera u plazmi, pozitivna protutijela na  $\beta$ -stanice gušterače),
- 4) četvrti stadij (doživotno liječenje ŠB-1) (35).

#### 1.2.5. Liječenje šećerne bolesti tipa 1

Osnova liječenja pacijenata sa ŠB-1 su inzulin, regulirana prehrana i tjelesna aktivnost, uz ciljeve liječenja koji obuhvaćaju održavanje koncentracije šećera u plazmi i HbA<sub>1c</sub> što bliže normalnim vrijednostima, te sprečavanje akutne (hipoglikemija, DKA) i kroničnih komplikacija kao što su dijabetička bubrežna bolest (DBB), retinopatija i neuropatija. Prema brzini i trajanju djelovanja, inzuline dijelimo na kratkodjelujuće (regularni inzulin) i brzodjelujuće inzulinske analoge (aspart, lispro, glulizin), inzuline srednje dugog djelovanja (engl. *Neutral protamine hagedron; NPH*) te bazalne dugodjelujuće inzulinske analoge (detemir i glargine) i ultradugodjelujuće analoge (glargin U300, degludec) (36). Kombinacija dostupnih inzulinskih pripravaka omogućava prilagodbu terapije ovisno o dobi djeteta, prehrani, tjelesnoj aktivnosti, trajanju bolesti.

Konvencionalna inzulinska terapija ili primjena inzulina dva puta na dan uključuje primjenu srednjedugodjelujućega NPH inzulina uz kratkodjelujući inzulin prije doručka i večere (37). Intenzivirana inzulinska terapija uključuje primjenu inzulina u više dnevnih doza inzulinskim injektorom ili inzulinskom crpkom. Primjena inzulina u više dnevnih doza uključuje primjenu inzulina kratkog djelovanja ili brzodjelujućeg inzulinskog analoga prije glavnih obroka, odnosno NPH inzulina ili, češće,

dugodjelujućeg inzulinskog analoga većinom prije spavanja u funkciji bazalnih inzulina (38). Primjena inzulina trajnom supkutanom inzulinskom infuzijom ili inzulinskom crpkom uključuje isporuku inzulina kateterom postavljenim supkutano i oponaša fiziološku isporuku inzulina, zadovoljavajući bazalne potrebe i boluse prije svakog obroka. U terapiji je važno uvažavati principe zdrave prehrane, a to uključuje 50% do 55% ugljikohidrata, većinom složenih, 20% bjelancevina i oko 30% masnoća s niskim udjelom kolesterola i zasićenih masnih kiselina. Važna je redovita tjelesna aktivnost koja poboljšava kontrolu bolesti, uz redovitu edukaciju pacijenata i psihološku potporu.

#### *1.2.6. Kronične komplikacije šećerne bolesti tipa 1*

Kronične komplikacije ŠB-1 su retinopatija, DBB, neuropatija i makrovaskularne komplikacije. Dobra metabolička kontrola dovodi do smanjene incidencije kroničnih komplikacija. Prema recentnim ISPAD (od engl. *International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes*) smjernicama preporučuje se u djece sa ŠB-1 probir na DBB od 11. godine života s trajanjem bolesti dvije do pet godina. Trenutačno, albuminurija je standard za probir i predviđanje progresije DBB-a u djece sa ŠB-1, a određuje se jednom godišnje određivanjem omjera albumin/kreatinin iz prvoga jutarnjeg urina (39). Prema ISPAD 2018 smjernicama predložen je probir na kronične komplikacije ŠB-1 i terapijski pristup (Tablica 3, Tablica 4):

**Tablica 3.** Probir na kronične komplikacije ŠB-1 i terapijski pristup; preuređeno prema Donaghue i sur. 2018. (40)

	Početak probira	Metoda probira	Čimbenici rizika	Terapija
DBB	11 godina i 2–5 godina trajanja ŠB-a	urin albumin/kreatinin	hiperglikemija, ↑RR, dislipidemija, pušenje	poboljšati kontrolu bolesti, ACEI, ARB, prestanak pušenja
Retinopatija	11 godina i 2–5 godina trajanja ŠB-a	pregled fundusa uz midrijazu	hiperglikemija, ↑RR, dislipidemija, ↑ITM	poboljšati kontrolu bolesti, normalizacija RR-a i dislipidemije, laser
Neuropatija	11 godina i 2–5 godina trajanja ŠB-a	anamneza, fizikalni pregled, klinički testovi, EMNG	hiperglikemija, ↑ITM, dob, trajanje ŠB-a, nasljeđe	poboljšati kontrolu bolesti
Makrovaskularne bolesti				
Lipidogram		svake 2 godine	hiperglikemija, ↑RR, dislipidemija, ↑ITM	prehrana, > 10 god statini
Arterijski krvni tlak	11 godina i 2–5 godina trajanja ŠB-a	jednom godišnje	pušenje	↑tjelesna aktivnost, redukcija soli i TM-a, ACEI, ARB

Legenda: RR – arterijski krvni tlak, ITM – indeks tjelesne mase, ŠB – šećerna bolest, ACEI – inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (od engl. *Angiotensin-converting-enzyme inhibitors*), ARB – blokatori angiotenzinskih receptora, TM – tjelesna masa

**Tablica 4.** Preporučene granične vrijednosti čimbenika za terapijski pristup i primarnu intervenciju mikrovaskularnih i ranih kardiovaskularnih bolesti djece i adolescenata sa ŠB-1 – preuređeno prema Donaghue i sur. (40)

Arterijski krvni tlak > 90. percentile za dob, spol i visinu	Promjene životnih navika: povećana tjelesna aktivnost, preporučena prehrana, izbjegavanje sjedećih aktivnosti
Arterijski krvni tlak > 90. percentile unatoč promjenama ponašanja	ACEI ili drugi antihipertenzivni lijek U slučaju perzistiranja mikroalbuminurije: ACEI ili ARB
LDL kolesterol > 2,6 mmol/L	Prehrana i promjene životnih navika
LDL kolesterol > 3,4 mmol/L	Statini u djece > 10 godina

Legenda: LDL – Lipoproteini niske gustoće (od engl. *Low density lipoproteins*), ACEI – inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima, ARB – blokatori angiotenzinskih receptora

### 1.3. Dijabetička bubrežna bolest

DBB se definira kao perzistirajuća proteinurija veća od 500 mg/24 h ili albuminurija veća od 300 mg/24 h. Najčešće je udružena s arterijskom hipertenzijom i smanjenom glomerularnom filtracijom (GFR) (7). DBB je glavni uzrok mortaliteta i morbiditeta među djecom i adolescentima oboljelim od ŠB-1. Povezana je s povećanim rizikom od razvoja završnoga stadija bubrežne bolesti i kardiovaskularnim bolestima, te preranom smrću (8). U Europi i SAD-u oko 20% oboljelih od ŠB-1 razvije DBB, a incidencija zatajivanja bubrežne funkcije je 4% do 17%, obično 20–30 godina nakon početka ŠB-1 (41,42). DBB se klinički prezentira trijasom: povišenim krvnim tlakom, albuminurijom i u konačnici bubrežnim zatajivanjem. Promjene bubrežne morfologije i funkcije u pacijenata sa ŠB-1 prolaze kroz pet stadija. Početna faza je „faza hiperfiltracije“, koju karakterizira glomerularna hipertrofija, hiperfiltracija i hiperperfuzija. Sljedeća faza obuhvaća supkliničke morfološke promjene i porast vrijednosti omjera albumin/kreatinin, ali još uvijek unutar normalnih vrijednosti (43). Treći stadij karakterizira daljnji porast lučenja albumina između 30 i 300 mg/24 h ili 20 do 200 ug/min u 24-satnom urinu – prije nazivan „mikroalbuminurijom“ (MA), a koji prelazi u četvrti stadij sa znatnom proteinurijom uz lučenje albumina > 200 ug/min ili > 300 mg/24 h – prije nazivan „makroalbuminurijom“. Zadnji stadij je završni stadij bubrežne bolesti koji zahtijeva bubrežnu nadomjesnu terapiju (44).

Iako za razvoj teških stadija DBB-a trebaju godine, nalazi biopsija bubrega učinjenih 1,5–2,5 godina nakon početka bolesti, a u djece koja su i dalje bila normoalbuminurična, pokazuju strukturne promjene u smislu zadebljanja glomerularne i

tubularne bazalne membrane, što dovodi u pitanje albuminuriju kao rani pokazatelj razvoja DBB-a (45). Nastup puberteta i loša kontrola glikemije neovisni su čimbenici rizika od razvoja MA-e u djece oboljele od ŠB-1 (46). Zamijećeno je da dolazi i do regresije u normoalbuminuriju u već albuminurične djece (47). Mnogi drugi čimbenici mogu utjecati na dnevno lučenje albumina urinom, kao što su tjelesna aktivnost i povišeni krvni tlak (48). Novija su istraživanja pokazala kako su djeca oboljela od ŠB-1, koja imaju visoko normalne vrijednosti albumina u urinu, pod većim rizikom od razvoja DBB-a od onih s niskim normalnim vrijednostima albumina u urinu (45,49). Zbog važnosti sprečavanja progresije bubrežne bolesti u oboljelih od ŠB-1, pogotovo u djece u koje bolest počinje rano i većinom su normoalbuminurična, a pod najvećim su rizikom od razvoja DBB-a, potrebno je, uz već znane čimbenike rizika kao što su spol, trajanje bolesti, metabolička kontrola, stupanj pubertetskog razvoja i arterijska hipertenzija, pronaći druge osjetljivije pokazatelje bubrežne funkcije (50).

### *1.3.1. Patohistološke promjene u bubregu u sklopu dijabetičke bubrežne bolesti*

Nalazi biopsija učinjenih 1,5–2,5 godina nakon početka ŠB-1 u djece pokazuju zadebljanje glomerularne i tubularne bazalne membrane (51,52). U uznapredovaloj fazi DBB-a dolazi do zadebljanja tkiva mezangija i intersticija, inicijalno kroz povećanje stanične komponente, a kasnije kroz odlaganje fibrilarnog kolagena (53). U razvoju DBB-a zanimljivu ulogu imaju i podociti, jer su važni u permeabilnosti glomerularne bazalne membrane i razvoju proteinurije. Nestajanje nožica podocita i smanjenje samog njihova broja zamijećeno je u nalazima bioptata bubrega djece oboljele od ŠB-1 (54,55). Uz sve opisane promjene glomerula u DBB-u, u posljednje se doba opisuju



promjene i u tubulima, intersticiju, meduli i papilama bubrega (56). Nalazi bioptata upućuju na hipertrofiju epitelnih stanica tubula, zadebljanje tubularne bazalne membrane i akumulaciju glikogena. Patohistološke promjene koje zahvaćaju tubule mogu prethoditi glomerularnim promjenama u oboljelih od ŠB-1. Nedavne studije upućuju na to da tubularno-glomerularni povratni mehanizmi (engl. *feedback mechanisms*) mogu potaknuti hiperfiltraciju i stoga pridonijeti razvoju albuminurije (56).

Strukturu glomerularne filtracijske barijere uključuje fenestirani endotel sa svojim glikokaliksiom, glomerularnu bazalnu membranu te podocite. U slučaju smanjenja ili promjene jednog ili više elemenata ovog kompleksa, barijera postaje nedovoljno funkcionalna i dolazi do albuminurije kao što je slučaj kod DBB-a, gdje zbog apoptoze dolazi do gubitka podocita, a i sama hiperglikemija dovodi do odvajanja podocita od glomerularne bazalne membrane (57). Naime, hiperglikemija potiče stvaranje reaktivnih radikala kisika, što uzrokuje apoptozu podocita (58). Najznačajnije patohistološke promjene u dijabetičkoj nefropatiji su zadebljanje glomerularne bazalne membrane, ekspanzija mezanglija, nodularna skleroza (Kimmelstiel-Wilsonova promjena), difuzna glomeruloskleroza, tubulointersticijska fibroza te arterioskleroza i hijalinoza bubrežnih krvnih žila (59). Također, studije su potvrdile povezanost renalnoga vaskularnog otpora u renalnim arterijama u pacijenata sa ŠB-1 na način da su pacijenti s MA-om imali viši vaskularni otpor u usporedbi s pacijentima s normoalbuminurijom, što ga čini važnim prognostičkim markerom za stupanj bubrežnoga oštećenja u DBB-u (60–62). Kod ŠB-1 ekspanzija mezangija obrnuto je proporcionalna s brzinom GFR-a na način da povećanjem ekspanzije mezangija dolazi do smanjenja površine filtracije glomerularnih

kapilara, a time i do smanjenja brzine GFR-a. Stupanj ekspanzije mezangija također je u snažnoj korelaciji s albuminurijom i hipertenzijom u pacijenata sa ŠB-1 (63).

### *1.3.2. Metode dijagnosticiranja rane dijabetičke bubrežne bolesti*

#### *1.3.2.1. Albuminurija*

Albuminurija je jedan od prvih pokazatelja razvoja DBB-a i za sada je standard u dijagnosticiranju DBB-a. Definira se kao omjer albumin/kreatinin 2,5 do 25 mg/mmol ili 30 do 300 mg/g iz prvoga jutarnjeg urina u muškaraca i 3,5 do 25 mg/mmol ili 42 do 300 mg/g u žena (zbog nižeg izlučivanja kreatinina) (39). Vrijednosti iznad navedenih znače proteinuriju. Određivanje omjera albumin/kreatinin iz prvoga jutarnjeg urina je najjednostavnija metoda određivanja u ambulantnim uvjetima, a i najtočnija zbog dnevnih varijacija izlučivanja albumina, kao i posturalnih učinaka na lučenje albumina u urinu (64). Čimbenici koji mogu utjecati na povećanje vrijednosti omjera albumin/kreatinin su intenzivna tjelesna aktivnost, infekcije, bubrežna bolest (IgA nefropatija i drugi oblici nefritisa), znatno povišena koncentracija šećera u plazmi, vrućica, menstrualno krvarenje. Nalaz albuminurije potvrđuje se dvama ili trima abnormalnim nalazima omjera albumin/kreatinin unutar tri do šest mjeseci. Perzistirajuća albuminurija je obično znak razvoja DBB-a i povećava rizik od razvoja makrovaskularnih komplikacija (65,66). Iako za razvoj teških stadija DBB-a trebaju godine, nalazi biopsija bubrega učinjenih 1,5–2,5 godina nakon početka bolesti, a u djece koja su i dalje bila normoalbuminurična, pokazuju strukturne promjene u smislu zadebljanja glomerularne i tubularne bazalne membrane, što dovodi u pitanje

albuminuriju kao rani pokazatelj razvoja DBB-a (43). Nastup puberteta i loša kontrola glikemije neovisni su čimbenici rizika od razvoja MA-e u djece oboljele od ŠB-1 (46). Zamijećeno je da dolazi i do regresije u normoalbuminuriju u već albuminurične djece (47). Novija istraživanja pokazala su da su djeca oboljela od ŠB-1 koja imaju visoko normalne vrijednosti albumina u urinu pod većim rizikom od razvoja DBB-a od onih s niskim normalnim vrijednostima albumina u urinu (45,67).

#### 1.3.2.2. *Serumski kreatinin i glomerularna filtracija*

Serumski kreatinin je organska baza koja nastaje pri metabolizmu mišićnih proteina enzimskom degradacijom kreatin fosfata uz vrlo mali utjecaj dnevnih razlika u prehrani na stvaranje kreatinina. Poput drugih organskih baza, izlučuje se urinom, GFR-om i manjim dijelom tubulskom sekrecijom. Vrijednosti serumskoga kreatinina izrazito variraju s dobi, spolom, mišićnom masom, metabolizmom, prehranom, lijekovima i hidracijom. Serumski kreatinin je kasni i nepouzdan pokazatelj akutne promjene bubrežne funkcije te se može izgubiti i do 50% bubrežne funkcije prije nego što vrijednosti serumskoga kreatinina počnu rasti (68). Serumski kreatinin se najčešće rabi kao test za procjenu GFR-a. GFR predstavlja količinu glomerularnog filtrata koja se svake minute stvara u nefronima oba bubrega i služi za procjenu bubrežne funkcije (68). Smanjenje GFR-a znači smanjenje broja funkcionalnih nefrona zbog kronične bubrežne bolesti (KBB) ili bubrežne ozljede, koja može biti i reverzibilna.

Prema KDIGO (od engl. *The Kidney Disease: Improving Global Outcomes*) smjernicama, pacijent je u kroničnoj bubrežnoj insuficijenciji ako mu je GFR < 60

ml/min/1,73 m<sup>2</sup> tri mjeseca ili duže (69). Za procjenu GFR-a u djece rabi se formula prema Schwartzu koja se temelji na razmjernom odnosu između GFR-a i omjera visine i koncentracije kreatinina u serumu u djece (70). Schwartzova jednadžba pri procjeni GFR-a uzima u obzir visinu, jer je ona razmjerna mišićnoj masi. Koncentracija kreatinina u serumu nije osjetljiv biljeg blagih do umjerenih promjena, odnosno smanjenja GFR-a. Do povećanja koncentracije kreatinina u serumu iznad gornje granice referentnog intervala dolazi tek pri izrazitom padu GFR-a (60–40 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>). Bubrežna hiperfiltracija procijenjena GFR-om može biti najraniji znak poremećene bubrežne funkcije i povezana je s povećanim rizikom od razvoja DBB-a.

#### 1.3.2.3. *Cistatin C*

Cistatin C je neglikozilirani protein od 13 kDa koji sadrži 122 aminokisline i pripada obitelji inhibitora cistein proteinaze. Proizvode ga sve stanice s jezgrom i uključen je u intracelularni katabolizam proteina i peptida (71). Cistatin C je protein male molekularne mase, ne veže se značajno za proteine i slobodno se, gotovo u potpunosti, filtrira u glomerulima (> 99%). Iako se ne izlučuje kroz tubule, cistatin C se u njima reapsorbira i razgrađuje, tako da nema njegova povratka u krvotok. Činjenica da se ne vraća u krvotok i ne secernira u tubulima čini cistatin C gotovo idealnim endogenim biljegom za procjenu GFR-a. Pokazano je da je mnogo precizniji u procjeni GFR-a u odnosu na serumski kreatinin, pogotovo u bolesnika s KBB-om (72). Na njegovu količinu nemaju utjecaja spol, visina, mišićna masa, a manje je pouzdan u dobi do tri godine. Utjecaj na vrijednost cistatina C u serumu imaju kortikosteroidna terapija, disfunkcija štitnjače (hipotireoza i hipertireoza) te DKA (73–75). Djeca mlađa od 1,5

godina imaju više vrijednosti, a smatra se da je koncentracija serumskoga cistatina C stabilna nakon treće godine života (76,77). Serumski cistatin C istražuje se kao rani biljeg DBB-a u oboljelih od ŠB-1. Pseczynska i sur. pronašli su da je koncentracija serumskoga cistatina C bila viša u djece oboljele od ŠB-1 u kojih je bolest trajala duže i koji su lošije kontrolirani na osnovi nalaza HbA1c te u onih koji su imali mikrovaskularne komplikacije – retinopatiju, neuropatiju i arterijsku hipertenziju (78). Povišene razine cistatina C u serumu povezane su s povišenim rizikom od obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti i progresijom ateroskleroze u pretilo djece i djece oboljele od ŠB-1 (79). Papadopoulou-Marketou i sur. pokazali su kako više vrijednosti serumskoga cistatina C koreliraju sa smanjenim GFR-om u djece oboljele od ŠB-1 praćenjem tijekom 12–15 mjeseci, a uz trajanje bolesti prosječno pet godina (80). Pokazali su i povezanost više koncentracije cistatina C s koncentracijama mokraćne kiseline u serumu, koja je povezana s bubrežnom disfunkcijom, povišenim arterijskim tlakom i kardiovaskularnim bolestima, što ga čini i prognostičkim kardiometaboličkim biološkim biljekom u detekciji ranih mikrovaskularnih komplikacija u oboljelih (81). U studiji Oddoze i sur. uspoređivale su se vrijednosti serumskoga cistatina C i serumskoga kreatinina u odraslih oboljelih od ŠB-1 u ranoj fazi bubrežnoga oštećenja (GFR 80 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), što nije pad GFR-a od 50% koji je značajan te se serumski cistatin C nije pokazao boljim pokazateljem od serumskoga kreatinina (82). Maahs i sur. nisu našli značajne razlike u vrijednostima cistatina C u serumu u bolesnih i zdravih, ne stavljajući cistatin C u superioran položaj u odnosu na serumski kreatinin (83).

#### 1.3.2.4. Urinarni KIM-1

Osim biljega glomerularnog oštećenja, važnu ulogu u razvoju DBB-a ima i oštećenje tubulointercicija (84). Noviji urinarni enzimi koji se rabe kao biljezi oštećenja tubulointercicija u oboljelih od ŠB-1 su KIM-1 (od engl. *Kidney injury molecule-1*), NAG (od engl. *N-Acetyl-beta-D-Glucosaminidase*), NGAL (od engl. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) i L-FABP (od engl. *Liver-type fatty acid binding protein*) (85). KIM-1, poznat i kao HAVCR (od engl. *Hepatitis A virus cellular receptor*) ili TIM-1 (od engl. *T-cell immunoglobulin and mucin protein*), je transmembranski glikoprotein 1, izoliran iz epitelnih stanica proksimalnog tubula stanica čovjeka i miša u vrlo malim količinama. KIM-1 je zapravo fosfatidil serinski receptor koji prepoznaje apoptotične stanice i usmjerava ih prema lizosomima te služi i kao receptor za oksidirane lipoproteine i na taj način prepoznaje signal koji šalju stanice podvrgnute apoptozi svojim *eat me* signalom (85). Navedene karakteristike čine KIM-1 prvim nemijeloidnim fosfatidil-serinskim receptorom koji epitelne stanice pretvara u fagocite (86). KIM-1 ima važnu ulogu i u ograničavanju autoimunog odgovora na oštećenje, na način da je fagocitoza apoptotičnih stanica mehanizam koji ograničava proupalni odgovor. KIM-1 prisutan je u urinu kod oštećenja proksimalnih tubula i u pacijenata s renalnim karcinomom (engl. *Clear type renal cell carcinoma, RCC*), a kao posljedica djelovanja metaloproteinaza. Koncentracija KIM-1 u urinu raste zbog akutne bubrežne ozljede, pogotovo ishemijskog ili toksičnog oštećenja bubrega, što su prvi put objavili Han i sur. 2002., dokazavši porast vrijednosti KIM-1 u urinu u pacijenata s ishemičkom akutnom tubularnom nekrozom, čak prije pojave cilindara u sedimentu urina (87). KIM-1 u urinu služi i kao biološki biljeg tubularnog oštećenja u pacijenata

oboljelih od ŠB-1, a prije pojave albuminurije i glomerularnog oštećenja. Nielsen i sur. pokazali su u svojoj studiji da su vrijednosti KIM-1 u urinu povišene u pacijenata oboljelih od ŠB-1 koji su i normoalbuminurični i koji imaju MA-u u odnosu na zdravu populaciju, iako među oboljelima nisu nađene znatne razlike u vrijednostima KIM-1 (88). Povišene vrijednosti KIM-1 u urinu, detektirane i prije pojave albuminurije, biljeg su oštećenja tubula koje se javlja prije oštećenja glomerula. Zaključeno je da povišene vrijednosti KIM-1 u urinu i u normoalbuminuričnih pacijenata sa ŠB-1 mogu biti biljeg razvoja DBB-a u pretkliničkoj fazi. U studiji u kojoj su odrasli oboljeli od ŠB-2 ovisno o stupnju albuminurije podijeljeni na skupine, na normoalbuminurične, one s MA-om i skupinu s makroalbuminurijom, u usporedbi sa zdravom skupinom dokazana je pozitivna korelacija KIM-1 u urinu i stupnja albuminurije, upućujući na značajnu ulogu KIM-1 u urinu kao biljega renalnog oštećenja u sklopu DBB-a (89). Do istih spoznaja pozitivne korelacije stupnja albuminurije i vrijednosti KIM-1 u urinu došlo se i u studiji od 142 oboljela od ŠB-2, uz dokazanu povezanost dužine trajanja ŠB-2 i vrijednosti KIM-1 u urinu (90). Vaidye i sur. utvrdili su povišene vrijednosti KIM-1 u urinu u normoalbuminuričnih i mikroalbuminuričnih oboljelih od ŠB-1 u odnosu na zdrave, a zatim praćenjem tijekom dvije godine utvrdili snižavanje vrijednosti KIM-1 u urinu, istodobno s regresijom MA-e u normoalbuminuriju (91). Za razliku od navedenih istraživanja, Panduru i sur. pokazali su kako KIM-1 u urinu nije važan pretkazatelj ranoga bubrežnoga oštećenja i nije bolji pretkazatelj DBB-a od MA-e u oboljelih od ŠB-1 te nije u pozitivnoj korelaciji s albuminurijom (92).

### *1.3.2.5. Doplerski renalni indeks otpora*

U traženju drugih pokazatelja razvoja poremećaja bubrežne funkcije u djece oboljele od ŠB-1, kao moguća neinvazivna metoda za istraživanje bubrežne hemodinamike i određivanja intrarenalnoga žilnog otpora u renalnoj arteriji i njenim granama istaknulo se određivanje doplerskog renalnog indeksa otpora (RI) (93,94). Obojeni dupleks-dopler renalnih i intrarenalnih arterija pruža podatke o prokrvljenosti bubrega, o protoku krvi u renalnim i intrarenalnim arterijama i venama te omogućava neinvazivnu procjenu bubrežnoga krvožilnog otpora (renalne vaskularne rezistencije). Dopler se u bubrezima najviše primjenjuje u dijagnostici stenoze bubrežne arterije. Nekoliko studija pokazalo je da se povećani RI može naći kod različitih parenhimskih bolesti bubrega (hemolitičko-uremički sindrom, DBB, autosomno-dominantne policistične bolesti), ali ne i u glomerulonefritisu, gdje su vrijednosti RI-ja normalne (93).

Rane stadije DBB-a karakterizira povećanje vrijednosti GFR-a i filtracijske frakcije, što na razini nefrona rezultira smanjenim otporom u aferentnoj arterioli i posljedično povećanim glomerularnim kapilarnim tlakom, što može utjecati na povećanje vrijednosti RI-ja. U odraslih oboljelih od ŠB-a pokazano je da povišenje RI-ja prati progresiju DBB-a i da dobro korelira s parametrima bubrežne funkcije, povišenim krvnim tlakom i trajanjem bolesti (93). S obzirom na to da je u razvoju DBB-a ključna mikroangiopatija, upravo promjene na mikrožilju dovode do povišenoga RI-ja. Histopatološke studije oboljelih od ŠB-a upućuju na razne bubrežne promjene u smislu hijalinizacije aferentne i eferentne glomerularne arteriole, atrofije tubula i intersticijske fibroze, što se smatra predisponirajućim čimbenikom povišenja RI-ja u oboljelih od ŠB-



a. Postoji nekoliko studija u kojima je u odraslih oboljelih od ŠB-1 ili ŠB-2 nađen povišen RI u odnosu na zdrave (95–97). Pelliccia i sur. dokazali su više vrijednosti RI-ja u djece oboljele od ŠB-1 u odnosu na zdrave ispitanike te više vrijednosti u oboljelih čija je bolest lošije regulirana s obzirom na vrijednosti HbA1c, zaključujući da je ova metoda korisna u otkrivanju ranih promjena bubrežne hemodinamike i razvoja DBB-a (98). Savino i sur. pokazali su da su promjene u bubrežnoj hemodinamici mjerljive dopler ultrazvukom i prije pojave MA-e (99). U ranijoj studiji Oktena i sur. nisu utvrđene znatne razlike između dijabetičara i zdrave djece u vrijednostima RI-ja (100).

### 1.3.3. Liječenje dijabetičke bubrežne bolesti

Recentne prospektivne studije pokazale su da bolju prognozu uz očuvanje renalne funkcije imaju pacijenti s optimalnom kontrolom arterijskoga tlaka, većom uporabom inhibicije renin angiotenzinskog sustava, boljom kontrolom vrijednosti lipidograma i šećera u krvi (101). Povišen arterijski tlak (AT) (prije nazivan „prehipertenzija“) definira se kao AT  $\geq$  90. centila za dob, spol i visinu, odnosno u djece od 16. godine života kao AT između 120 i 129/80 mmHg. Hipertenzija u djece definirana je kao AT  $\geq$  95. centila za spol, dob i visinu, a za starije od 16 godina kao sistolički AT  $\geq$  130 mmHg i/ili dijastolički AT  $\geq$  80 mmHg (102). Povišen AT izmjeren u tri odvojene prigode potvrđuje dijagnozu, a potvrđuje se kontinuiranim mjerenjem krvnoga tlaka tijekom 24 h. U djece s povišenim AT-om počinje se s promjenama životnih navika, uključujući DASH dijetu (od engl. *Dietary approaches to stop hypertension*), pojačanu tjelesnu aktivnost tri do pet puta na tjedan u trajanju 30–60 minuta. U slučaju nepostizanja ciljnih vrijednosti AT-a tijekom tri do šest mjeseci, indicirano je uvođenje

antihipertenzivne terapije (39). U oboljelih s hipertenzijom, indicirano je uvođenje antihipertenzivne terapije uz nefarmakološke mjere. Liječenje obuhvaća primjenu inhibitora angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACEI), blokatore angiotenzinskih receptora (ARB), blokatore kalcijevih kanala i tiazidske diuretike. Primjena ACEI preporučuje se u oboljelih s povišenim AT-om i albuminurijom, a u slučaju nuspojava indicirani su ARB. Upitna je dugoročna primjena ACEI preventivno zbog očuvanja bubrežne funkcije u oboljele djece i adolescenata koji nemaju hipertenziju, jer bi to u mladih s albuminurijom značilo uzimanje lijeka desetljećima. Zabilježene nuspojave obuhvaćaju kašalj, hipokalijemiju, porast kreatinina, glavobolju, impotenciju i teratogeno djelovanje na plod (103,104). Preporučuje se smanjen dnevni unos soli te izbjegavanje nefrotoksičnih tvari kao što su nesteroidni protuupalni lijekovi i aminoglikozidi. Novija terapija koja zahtijeva daljnje rigorozne provjere putem kliničkih studija obuhvaća primjenu selektivnih agonista angiotenzin II receptora, inhibirajući renalni oksidativni stres, upalu i fibrozu i antagoniste endotelina koji imaju protuupalni učinak, uz smanjenje fibroze glomerula i razvoja proteinurije u glomerulima oboljelih od ŠB-a (105,106).

#### **1.4. Svrha rada**

ŠB-1 bilježi znatan porast incidencije u dječjoj dobi posljednjih desetljeća te, unatoč napretku u liječenju, kronične komplikacije čine glavni uzrok mortaliteta i morbiditeta u oboljelih. Posebno je povećan mortalitet u onih koji su razvili DBB kao komplikaciju, povezanu s povećanim rizikom od zatajenja bubrežne funkcije i kardiovaskularnim bolestima te preranom smrću. DBB je vodeći uzrok završnoga stadija bubrežne bolesti,

a albuminurija se smatra ranim pokazateljem bubrežnoga oštećenja u oboljelih od ŠB-1. Serumski cistatin C odstranjuje se GFR-om i predstavlja osjetljivi pokazatelj poremećene bubrežne funkcije. RI, mjeren doplerskom ultrazvučnom metodom, pokazatelj je porasta intrarenalne rezistencije žilja koja se javlja u poremećenoj bubrežnoj funkciji oboljelih od ŠB-1. Oštećenje tubulointercicija pokazalo se važnim u nastanku DBB-a, a KIM-1 u urinu obećavajući biljeg tubularnog oštećenja. Svrha ovog rada je izrada klinički uporabljivog modela za rano otkrivanje DBB-a koji bi se temeljio na povezanosti cistatina C, RI-ja i KIM-1 s drugim standardnim kliničkim varijablama. Takav model mogao bi imati praktično značenje u prepoznavanju djece sa ŠB-1 koja imaju povišeni rizik od razvoja DBB-a, a prije pojave MA-e, kako bi prema njima mogle na vrijeme biti usmjerene preventivne i terapijske mjere za sprečavanje progresije oštećenja.

## **2. HIPOTEZA**

Korištenjem kombinacije pokazatelja glomerularnog (serumski cistatin C), vaskularnog (doplerski RI ) i tubularnog (KIM-1 u urinu) oštećenja moguće je razviti model za rano otkrivanje bubrežnoga oštećenja u djece sa ŠB-1.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

#### **3.1. Opći cilj**

- 1) Analizirati vrijednosti seruskoga cistatina C, doplerskog RI-ja, vrijednosti KIM-1 u urinu u oboljelih od ŠB-1 i zdravih ispitanika.
- 2) Analizirati povezanost među vrijednostima seruskoga cistatina C, doplerskog RI-ja, KIM-1 u urinu s količinom albumina u urinu, GFR-om i kreatininom kao standardnim varijablama bubrežnoga oštećenja u oboljelih od ŠB-1 te u zdravih ispitanika.

#### **3.2. Specifični ciljevi**

- 1) Utvrditi povezanost vrijednosti kreatinina u serumu, dobi, spola, indeksa tjelesne mase (ITM), HbA1c, trajanja ŠB-1, doza i vrste inzulina, vrijednosti lipida i arterijskoga krvnog tlaka s količinom albumina u urinu u oboljelih od ŠB-1.
- 2) Odrediti multivarijabilnu povezanost seruskoga cistatina C, doplerskoga RI-ja, KIM-1 u urinu s količinom albumina u urinu, GFR-om i kreatininom u oboljelih od ŠB-1.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ustroj ispitivanja

Provedena je unicentrična, presječna (engl. *cross sectional*) studija na Endokrinološkom odsjeku Klinike za pedijatriju KBC Sestre milosrdnice u Zagrebu od siječnja do prosinca 2019. Protokol ispitivanja evaluiralo je i odobrilo Etičko povjerenstvo KBC Sestre milosrdnice i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Roditelj/skrbnik i ispitanik bili su detaljno upoznati s ciljevima i načinom provedbe ispitivanja. Svi roditelji/skrbnici potpisom dokumenta Informiranoga pristanka potvrdili su svoju privolu za sudjelovanje njihove djece u ispitivanju. Ispitivanje je provedeno u skladu s Helsinškom deklaracijom Svjetske zdravstvene organizacije (107).

### 4.2. Ispitanici

Ciljanu populaciju činila su djeca i adolescenti oboljeli od ŠB-1 u dobi od 10 do 18 godina. Kriteriji uključivanja bili su: oba spola, dob 10–18 godina, stupanj pubertetskog razvoja  $\geq$  II po Tanneru (za djevojčice telarhe  $\geq$  II stupnja, za dječake veličina testisa  $\geq$  4 ml po Praderu), trajanje ŠB-1  $\geq$  3 godine ako je dijagnosticirana prije puberteta te trajanje ŠB-1  $\geq$  2 godine ako je dijagnosticirana tijekom puberteta. Kriteriji neuključivanja bili su: akutna infekcija mokraćnoga sustava, terapija glukokortikoidima, druge bubrežne bolesti, ortostatska proteinurija, bolesti štitnjače, DKA, dokazana stenoza renalne arterije, uz prisutan *parvus-tardus* spektar na doplerskom ultrazvučnom nalazu, maligne bolesti (tumori i leukemije). Kontrolnu skupinu činila su zdrava djeca

bez bubrežnih bolesti, arterijske hipertenzije, akutne i kronične bolesti koja ne uzimaju lijekove koji mogu utjecati na ispitivane parametre.

#### 4.2.1. Vrsta uzorka

Iz ciljane populacije biran je susljedni (engl. *consecutive*) uzorak djece tijekom hospitalizacije zbog kontrolne obrade, a prema redosljedu njihova dolaska. Iz kontrolne populacije biran je susljedni uzorak djece primljene na Kliniku zbog psihogenih bolova u trbuhu i glavobolja te bolova u prsištu, prema redosljedu prijma u bolnicu. Uzorak iz kontrolne populacije bio je usklađen s uzorkom iz ciljane populacije prema dobi i spolu.

#### 4.2.2. Potrebna veličina uzorka

Potrebnu veličinu uzorka izračunali smo za multivarijabilnu predikciju vrijednosti albuminurije linearnom regresijskom analizom. Minimalni klinički relevantan doprinos tri istraživana pokazatelja prediktivnoj vrijednosti šest standardnih pretkazatelja odredili smo kao parcijalni koeficijent determinacije  $R^2_{\text{part}} = 0,15$  što čini minimalnu standardiziranu mjeru veličine učinka od  $f^2 = 0,18$ . Željena statistička snaga određena je na 80%, a razina statističke značajnosti na  $p = 0,05$ . Pod tim preduvjetima završno je bilo potrebno 67 ispitanika. Računajući na  $\leq 10\%$  pogrešno prikupljenih podataka, inicijalno je potrebna veličina uzorka procijenjena na 75 ispitanika. Dodatno smo birali uzorak od 75 ispitanika iz zdrave, kontrolne populacije. Potrebna veličina uzorka izračunata je u programu: PASS 15 Power Analysis and Sample Size Software (2017). NCSS, LLC. Kaysville, Utah, USA, [ncss.com/software/pass](http://ncss.com/software/pass).

### 4.3. Postupci i metode

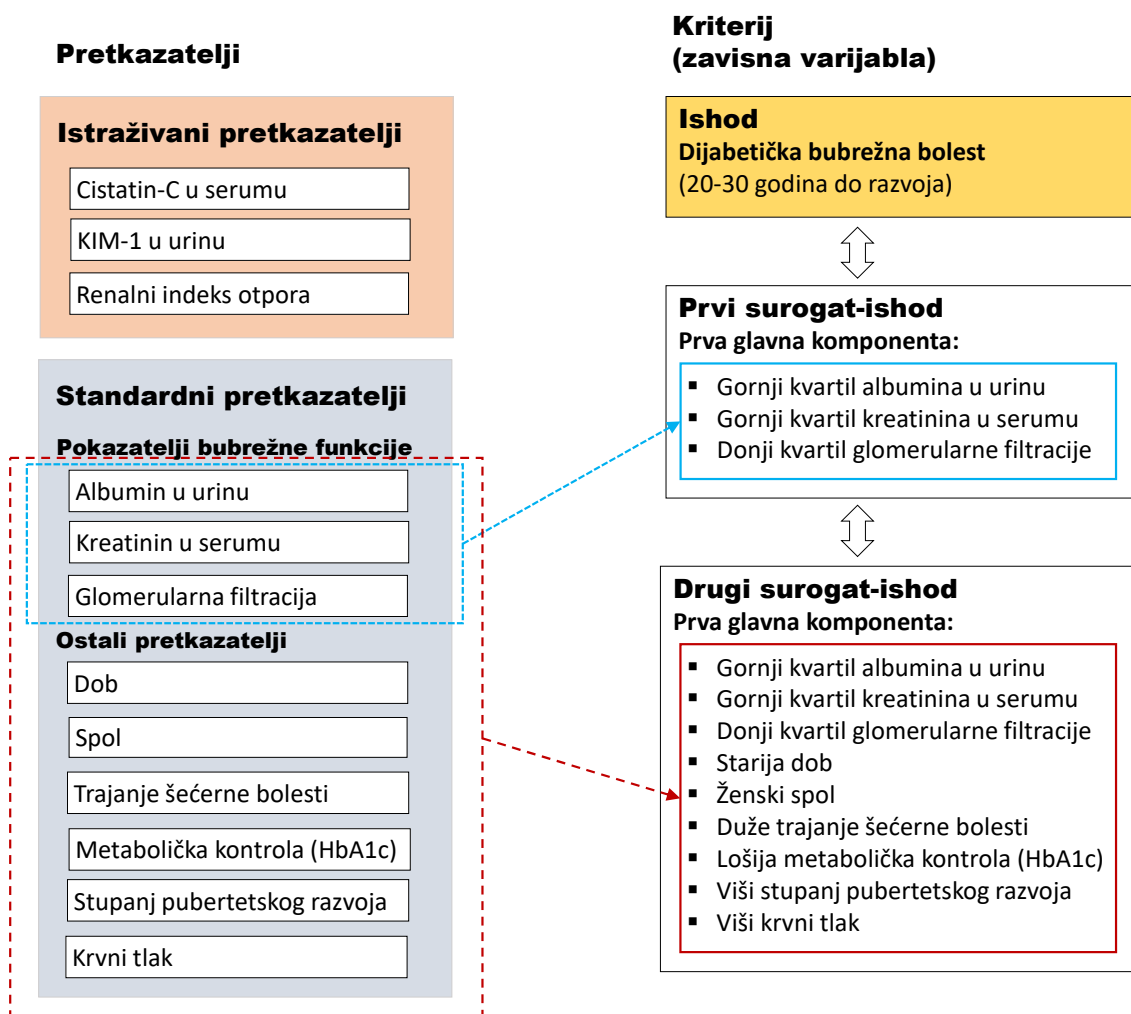
Svakom ispitaniku izmjerili smo tjelesnu visinu i tjelesnu masu, izračunali ITM, procijenili stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru te zabilježili podatke iz osobne i obiteljske anamneze, o dnevnoj dozi i vrsti inzulina, pridruženim bolestima štitnjače ili drugim autoimunim pridruženim bolestima. Svakom ispitaniku učinjen je ultrazvučni pregled bubrega u B modu i određen doplerski RI. Prikupili smo tri svježa uzorka urina za određivanje albumina i kreatinina te njihova omjera (mg/mmol), iz prvog uzorka urina određivao se KIM-1. Uzeli smo epruvetu krvi od 4 mL bez antikoagulansa dostatno za sve biokemijske pretrage uključujući hormone štitnjače, kreatinin u serumu, ureju u serumu, mokraćnu kiselinu, cistatin C, a HbA1c smo određivali DCA metodom. Svi uzorci krvi i urina obrađeni su u laboratoriju KBC Sestre milosrdnice i KBC Zagreb. Svakom ispitaniku izmjerili smo vrijednosti sistoličkoga i dijastoličkoga AT-a baždarenim sfigomanometrijskim uređajem u tri odvojene prigode, uz odgovarajuću orukvicu i stupnjevanje vrijednosti tlaka prema preporukama European Society of Hypertension ovisno o dobi, spolu i tjelesnoj visini (102).

#### 4.3.1. *Ishod (pokazatelji bubrežne funkcije)*

Zlatni standard ishoda u istraživanju istraživanih pretkazatelja DBB-a bio bi dokazan DBB. Međutim, do DBB-a u prosjeku dolazi 20 do 30 godina nakon početka ŠB-1 (41,42). Radi kliničke važnosti rane detekcije, ne možemo se ograničiti isključivo na takva istraživanja najveće dokazne snage, nego su nam nužni surogat-ishodi koji omogućavaju da se problem istraži brže, iako neizbježno manje valjano i pouzdano.



Prvi izbor za surogat-ishod bila bi albuminurija koja je današnji standard za probir i predviđanje razvoja DBB-a. Međutim, albuminurija sama nema dovoljnu pretkazateljsku valjanost (45). Da bismo povećali valjanost ishoda, prvi surogat-ishod, odnosno pokazatelj rizika od razvoja DBB-a, oblikovali smo kao kombinaciju poznatih pokazatelja bubrežne funkcije: albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a (Slika 1). Kako bismo dodatno povećali vjerojatnost da je naš surogat-ishod dobra mjera bubrežnoga oštećenja, nismo analizirali prosječne, već povišene vrijednosti albumina u urinu i kreatinina u serumu te snižene vrijednosti GFR-a. Da bismo dodatno povećali valjanost surogat-ishoda, oblikovali smo i drugi surogat-ishod, odnosno pokazatelj rizika od razvoja DBB-a, koji je osim tih triju pokazatelja bubrežne funkcije sadržavao i druge poznate pretkazatelje DBB-a: stariju dob, ženski spol, dulje trajanje šećerne bolesti, lošiju metaboličku kontrolu (HbA1c), viši stupanj pubertetskog razvoja te viši AT (Slika 1).



**Slika 1.** Konceptualni dijagram oblikovanja surogat-ishoda za analizu predviđanja DBB

Albumin u mokraći određivao se imunoturbidimetrijskom metodom na biokemijskom automatskom analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD) s originalnim reagensima. Koncentracija kreatinina u mokraći određivana je kinetičkom metodom s alkalnim pikratom na analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD) s originalnim reagensima. Normoalbuminurija definirana je omjerom albumin/kreatinin  $< 3$  mg/mmol. Omjer protein/kreatinin iz porcije urina (uzorak 10 ml) napravljen je kao test probira za ortostatsku proteinuriju. Analizirana su dva uzorka: uzorak prvoga jutarnjeg urina te uzorak urina uzet kasnije tijekom dana. U

slučaju kad je nalaz prvoga jutarnjeg urina bio negativan, a nalaz nakon tjelesne aktivnosti pozitivan, postavljena je sumnja na ortostatsku proteinuriju i dijete nije bilo uključeno u ispitivanje. Koncentracija proteina u mokraći određivana je na analizatoru Architect c8000 originalnim reagensima (Abbott, Abbott Park, IL, SAD) turbidimetrijskom metodom. GFR je bio procijenjen korištenjem Schwartzove formule (70).

#### 4.3.2. *Istraživani pretkazatelji*

##### 4.3.2.1. *Cistatin C*

Cistatin C je određen metodom PETIA (od engl. *Particle-enhanced turbidimetric immunoassay*) na analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD) korištenjem originalnog reagensa istog proizvođača. Čestice lateksa obložene antitijelima na humani cistatin C aglutiniraju kada se pomiješaju sa serumom koji sadrži cistatin C. Promjena apsorbancije zbog aglutinacije proporcionalna je koncentraciji cistatina C u uzorku seruma. Referentne vrijednosti za dječake i djevojčice u dobi od 2 do 19 godina su 0,62–1,11 mg/ml (108).

##### 4.3.2.2. *Doplerski renalni indeks otpora*

Doplerski RI određivao se na ultrazvučnom uređaju Philips Affiniti 50G s konveksnom sondom C6-2 (2 do 6 MHz) u položaju na leđima ili na boku. U intrarenalnim arterijama protok je spor, pa je bilo nužno namjestiti *wall filter* aparata na najnižu

moguću vrijednost, uz uporabu minimalne pulsirajuće opetovane frekvencije koja ne izaziva frekventno prebacivanje. Nakon toga je određen RI u interlobarnim ili arkuatnim arterijama oba bubrega, a bila su učinjena tri mjerenja s jasnim spektrima na tri različite krvne žile, na gornjoj, srednjoj i donjoj trećini oba bubrega. Na osnovi tih pojedinačnih mjerenja izračunala se srednja vrijednost RI-ja. RI je izračunat kao maksimalna sistolička brzina – minimalna dijastolička brzina / maksimalna sistolička brzina. Prag vrijednosti od 0,70 za povišenu vrijednost RI-ja u odraslih primjenjuje se u djece starije od šest godina (109). Sva mjerenja učinila je jedna osoba, a pregled je trajao oko 30 minuta.

#### 4.3.2.3. KIM-1

KIM-1 u porciji urina analizirao se imunoenzimskim testom ELISA (od engl. *Enzyme-linked immunosorbent assay*). Originalni naziv testa: Human kidney injury molecule 1 (KIM-1) ELISA kit (kat. br. CSB-E08807h). Test je namijenjen kvantitativnu određivanju KIM-1 u serumu, urinu i homogenatima tkiva. Princip testa: enzim imunokemija (kvantitativni sendvič-enzim imunoesej). KIM-1 iz uzorka veže se za specifična antitijela kojima je obložena mikrotitarska pločica. Nakon inkubacije, ukloni se nevezani dio i dodaje sekundarno antitijelo na KIM-1 obilježeno biotinom. U trećem koraku se uz pomoć enzimske reakcije (peroksidaza i supstrat TMB-a) ti kompleksi vizualiziraju – nastaje obojenje koje se mjeri fotometrijski. Koncentracija KIM-1 u urinima ispitanika očitava se iz standardne krivulje. Referentne su vrijednosti za KIM-1 u urinu prema dostupnoj literaturi 0,314–0,987 ng/ml (110–112).

#### 4.3.3. Ostale varijable

HbA1c određivao se na analizatoru DCA Vantage, Siemens, metodom aglutinacijske reakcije monoklonalnih antitijela. Uzorak za određivanje HbA1c je kapilarna krv, 1  $\mu$ L pune krvi. Razina metaboličke kontrole bolesti procjenjivala se na temelju prosječne vrijednosti HbA1c u posljednjih 12 mjeseci. Ciljana terapijska vrijednost HbA1c < 7% (113).

Hormoni štitnjače određivali su se imunokemiluminescentnom metodom sa specifičnim protutijelima na hormone hipofize, odnosno štitnjače, obilježenim akridinij-esterom na imunokemijskom analizatoru (Immulite 2000, Siemens, SAD) s originalnim reagensom. Referentne su vrijednosti FT3 2,9–4,9 pmol/L, FT4 10,5–15,9 pmol/L, TSH 0,58–3,6 mIU/L. Enzimski kreatinin u serumu određivao se na analizatoru Architect c8000 originalnim reagensima (Abbott, Abbott Park, IL, SAD) kinetičkom metodom s alkalnim pikratom. Referentna je vrijednost enzimskog kreatinina 40–72  $\mu$ mol/L. Mokraćna kiselina određivala se spektrofotometrijskom UV enzimskom analizom s prikazom na biokemijskom automatskom analizatoru Architect c8000 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, SAD) s originalnim reagensima. Referentna je vrijednost mokraćne kiseline 142–303  $\mu$ mol/L. Kolesterol se mjerio kolorimetrijskom enzimskom metodom s kolesterol-esterazom i 4-aminoantipirinom. HDL kolesterol određivao se homogenom kolorimetrijskom enzimskom metodom s akceleratorom (selektivnim detergentom), LDL kolesterol računskom metodom po Friedwaldu, trigliceridi su se mjerili kolorimetrijskom enzimskom metodom s lipazom 4-aminoantipirinom. Referentne su vrijednosti: ukupni kolesterol 0–4,7 mmol/L, LDL kolesterol 0–3 mmol/L, HDL kolesterol > 1,2 mmol/L, trigliceridi 0–1,7 mmol/L.

#### 4.4. Statistička analiza

Glavnu hipotezu provjerili smo simultanom kvantilnom regresijskom analizom na tri ciljana centila: 25., 50. i 75. Za potrebe opisa uzorka ispitanika kategorizirali smo dob, ITM, HbA1c i trajanje ŠB-1, ali smo se u analizama uvijek koristili isključivo izvornim, numeričkim ljestvicama. U analizi razlika uzoraka iz populacije djece sa ŠB-1 i zdrave populacije kao standardiziranu mjeru veličine uzorka izračunali smo Cliffov delta ( $\delta$ ) s 95-postotnim intervalima pouzdanosti (IP). U glavnim analizama koristili smo se prosječnim RI-jem na desnom i lijevom bubregu. Surogat-ishode oblikovali smo uz pomoć analize glavnih komponenta. Broj komponenta određivali smo uz pomoć Hornove paralelne usporedbe svojstvenih vrijednosti (engl. *eigenvalue*) dobivenih na matrici izmjerenih podataka i Monte-Carlo simulacije matrice dobivene na jednakom broju nasumičnih podataka. Dodatno smo broj komponenta provjeravali i analizom *scree* dijagrama prema Kaiserovom kriteriju svojstvenih vrijednosti  $> 1$ . Završni, eksplorativni multivarijabilni pretkazateljski model oblikovali smo uz pomoć klasifikacijskog i regresijskog stabla. Za završni model izračunali smo ukupnu točnost kao površinu ispod ROC krivulje, osjetljivost i specifičnost te pozitivne i negativne omjere izglednosti. Kontrolu inflacije pogreške tipa I radi višestrukih testiranja kontrolirali smo Benjamini-Hochbergovom metodom uz unaprijed određenu razinu stope lažnih otkrića (SLO)  $< 10\%$ . Razinu statističke značajnosti odredili smo na razini  $p < 0,05$  i sve IP izračunali na 95-postotnoj razini. Statistička analiza podataka učinjena je uz pomoć programa StataCorp 2019 (Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LLC).

## 5. REZULTATI

### 5.1. Opis uzorka

#### 5.1.1. Sociodemografske i vitalne karakteristike

U ispitivanje je uključeno 75 djece sa ŠB-1 i 75 iz kontrolne, zdrave populacije. Ispitanici iz zdrave populacije primljeni su u bolnicu; njih 47 (62%) zbog bolova u prsištu, 14 (19%) zbog sinkope, 13 (17%) zbog glavobolje i 1 (1%) zbog psihogenih bolova u trbuhu. Ukupni raspon dobi uključene djece bio je 10–18 godina u uzorku iz populacije sa ŠB-1 te 10–17 godina u uzorku iz kontrolne populacije (Tablica 5). U skupini sa ŠB-1 bilo je nešto više muških ispitanika, a dob, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru i ITM bili su nešto niži nego u uzorku zdrave djece. U obje ispitivane skupine djevojčice su bile nešto starije od dječaka. U skupini sa ŠB-1 medijan (IKR) dobi u dječaka iznosio je 14 (10–16) godina, a u djevojčica 15 (12–16) godina. U kontrolnoj skupini medijan (IKR) dobi u dječaka bio je 14 (12–17), a u djevojčica 15 (13–16) godina. Posljedično, u skupini sa ŠB-1, udio stupnja pubertetskog razvoja II po Tanneru bio je oko tri puta veći u dječaka, 16/39 (41%), nego u djevojčica, 5/36 (14%). Ako je dob povezana s trajanjem ŠB-1 pa onda i s težinom bubrežnoga oštećenja te ako je ženski spol, neovisno o drugim čimbenicima, povezan s gotovo tri puta većim izgledima za MA-u (91), u svim analizama unutar skupine sa ŠB-1 bit će nužno statistički kontrolirati mogući zbunjujući (engl. *confounding*) učinak spola.

**Tablica 5.** Sociodemografske i vitalne karakteristike ispitanika

	Šećerna bolest (n = 75)	Kontrolna skupina (n = 75)
Dob (godine), medijan (IKR)	14 (11–16)	15 (12–16)
Dob (godine), kategorizirano, n (%)		
10–12 godina	28 (37)	20 (27)
13–15 godina	28 (37)	34 (45)
16–18 godina	19 (25)*	21 (28)
Spol, n (%)		
muški	39 (52)	35 (47)
ženski	36 (48)	40 (53)
ITM (kg/m <sup>2</sup> ), medijan (IKR)	20 (18–23)	21 (19–25)
ITM (z-rezultat), medijan (IKR)	0,30 (-0,23–1,05)	0,40 (-0,27–1,25)
ITM (centil), medijan (IKR)	62 (41–85)	66 (39–89)
ITM (kg/m <sup>2</sup> ), kategorizirano, n (%)		
pothranjenost (< 5. centila)	2 (3)	3 (4)
normalno (5.–85. centila)	54 (72)	50 (67)
prekomjerna tjelesna masa (85.–94,9 centila)	17 (23)	13 (17)
pretilost (≥ 95. centila)	2 (3)*	9 (12)
Stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, n (%)		
II	21 (28)	8 (11)
III	12 (16)	19 (25)
IV	13 (17)	19 (25)
V	29 (39)	29 (39)
Pozitivna obiteljska anamneza	6 (8)	0 (0)

Podatci su prikazani kao broj (postotak) ispitanika, ako nije drukčije naznačeno

Legenda: IKR – interkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase, z – vrijednost standardizirana u terminima standardne devijacije

\* Suma postotaka nije 100% zbog zaokruživanja na cijeli broj



### *5.1.2. Kliničke karakteristike ispitanika sa šećernom bolešti tipa 1*

Ukupni raspon trajanja ŠB-1 bio je 2–15 godina, s medijanom (IKR) 6 (4–9) godina (Tablica 6). U 18 (24%) ispitanika trajanje ŠB-1 bilo je deset godina ili dulje, a u njih 56 (75%) ŠB-1 je dijagnosticiran prije puberteta. Ukupni raspon HbA1c bio je od 6,0% do 11,2%, s medijanom (IKR) 7,7 (6,82–8,4) (Tablica 6). Ukupno je 8 (11%) ispitanika imalo HbA1c < 6,5%, njih 19 (25%) < 7,0%, njih 34 (45%) < 7,5% te njih 60 (80%) manje od 8,5%. Medijan (IKR) doze inzulina iznosio je 0,76 (0,60–0,89) jedinica po kilogramu tjelesne mase.

**Tablica 6.** Kliničke karakteristike ispitanika

	Šećerna bolest (n = 75)
Pridružene bolesti, n (%)	
tiroiditis	13 (17)
autoimuni tiroiditis	11 (15)
celijakija	3 (4)
Trajanje ŠB-1 (godine), medijan (IKR)	6 (4–9)
Trajanje ŠB-1 (godine), kategorizirano, n (%)	
0–4 godine	23 (31)
5–9 godina	34 (45)
≥ 10 godina	18 (24)
Dijagnoza ŠB-1 u odnosu na početak puberteta, n (%)	
prije puberteta	56 (75)
tijekom puberteta	19 (25)
HbA1c (%), medijan (IKR)	7,7 (6,82–8,4)
HbA1c (%), kategorizirano, n (%)	
< 6,5	8 (11)
6,5–6,9	11 (15)
7,0–7,4	15 (20)
7,5–8,4	26 (35)
≥ 8,5	15 (20)*
Terapija, n (%)	
vrsta inzulina	
humani	5 (7)
analog	60 (80)
humani + analog	10 (13)
doza (jedinice/kg), medijan (IKR)	0,76 (0,60–0,89)
doza (jedinice) prema vrsti inzulina, medijan (IKR)	
humani	34 (23–36)
analog	45 (30–54)
humani + analog	36 (32–42)
doza (jedinice) prema trajanju ŠB-1, medijan (IKR)	
0–4 godine	38 (23–45)
5–9 godina	40 (25–51)
≥ 10 godina	53 (40–59)

Podatci su prikazani kao broj (postotak) ispitanika, ako nije drukčije naznačeno

Legenda: IKR – interkvartilni raspon; ITM – indeks tjelesne mase; z – vrijednost standardizirana u terminima standardne devijacije, HbA1c – glikozilirani hemoglobin

\* Suma postotaka nije 100% zbog zaokruživanja na cijeli broj

### 5.1.3. Krvni tlak i lipidni i drugi biokemijski pokazatelji

Krvni tlak, lipidni parametri i hormoni štitnjače bili su usporedivi između dvije ispitivane skupine (Tablica 7). Mokraćna kiselina i enzimski kreatinin u serumu bili su niži u ispitanika sa ŠB-1 nego u kontrolnoj skupini.

**Tablica 7.** Krvni tlak, lipidni i drugi biokemijski pokazatelji

	Šećerna bolest (n = 75)	Kontrolna skupina (n = 75)
	medijan (IKR)	medijan (IKR)
Krvni tlak (mmHg)		
sistolički	110 (100–115)	110 (100–120)
sistolički (centil)	42 (18–69)	44 (24–64)
dijastolički	70 (60–70)	70 (60–70)
dijastolički (centil)	55 (37–77)	64 (33–79)
Lipidni parametri (mmol/L)		
ukupni kolesterol	4,3 (3,9–4,8)	4,1 (3,6–4,5)
LDL	2,5 (2,0–2,9)	2,3 (1,9–2,6)
HDL	1,5 (1,3–1,7)	1,3 (1,2–1,5)
trigliceridi	0,7 (0,6–0,9)	0,9 (0,7–1,1)
Hormoni štitnjače		
FT3 (pmol/L)	4,3 (2,8–5,0)	4,7 (4,1–4,9)
FT4 (pmol/L)	12,4 (11,6–13,6)	12,3 (11,6–13,6)
TSH (mIU/L)	1,7 (1,1–2,3)	1,6 (1,3–2,3)
Mokraćna kiselina (umol/L)	247 (212–289)	283 (231–327)
Enzimski kreatinin u serumu (umol/L)	56 (46–64)	62 (54–71)

Legenda: IKR – interkvartilni raspon, ITM – indeks tjelesne mase; z – vrijednost standardizirana u terminima standardne devijacije

5.1.3.1. Povezanost albumina u urinu sa sociodemografskim i kliničkim parametrima u skupini sa šećernom bolešću tipa 1

S koncentracijom albumina u urinu bili su statistički značajno povezani uz SLO < 10% doza inzulina i kreatinin u serumu te statistički značajno, ali sa SLO > 10% HDL kolesterol i trigliceridi (Tablica 8). Svi ispitanici u obje skupine bili su normoalbuminurični (omjer albumin/kreatinin < 3mg/mmol).

**Tablica 8.** Povezanost koncentracije albumina u urinu sa sociodemografskim i kliničkim parametrima u oboljelih od ŠB-1 (n = 75)

	$\Delta_{\text{med}}$ (95% CI)	p
Dob (godine)	0,50 (-0,16–1,16)	0,134
Spol		
muški	0,00	
ženski	1,00 (-3,00–4,50)	0,620
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	0,45 (-0,10–1,01)	0,104
HbA1c (%)	1,02 (-0,84–2,87)	0,278
Trajanje ŠB-1 (godine)	0,17 (-0,38–0,71)	0,544
Terapija		
vrsta inzulina		
humani	0,00	
analog	5,00 (-2,79–12,79)	0,205
humani + analog	5,00 (-4,16–14,16)	0,280
doza (jedinice/kg)	0,14 (0,04–0,24)	0,007*
Lipidni parametri (mmol/L)		
ukupni kolesterol	0,00 (-2,72–2,72)	> 0,990
LDL	0,00 (-3,14–3,14)	> 0,999
HDL	-6,25 (-11,69–0,81)	0,025
trigliceridi	5,00 (0,49–9,51)	0,030
Krvni tlak (mmHg)		
sistolčki	0,07 (-0,07–0,20)	0,336
dijastolički	0,10 (-0,07–0,27)	0,255
Kreatinin u serumu (mmol/L)	0,55 (0,40–0,71)	<0,001*

Podatci su prikazani kao razlika medijana (95-postotni interval pouzdanosti te razlike)

Legenda: ITM – indeks tjelesne mase,  $\Delta_{\text{med}}$  – razlika medijana

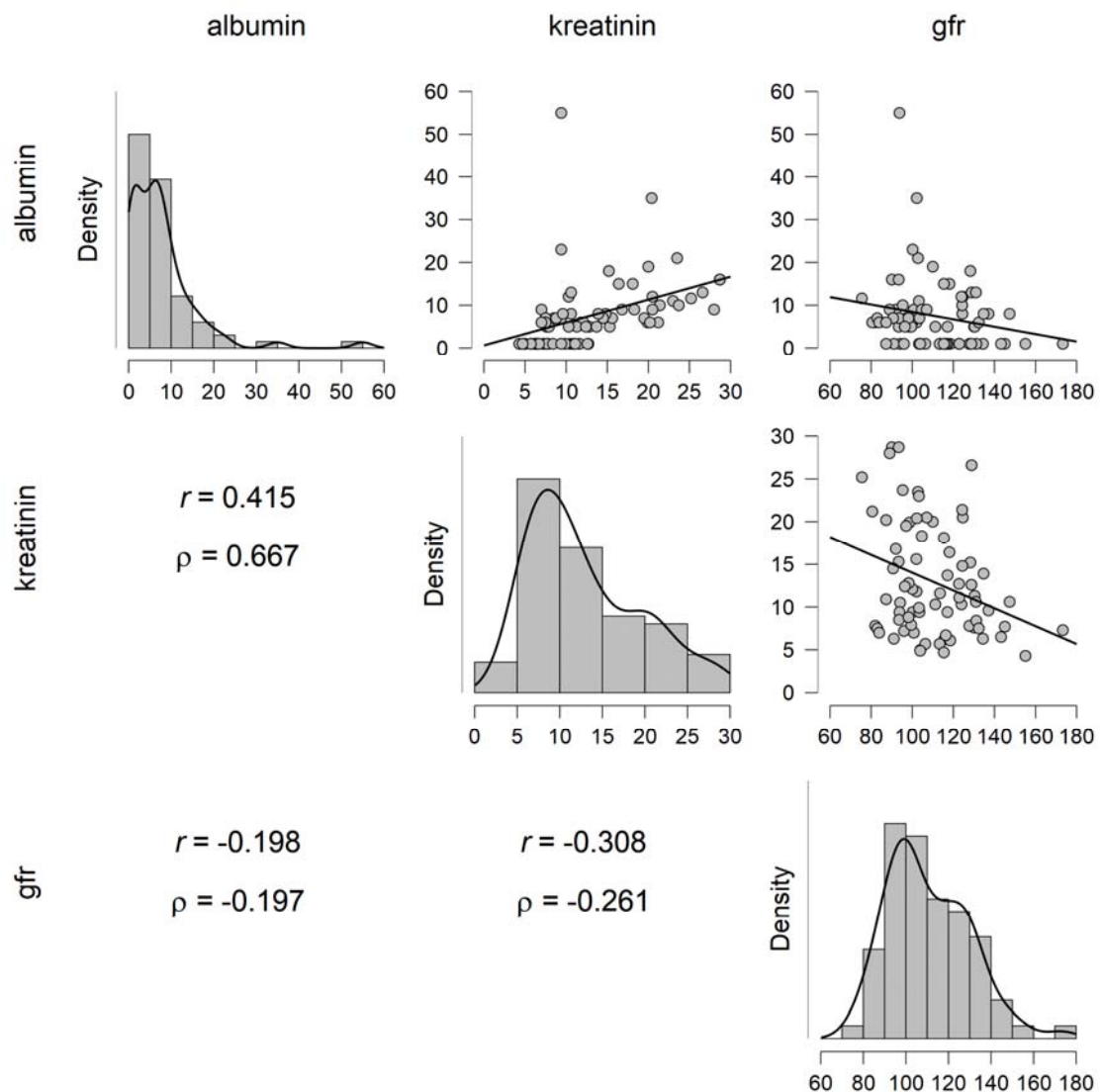
\* SLO < 10%

## 5.2. Kompozitni pokazatelji bubrežne funkcije

### 5.2.1. Prvi surogat-ishod

Prvi surogat-ishod oblikovan je uz pomoć analize glavnih komponenta koncentracija albumina i kreatinina te GFR-a samo na uzorku iz populacije sa ŠB-1. Pearsonove korelacije moment-produkta ( $r$ ) i Spearmanove korelacije ranga ( $\rho$ ) među prvim mjerenjima triju pokazatelja bubrežne funkcije iznosile su  $r = 0,42$ ,  $p < 0,001$ , SLO  $< 10\%$ ;  $\rho = 0,67$ ,  $p < 0,001$ , SLO  $< 10\%$  između koncentracija albumina i kreatinina,  $r = -0,20$ ,  $p = 0,088$ , SLO  $> 10\%$ ;  $\rho = -0,20$ ,  $p = 0,090$ , SLO  $> 10\%$ , između koncentracije albumina i GFR-a te  $r = -0,31$ ,  $p = 0,007$ , SLO  $< 10\%$ ;  $\rho = -0,26$ ,  $p = 0,024$ , SLO  $> 10\%$  između koncentracije kreatinina i GFR-a (Slika 2). Uz pomoć Hornove paralelne usporedbe svojstvenih vrijednosti (engl. *eigenvalue*) dobivenih na matrici izmjerenih podataka i Monte-Carlo simulacije matrice dobivene na jednakom broju nasumičnih podataka utvrđeno je postojanje samo jedne glavne komponente. Na samo jednu glavnu komponentu upućivala je i analiza *scree* dijagrama prema Kaiesrovu pravilu svojstvenih vrijednosti  $> 1$ . Prva glavna komponenta objašnjavala je 54% ukupne varijance spomenutih tri standardna pokazatelja bubrežne funkcije (svojstvena vrijednost = 1,62). Udjeli varijance pojedinih pokazatelja objašnjeni prvom glavnom komponentnom iznosili su 55% kod albumina, 66% kod kreatinina i 41% kod GFR-a. Keiser-Meyer-Olkinova mjera primjerenosti uzorkovanja bila je niska, ali prihvatljiva (KMO = 0,59). Za potrebe eksplorativne analize smo dodatno binarizirali novi surogat-ishod oko trećega kvartila, tako da je vrijednost 0 koju smo nazvali „niskim ili umjerenim rizikom“ predstavljala sve rezultate do 74. centila prve glavne komponente, a vrijednost

1 koju smo nazvali „visokim rizikom“ sve rezultate  $\geq 75$ . centila. U skupini „visokog rizika“ bilo je 18/75 (24%) ispitanika.



**Slika 2.** Točkasti dijagrami korelacija koncentracija albumina, kreatinina te GFR-a, histogrami raspodjela s kernel procjenom funkcije gustoće Epanechnikovom jezgrom te vrijednostima Pearsonova koeficijenta korelacije moment-produkta ( $r$ ) i Spearmanova koeficijenta korelacije ranga ( $\rho$ )

### 5.2.2. *Drugi surogat-ishod*

Drugi surogat-ishod oblikovan je uz pomoć analize glavnih komponenata koncentracija albumina i kreatinina, GFR-a te raspoloživih standardnih pretkazatelja DBB-a: spol, trajanje ŠB-1, metabolička kontrola operacionalizirana kao HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak izražen kao centil opće populacije odgovarajućeg spola i dobi. Paralelnom analizom utvrđeno je postojanje samo jedne relevantne glavne komponente koja je objašnjavala 33% varijance uključenih varijabli. Postotak varijance pojedinih manifestnih pokazatelja objašnjeni prvom glavnom komponentnom iznosio je 30% kod albumina, 34% kod kreatinina, 39% kod GFR-a, 2% kod spola, 13% kod trajanja, 14% kod HbA1c, 65% kod puberteta, 53% kod sistoličkoga i 57% kod dijastoličkoga arterijskog tlaka. Keiser-Meyer-Olkinova mjera primjerenosti uzorkovanja bila je zadovoljavajuća (KMO = 0,69). Za potrebe eksplorativne analize smo dodatno binarizirali drugi surogat-ishod oko trećega kvartila, tako da je vrijednost 0 koju smo nazvali „niskim ili umjerenim rizikom“ predstavljala sve rezultate do 74. centila (1,440788) prve glavne komponente, a vrijednost 1 koju smo nazvali „visokim rizikom“ sve rezultate  $\geq$  75. centila. U skupini „visokog rizika“ bilo je 18/75 (24%) ispitanika.

### 5.3. Istraživani pretkazatelji

U bivarijabilnim analizama svi su istraživani pretkazatelji bili statistički značajno različitih vrijednosti između ispitanika sa ŠB-1 i kontrolne skupine, ali je stopa lažnih otkrića kod cistatina C bila > 10% (Tablica 9). Nakon prilagodbe za dob, spol i ITM multivarijabilnom kvantilnom regresijom, cistatin C nije više bio statistički značajno različitih koncentracija između dvije skupine.

**Tablica 9.** Istraživani pretkazatelji bubrežnoga oštećenja

	Šećerna bolest (n = 75)	Kontrolna skupina (n = 75)	$\Delta$ (95% IP)	p	Cliffov delta
Bivarijabilna analiza					
CysC	0,91 (0,89–1,08)	0,97 (0,89–1,08)	-0,06 (-0,12–0,00)	0,040	-0,32
RI	0,61 (0,58–0,63)	0,58 (0,56–0,60)	0,03 (0,01–0,05)	<0,001*	0,40
KIM-1	0,26 (0,22–0,35)	0,21 (0,17–0,23)	0,05 (0,02–0,08)	<0,001*	0,50
Multivarijabilna analiza†					
CysC	0,91 (0,87–0,95)	0,95 (0,91–1,00)	-0,04 (-0,1–0,1)	0,139	
RI	0,61 (0,60–0,62)	0,58 (0,57–0,59)	0,03 (0,01–0,04)	<0,001*	
KIM-1	0,27 (0,25–0,28)	0,21 (0,19–0,22)	0,06 (0,03–0,09)	<0,001*	

Podatci su prikazani kao medijan (interkvartilni raspon) u bivarijabilnoj te kao medijan (95% IP) u multivarijabilnoj analizi

Legenda: CysC – cistatin C, RI – prosječni renalni indeks na oba bubrega,  $\Delta$  – razlika medijana, IP – interval pouzdanosti, p – statistička značajnost razlike izračunata kvantilnom regresijom, Cliffov delta – standardizirana mjera veličina učinka

\* SLO < 10%

† Multivarijabilna analiza prilagođena je dobi, spolu i ITM-u



## 5.4. Povezanost pojedinih istraživanih pretkazatelja s pokazateljima bubrežne funkcije

### 5.4.1. Ishod: Albumin u urinu

Ni jedan istraživani pretkazatelj nije bio statistički značajno povezan s koncentracijom albumina u urinu, ni u skupini sa ŠB-1 ni u kontrolnoj skupini, ni u bivarijabilnoj analizi, kao ni RI nakon prilagodbe za dob, spol i ITM. (Tablica 10, Slika 3).

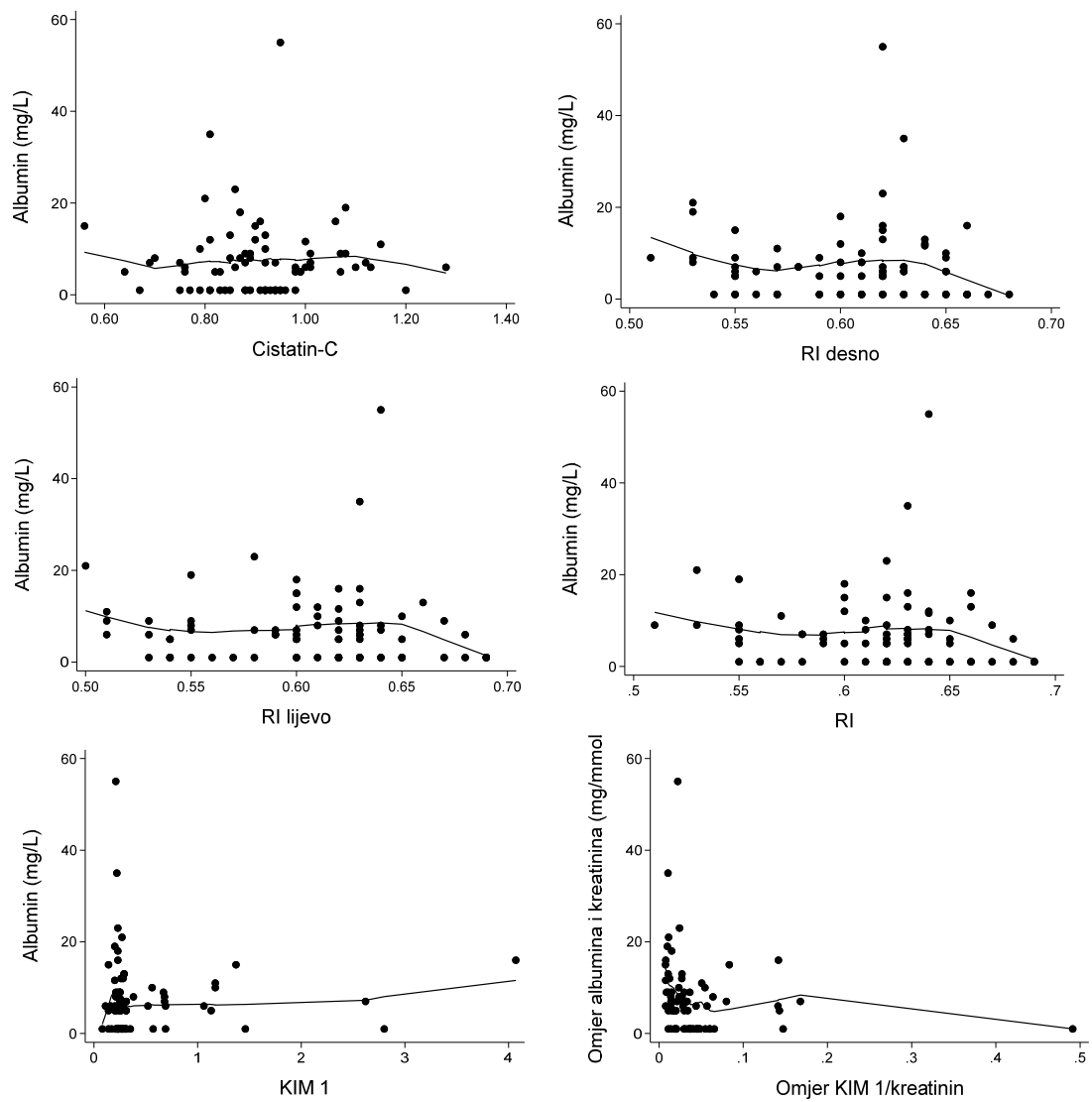
**Tablica 10.** Povezanost istraživanih pretkazatelja s razinom albumina u urinu

	Šećerna bolest (n = 75)			Kontrolna skupina (n = 75)			Razlika između dvije populacije		
	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p
Bivarijabilna analiza									
CysC	0	(-11–11)	> 0,999	-8	(-24–7)	0,285	8	(-14–31)	0,469
RI	-32	(-81–18)	0,209	17	(-46–80)	0,599	-48	(-118–21)	0,173
KIM-1	0,4	(-2,7–3,6)	0,790	-1	(-5–3)	0,606	1,5	(-4–7)	0,598
Multivarijabilna analiza†									
CysC	-5	(-12–3)	0,221	4	(-21–29)	0,767	-1	(-23–21)	0,921
RI	-24	(-71–23)	0,311	30	(-35–94)	0,359	-29	(-90–31)	0,342
KIM-1	1,7	(-2,4–5,8)	0,413	-1,6	(-8,0–4,8)	0,621	2,3	(-2,6–7,1)	0,351

Legenda: CysC – cistatin C, RI – prosječni renalni indeks na oba bubrega,  $\Delta_{med}$  – razlika medijana, IP – interval pouzdanosti, p – statistička značajnost razlike izračunata kvantilnom regresijom, Razlika između dvije populacije – interakcija istraživanih pretkazatelja i ispitivane skupine

\* SLO < 10%

† Multivarijabilna analiza prilagođena je dobi, spolu i ITM-u



**Slika 3.** Točkasti dijagram korelacije koncentracije albumina u urinu i istraživanih pretkazatelja; crta predstavlja 80% izglačanu krivulju lokalne polinomijalne regresije u uzorku iz populacije sa ŠB-1 (n = 75)

#### 5.4.2. Ishod: Kreatinin u serumu

Prosječni RI izmjeren na desnom i lijevom bubregu bio je statistički značajno povezan s koncentracijom kreatinina u serumu u bivarijabilnoj analizi, ali ne i nakon prilagodbe za dob, spol i ITM (Tablica 11, Slika 4). SLO je i u bivarijabilnoj analizi bio >10%. U uzorku iz kontrolne, zdrave populacije djece, povezanost niti jednoga novog pretkazatelja nije bila statistički značajno povezana s koncentracijom kreatinina u serumu. Razlika u povezanosti RI-ja i koncentracije kreatinina u serumu između uzorka iz populacije djece sa ŠB-1 i kontrolne, zdrave populacije nije bila statistički značajna.

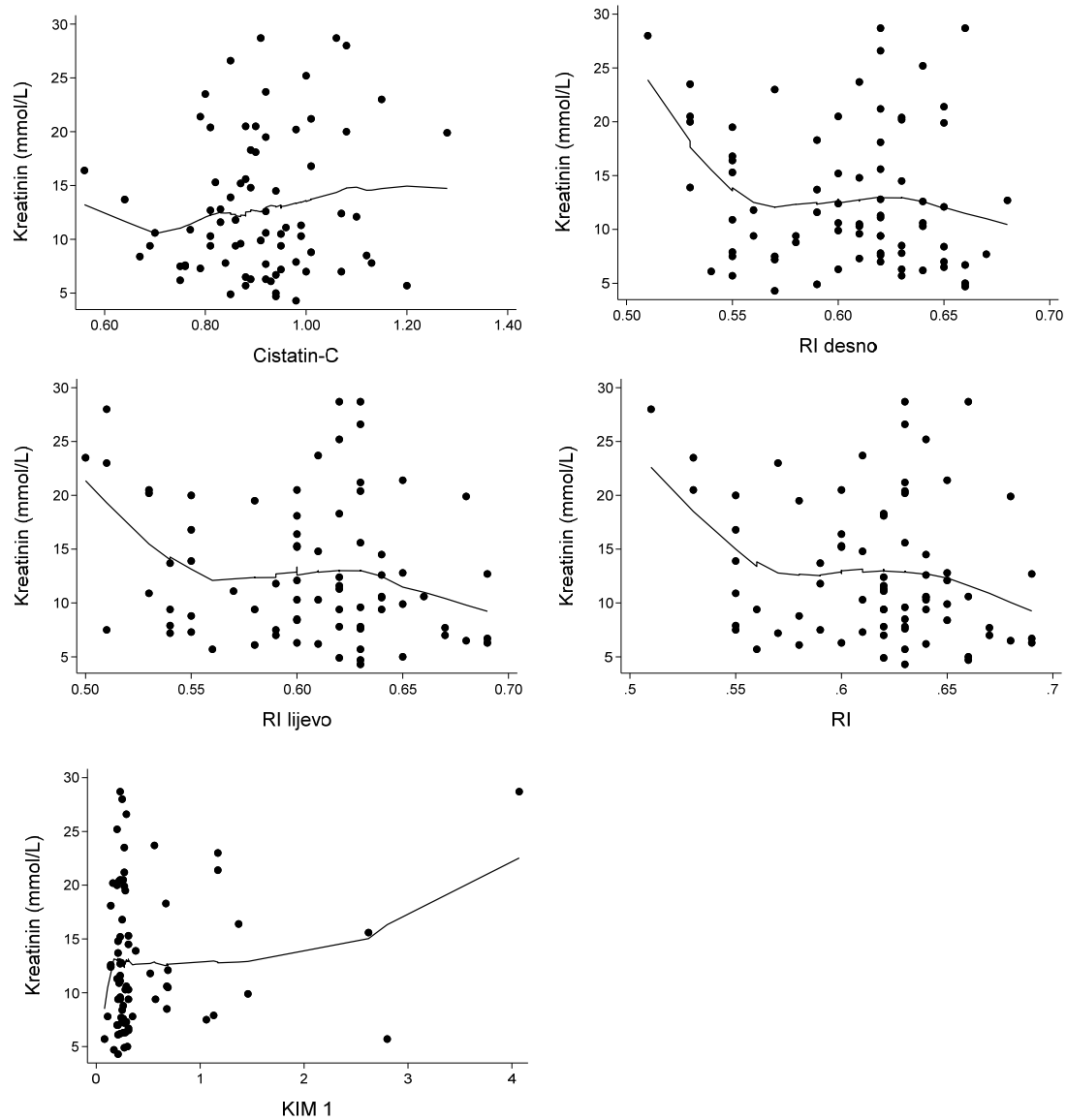
**Tablica 11.** Povezanost istraživanih pretkazatelja s koncentracijom kreatinina u serumu

	Šećerna bolest (n = 75)			Kontrolna skupina (n = 75)			Razlika između dvije populacije		
	$\Delta_{\text{med}}$	(95% IP)	p	$\Delta_{\text{med}}$	(95% IP)	p	$\Delta_{\text{med}}$	(95% IP)	p
Bivarijabilna analiza									
CysC	2	(-14–19)	0,773	0	(-15–15)	> 0,999	2	(-21–25)	0,836
RI	-57	(-108–-6)	0,030	0	(-55–55)	> 0,999	-57	(-133–19)	0,200
KIM-1	2	(-1–5)	0,183	0	(-4–4)	0,971	2	(-4–8)	0,473
Multivarijabilna analiza A †									
CysC	6	(-9–21)	0,424	1	(-18–20)	0,907	1	(-23–25)	0,934
RI	-47	(-101–8)	0,091	11	(-49–71)	0,726	-50	(-124–25)	0,188
KIM-1	2	(-1–5)	0,183	0	(-4–4)	0,971	2	(-4–8)	0,473

Legenda: CysC – cistatin C, RI – prosječni renalni indeks na oba bubrega,  $\Delta_{\text{med}}$  – razlika medijana, IP – interval pouzdanosti, p – statistička značajnost razlike izračunata kvantilnom regresijom, Razlika između dvije populacije – interakcija istraživanog pretkazatelja i ispitivane skupine

\* SLO < 10%

† Multivarijabilna analiza A prilagođena je dobi, spolu i ITM-u



**Slika 4.** Točkasti dijagrami korelacija koncentracije kreatinina u serumu i istraženih pretkazatelja; crta predstavlja 80% izglachu krivulju lokalne polinomijalne regresije u uzorku iz populacije sa ŠB-1 (n = 75)

### 5.4.3. Ishod: Glomerularna filtracija

Cistatin C bio je statistički značajan pretkazatelj GFR-a i u bivarijabilnoj analizi i nakon prilagodbe za dob, spol i ITM (Tablica 12, Slika 5), ali sa SLO > 10%. Drugi istraživani pretkazatelji nisu bili statistički značajno povezani s GFR-om ni u jednoj skupini. Razlike između sudionika sa ŠB-1 i sudionika iz kontrolne populacije nisu bile statistički značajne.

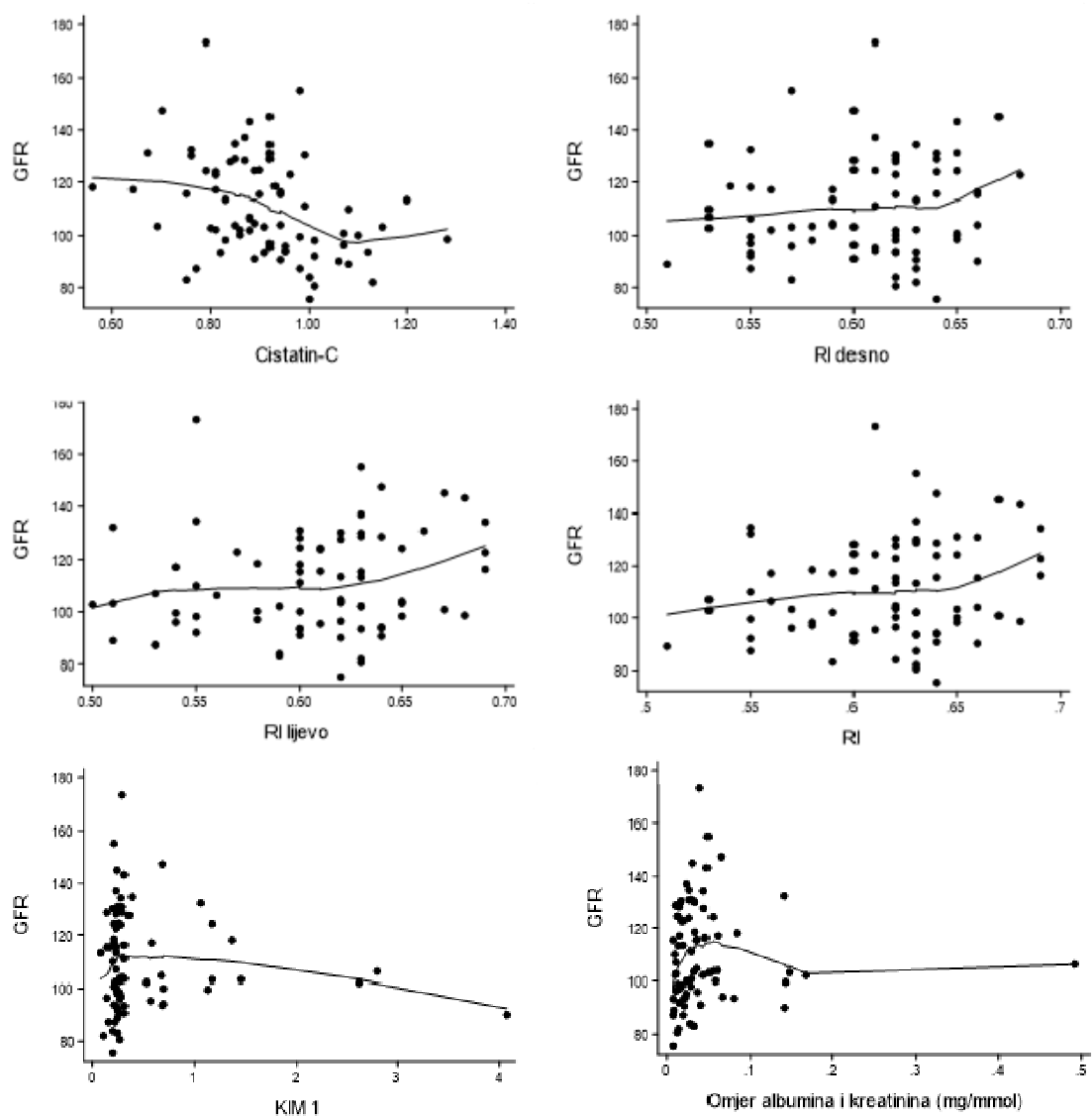
**Tablica 12.** Povezanost istraživanih pretkazatelja s GFR-om

	Šećerna bolest (n = 75)			Kontrolna skupina (n = 75)			Razlika između dvije populacije		
	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p
<b>Bivarijabilna analiza</b>									
CysC	-42	(-80--4)	0,029	-18	(-68--32)	0,485	-25	(-92--43)	0,470
RI	97	(-74--268)	0,262	122	(-23--267)	0,097	-25	(-265--214)	0,835
KIM-1	-3,0	(-12,1--6,0)	0,506	4	(-8--15)	0,546	-7	(-24--11)	0,469
<b>Multivarijabilna analiza A†</b>									
CysC	-35	(-67--3)	0,033	-14	(-56--29)	0,523	-7	(-56--42)	0,539
RI	16	(-82--113)	0,746	86	(-17--189)	0,101	-62	(-204--79)	0,386
KIM-1	0,5	(-10,4--11,4)	0,926	-4	(-14--6)	0,441	5	(-6--15)	0,363

Legenda: CysC – cistatin C, RI – prosječni renalni indeks na oba bubrega,  $\Delta_{med}$  – razlika medijana, IP – interval pouzdanosti, p – statistička značajnost razlike izračunata kvantilnom regresijom, Razlika između dvije populacije – interakcija istraživanih pretkazatelja i ispitivane skupine

\* SLO < 10%

† Multivarijabilna analiza prilagođena je dobi, spolu i ITM-u



**Slika 5.** Točkasti dijagrami korelacija GFR i istraživanih pretkazatelja; crta predstavlja 80% izglačanu krivulju lokalne polinomijalne regresije u uzorku iz populacije sa ŠB-1 (n = 75)

## **5.5. Povezanost svih istraživanih pretkazatelja sa surogat-pokazateljima rizika od bubrežne bolesti**

### *5.5.1. Prvi surogat-ishod, pokazatelj rizika od DBB-a*

Cistatin C i viši prosječni RI bili su neovisni, statistički značajni pretkazatelji visokih vrijednosti odnosno 75. centila prvoga surogat-ishoda, odnosno pokazatelja rizika od razvoja DBB-a, oblikovanoga prvom glavnom komponentom albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a (Tablica 13). Međutim, SLO je u oba slučaja bio > 10%.

### *5.5.2. Drugi surogat-ishod, završni pokazatelj rizika od DBB-a*

Cistatin C bio je statistički značajan pretkazatelj visokih vrijednosti, dakle 75. centila i drugoga surogat-ishoda, odnosno pokazatelja rizika od razvoja DBB-a oblikovanoga kao linearna kombinacija sva tri pokazatelja bubrežne funkcije (albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a) te raspoloživih standardnih pretkazatelja rizika od razvoja DBB-a: spol, trajanje ŠB-1, metabolička kontrola operacionalizirana kao HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak izražen kao centil opće populacije odgovarajućeg spola i dobi. (Tablica 13) Međutim, i u multivarijabilnoj je analizi SLO bio > 10%. RI je bio jedini neovisni, statistički značajan prediktor 75. centila drugoga surogat-ishoda uz SLO < 10%. KIM-1 nije bio statistički značajan pretkazatelj drugoga surogat-ishoda.

**Tablica 13.** Povezanost svih istraživanih pretkazatelja s pokazateljima bubrežne funkcije; multivarijabilna analiza u populaciji sa ŠB-1 (n = 5)

	Predikcija 25. centila			Predikcija medijana			Predikcija 75. centila		
	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{med}$	(95% IP)	p	$\Delta_{75c}$	(95% IP)	p
Ishod: Prvi surogat-ishod									
CysC	2,07	(-1,22–5,36)	0,213	2,86	(0,11–5,61)	0,042	2,24	(0,42–4,06)	0,016
RI	-6,61	(-14,71–1,49)	0,108	-9,16	(-17,04–-1,28)	0,023	-8,80	(-17,16–-0,45)	0,039
KIM-1	-0,13	(-1,11–0,85)	0,790	0,40	(-0,54–1,34)	0,400	0,54	(-0,14–1,21)	0,116
Ishod: Drugi surogat-ishod									
CysC	5,09	(1,00–9,19)	0,016	4,66	(0,60–8,72)	0,025	3,01	(0,21–5,81)	0,035
RI	-8,95	(-30,72–12,82)	0,415	-20,29	(-34,54–-6,04)	0,006*	-11,86	(-18,81–-4,90)	0,001*
KIM-1	0,74	(-0,66–2,13)	0,296	0,97	(-0,46–2,40)	0,182	0,63	(-0,65–1,91)	0,330

Legenda: CysC – cistatin C, RI – prosječni renalni indeks na oba bubrega,  $\Delta_{med}$  – razlika medijana, IP – interval pouzdanosti; p – statistička značajnost razlike izračunata kvantilnom regresijom

\* SLO < 10%



## 5.6. Završni, eksplorativni, multivarijabilni pretkazateljski model rizika od bubrežne bolesti

U eksplorativnu analizu klasifikacijskim i regresijskim stablom prvoga surogat-ishoda oblikovanoga kao prva glavna komponenta prvoga mjerenja albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a uključena su tri istraživana pretkazatelja: cistatin C, viši prosječni RI i KIM-1 te standardni pretkazatelji DBB-a: spol, trajanje ŠB-1, HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak. Identificirano je šest završnih čvorova (Slika 6).

Najvišu vrijednost prvoga surogat-ishoda imali su sudionici sa stupnjem pubertetskog razvoja po Tanneru  $> 4$ , a s  $KIM-1 \leq 0,22$  (Čvor 5, Slika 6). Takvih je u cijelom uzorku iz populacije sa ŠB-1 bilo 8 (11%). Njih 6/8 (75%) imalo je vrijednost prvoga surogat-ishoda veću od 75. centila svih sudionika (Tablica 14). Omjer izglednosti za rezultat prvoga surogat-ishoda  $\geq 75$ . centila, dakle osjetljivost/1-specifičnost, odnosno izgledi da će dijete rezultatom prvoga surogat-ishoda  $\geq 75$ . centila pripadati opisanoj skupini bili su 9,5 puta veći nego za dijete s rezultatom  $< 75$ . centila. Kada bismo u pojednostavnjenom pretkazateljskom modelu razlikovali djecu iz skupine opisane u čvoru 5 od sve ostale djece, specifičnost takva modela za rezultat prvoga surogat-ishoda  $\geq 75$ . centila iznosila bi 96%, ali bi osjetljivost bila svega 33%.

Sljedeći segment prema rezultatu na prvome surogat-ishodu činili su sudionici s pubertetskim razvojem po Tanneru  $> 4$ ,  $KIM-1 > 0,22$  te cistatinom  $C > 0,98$  (Čvor 10, Slika 6). Takvih je u cijelom uzorku iz populacije sa ŠB-1 bilo 6 (8%).

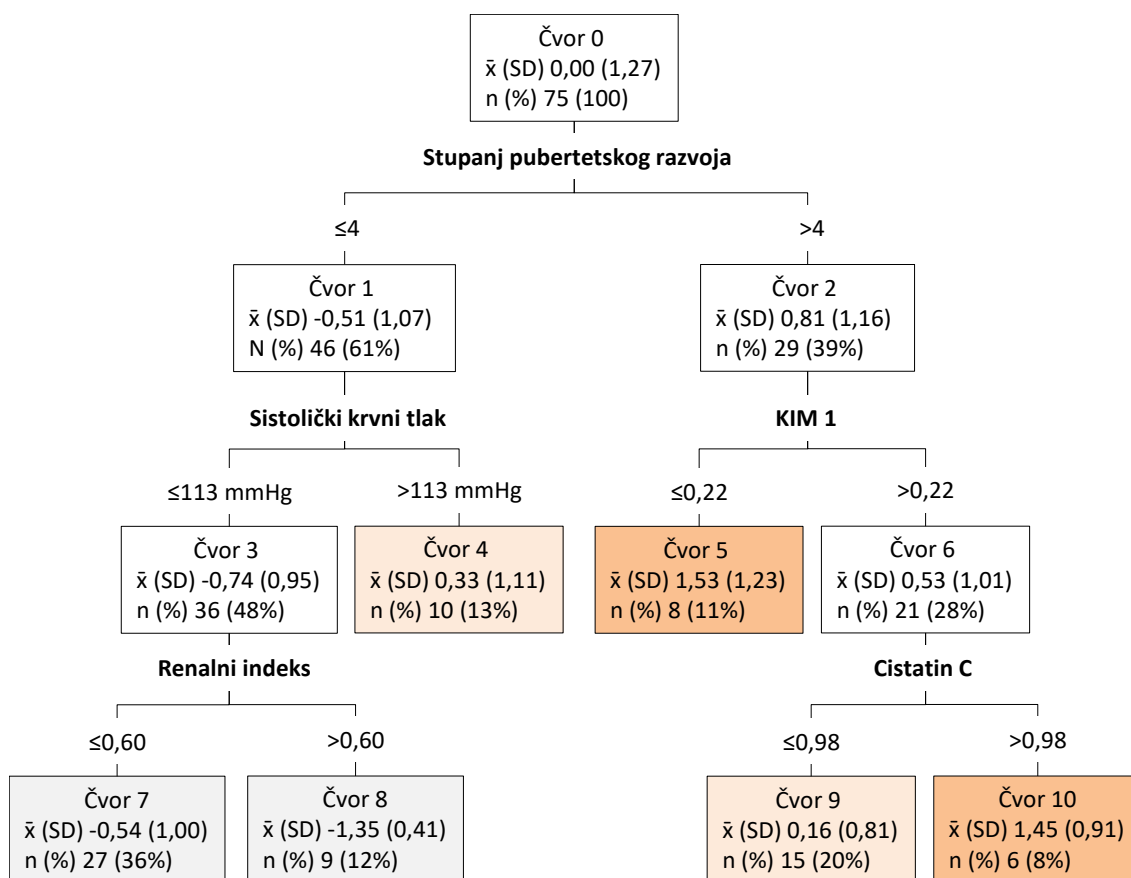
Zajedno su ta dva segmenta činila 14/75 (19%) cijelog uzorka iz populacije sa ŠB-1. Njihov relativni rizik za rezultat  $\geq 75$ . centila prvoga surogat-ishoda iznosio je RR=5,45 (95% IP 2,64 do 11,26;  $p < 0,001$ , SLO  $< 10\%$ ) u odnosu na ostale sudionike. Ukupna točnost predikcije rezultata  $\geq 75$ . centila prvoga surogat-ishoda iznosila je 84% (95% IP 74% do 91%) s osjetljivošću od 56% i specifičnošću od 93%. Pozitivna prediktivna vrijednost bila je 71%, a negativna prediktivna vrijednost 87%. Sudionici iz ovog segmenta imali su medijan (IKR) albumina u urinu 10 (6–16) mg/L u odnosu na 5 (1–8) mg/L u ostalih sudionika, kreatinina u serumu 20 (12–23) mmol/L u odnosu na 10 (7–15) mmol/L u ostalih te GFR-a 92 (87–102) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u odnosu na 114 (100–128) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u ostalih. Sve te tri razlike bile su statistički značajne (Mann-Whitney test  $U = 228$ ;  $z = -2,8$ ;  $p = 0,006$ , SLO  $< 10\%$  kod albumina,  $U = 181$ ;  $z = -3,4$ ;  $p = 0,001$  kod kreatinina te  $U = 150$ ;  $z = -3,8$ ;  $p < 0,001$ , SLO  $< 10\%$  kod GFR-a).

Treći segment prema rezultatu na prvome surogat-ishodu činili su sudionici sa stupnjem pubertetskog razvoja  $\leq 4$ , sa sistoličkim tlakom  $\leq 13$  mmHg (Čvor 4, Slika 6). Takvih je sudionika bilo 10 (13%) od svih sa ŠB-1.

Ako i taj segment dodamo dvama prethodnima, ukupna veličina uzorka s prepoznatim povišenim rizikom za razvoj DBB-a iznosi 24 (32%) od svih sa ŠB-1. Relativni rizik za rezultat  $\geq 75$ . centila prvoga surogat-ishoda iznosio je RR = 4,25 (95% IP 1,81 do 9,96;  $p < 0,001$ ; SLO  $< 10\%$ ), s ukupnom točnošću predikcije od 76% (95% IP 65% do 84%), osjetljivošću od 67%, specifičnošću od 79%, pozitivnom prediktivnom vrijednošću 50%, negativnom prediktivnom vrijednošću 88%, pozitivnim omjerom izglednosti 3,17

(95% IP 1,58 do 5,41), negativnim omjerom izglednosti 0,42 (95% IP 0,19 do 0,77). Sudionici iz ovog širega segmenta imali su medijan (IKR) albumina u urinu 8 (6-16) mg/L u odnosu na 5 (1-8) mg/L u ostalih sudionika, kreatinina u serumu 16 (1022 $\mu$ ) mmol/L u odnosu na 10 (7-15) mmol/L u ostalih te GFR 98 (88-103) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u odnosu na 117 (100-130) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> u ostalih. Sve te tri razlike bile su statistički značajne (Mann-Whitney test U = 307; z = -3,1; p = 0,002, SLO < 10% kod albumina, U = 258; z = -3,7; p < 0,001, SLO < 10% kod kreatinina te U = 283; z = -3,4; p = 0,001, SLO < 10% kod GFR-a).

Ukupna točnost završnoga pretkazateljskog modela u predikciji 75. centila prvoga surogat-ishoda iznosila je 80% (95% IP 0,71% do 0,89%) (Slika 7).



**Slika 6.** Klasifikacijsko i regresijsko stablo za predikciju rezultata na prvome surogat-ishodu rizika od DBB-a; uključeni prediktori: cistatin C, prosječni RI, KIM-1, spol, trajanje ŠB-1, HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak; tamnom narančastom bojom obojeni su završni čvorovi s rezultatom na prvome surogat-ishodu > 1 standardne devijacije; svijetlom narančastom bojom obojeni su završni čvorovi s rezultatom iznad prosjeka cijelog uzorka; sivom bojom obojeni su završni čvorovi s rizikom od DBB-a nižim od prosjeka cijelog uzorka iz populacije sa ŠB-1 (n = 75)

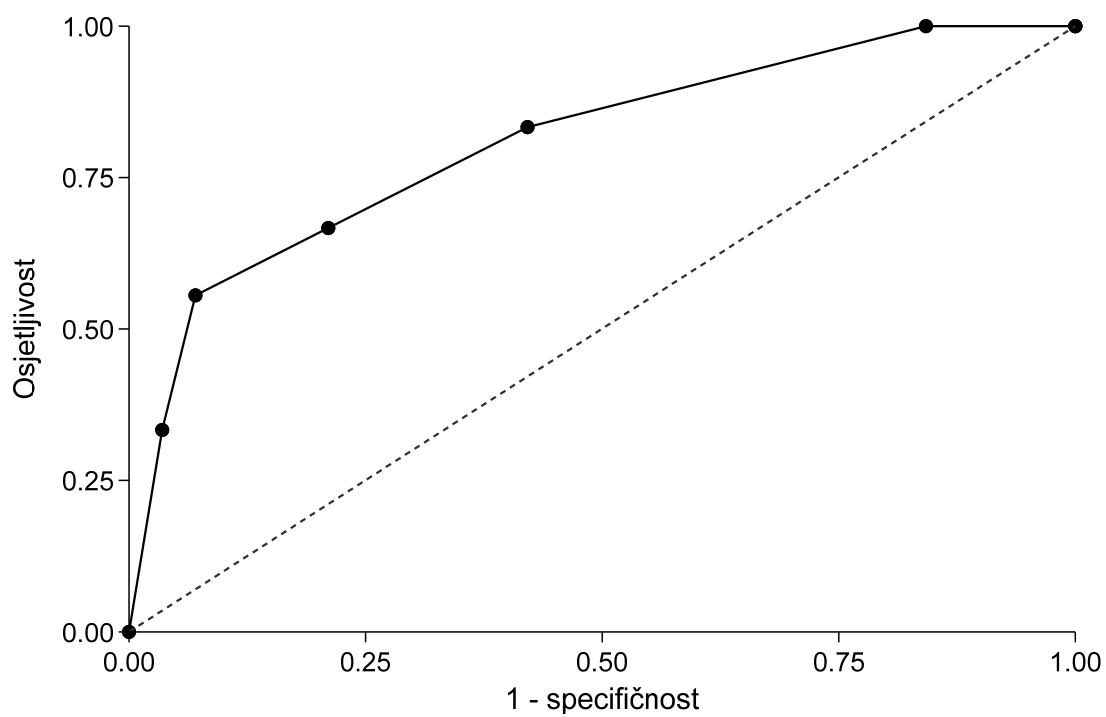
**Tablica 14.** Vrijednosti pokazatelja bubrežne funkcije u završnim čvorovima multivarijabilnog modela za predikciju prvoga surogat-ishoda rizika od DBB-a u uzorku iz populacije sa ŠB-1 (n = 75)

	Čvor 8 (n = 9 (12%))	Čvor 7 (n = 27 (36%))	Čvor 9 (n = 15 (20%))	Čvor 4 (n = 10 (13%))	Čvor 10 (n = 6 (8%))	Čvor 5 (n = 8 (11%))
Pokazatelji rizika od DBB-a						
Albumin u urinu (mg/L)	1 (1–1)	5 (1–8)	7 (1–13)	7 (6–9)	8 (6–11)	13 (6–27)
≥ 75. centila, n (%)	0 (0)	4 (15)	5 (33)	2 (20)	2 (33)	5 (63)
Kreatinin u serumu (mmol/L)	7 (6–8)	10 (8–14)	13 (8–18)	11 (9–15)	22 (20–28)	19 (10–20)
≥ 75. centila, n (%)	0 (0)	3 (11)	4 (27)	2 (20)	5 (83)	4 (50)
GFR (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> )	123 (115–134)	118 (103–130)	100 (94–124)	101 (94–111)	94 (89–100)	91 (86–106)
≤ 25. centila, n (%)	0 (0)	5 (19)	4 (27)	3 (30)	3 (50)	5 (63)
Prvi surogat-ishod	-1,2 (-1,7–-1,1)	-0,6 (-1,2–0,2)	0,5 (-0,4–0,8)	-0,1 (-0,2–0,1)	1,5 (0,9–2,1)	1,4 (0,5–2,6)
≥ 75. centila, n (%)	0 (0)	3 (11)	3 (20)	2 (20)	4 (67)	6 (75)
Δ; p	0 referentna	0,5 0,438	1,6 0,002*	0,9 0,097	2,9 < 0,001*	3,2 < 0,001*
pravilno klasificiranih kao						
≥ 75. centila prvoga surogat-ishoda	24%	36%	64%	76%	84%	81%
Osjetljivost	100%	100%	83%	67%	55%	33%
Specifičnost	0%	16%	58%	79%	93%	96%
Pozitivni omjer izglednosti	1,00	1,19	1,98	3,17	7,92	9,50
Negativni omjer izglednosti	0,00	0,00	0,29	0,42	0,48	0,69

Podatci su prikazani kao medijan (IKR) ako nije drukčije naznačeno

Legenda: DBB – dijabetička bubrežna bolest, GFR – glomerularna filtracija, Δ – razlika u odnosu na skupinu najmanjeg rizika od DBB-a (završni čvor 8) 75. centila prvoga surogat-ishoda, p – statistička značajnost izračunata kvantilnom regresijom

\* SLO < 10%



**Slika 7.** ROC krivulja završnoga pretkazateljskog modela za  $\geq 75.$  centila prvoga surogat-ishoda na uzorku iz populacije sa ŠB-1 (n=75)

## 6. RASPRAVA

### 6.1. Sažetak glavnih rezultata

Prvi opći cilj istraživanja bio je ispitati vrijednosti serumskoga cistatina C, doplerskog RI-ja, vrijednosti KIM-1 u urinu u oboljelih od ŠB-1 i zdravih ispitanika. Nakon prilagodbe za dob, spol i ITM, cistatin C nije bio statistički značajno različitih koncentracija između dvije skupine, a RI i KIM-1 u urinu bili su statistički značajno viši u skupini sa ŠB-1.

Drugi opći cilj bio je ispitati povezanost između vrijednosti serumskoga cistatina C, doplerskog RI-ja, KIM-1 u urinu s količinom albumina u urinu, GFR-om i kreatininom u serumu kao standardnim varijablama bubrežnoga oštećenja u oboljelih od ŠB-1 te u zdravih ispitanika. Nakon prilagodbe za spomenute kovarijate, istraživani pretkazatelji nisu bili statistički značajno povezani s koncentracijom albumina u urinu ni u jednoj od dvije istraživane skupine niti su povezanosti istraživanih pretkazatelja s koncentracijom albumina u urinu bile statistički značajno različite između dvije skupine.

U skupini sa ŠB-1 RI je bio statistički značajno, inverzno povezan s koncentracijom kreatinina u serumu prije prilagodbe za tri kovarijata. Druga dva istraživana pretkazatelja nisu bila statistički značajno povezana s koncentracijom kreatinina u serumu ni u jednoj skupini.

Cistatin C bio je u skupini sa ŠB-1 statistički značajno povezan s GFR-om i nakon prilagodbe za dob, spol i ITM. Niže vrijednosti cistatina C bile su povezane s povišenim

GFR-om. Drugi istraživani pretkazatelji ni u skupini sa ŠB-1 ni u kontrolnoj skupini nisu bili statistički značajno povezani s GFR-om niti je razlika između dvije skupine bila statistički značajna.

Prvi specifični cilj istraživanja bio je ispitati povezanost vrijednosti kreatinina u serumu, dobi, spola, ITM-a, HbA1c, trajanje ŠB-1, doza i vrste inzulina, vrijednosti lipida i arterijskoga krvnog tlaka s količinom albumina u urinu u oboljelih od ŠB-1. S koncentracijom albumina u urinu bili su statistički značajno povezani doza inzulina i kreatinin u serumu. HDL kolesterol i trigliceridi su također bili statistički značajno povezani s koncentracijom kreatinina u serumu.

Drugi specifični cilj istraživanja bio je odrediti multivarijabilnu povezanost serumskoga cistatina C, doplerskog RI-ja, KIM-1 u urinu s količinom albumina u urinu, GFR-om i kreatininom u serumu u oboljelih od ŠB-1. Naša hipoteza bila je da je korištenjem kombinacije pokazatelja glomerularnog (serumski cistatin C), vaskularnog (doplerski RI) i tubularnog (KIM-1 u urinu) oštećenja moguće razviti model za rano otkrivanje bubrežnoga oštećenja u djece sa ŠB-1. Prvi surogat-ishod, odnosno pokazatelj rizika od razvoja DBB-a, oblikovali smo kao prvu glavnu komponentu koncentracija albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a. Cistatin C i viši prosječni RI bili su neovisni, statistički značajni pretkazatelji visokih vrijednosti, odnosno 75. centila prvoga surogat-ishoda odnosno indikatora rizika od razvoja DBB-a.

Cistatin C i GFR bili su statistički značajni pretkazatelji visokih vrijednosti, dakle 75. centila i drugog surogat-ishoda, odnosno pokazatelja rizika od razvoja DBB-a



oblikovanoga kao linearna kombinacija sva tri pokazatelja bubrežne funkcije (albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a) te raspoloživih standardnih pretkazatelja DBB-a: spol, trajanje ŠB-1, metabolička kontrola operacionalizirana kao HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak izražen kao centil opće populacije odgovarajućeg spola i dobi. Time smo potvrdili hipotezu ovog istraživanja da je korištenjem kombinacije pokazatelja glomerularnog (serumski cistatin C), vaskularnog (doplerski RI) i tubularnog (KIM-1 u urinu) oštećenja moguće razviti model za rano otkrivanje bubrežnoga oštećenja u djece sa ŠB-1.

U eksplorativnoj analizi klasifikacijskim i regresijskim stablom u koju smo kao pretkazatelje uključili cistatin C, RI, KIM-1, spol, trajanje ŠB-1, HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak, a kao kriterij povišeni rezultat na prvome surogat-ishodu, odnosno indikatoru rizika od razvoja DBB-a, oblikovanome kao prva glavna komponenta koncentracija albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a, identificirani završni pretkazateljski model imao je ukupnu točnost klasifikacije djece od 80% (95% IP 0,71% do 0,89%). Model koji je obuhvaćao tri identificirane skupine djece s najvećim rizikom od razvoja DBB-a imao je ukupnu točnost od 76% (95% IP 65% do 84%), osjetljivost od 67% i specifičnost od 79%

## 6.2. Usporedba s dosadašnjim ispitivanjima

### 6.2.1. Vrijednosti istraživanih pretkazatelja u oboljelih od šećerne bolesti tipa 1 i zdravih

U ovoj studiji, nakon prilagodbe za dob, spol i ITM, cistatin C nije bio statistički značajno različitih koncentracija između dvije skupine, a RI i KIM-1 u urinu bili su statistički značajno viši u skupini sa ŠB-1. Cistatin C i KIM-1 u urinu u oboljelih nisu bili statistički značajno povezani s količinom albumina u urinu, a doplerski RI nakon prilagodbe za dob, spol i ITM također nije bio statistički značajno povezan s koncentracijom albumina u urinu u oboljelih, dok u zdravih ni jedan istraživani pretkazatelj nije bio statistički značajno povezan s koncentracijom albumina u urinu.

U studiji Nielsen i sur. vrijednosti KIM-1 u urinu su također bile više u oboljelih od ŠB-1 u odnosu na zdrave, pri čemu vrijednosti KIM-1 u urinu također nisu bile statistički značajno povišene u odnosu na albuminuriju u oboljelih od ŠB-1 (88). Upravo taj rezultat upućuje na rano oštećenje tubula, čak i prije pojave glomerularnog oštećenja i MA-e u oboljelih od ŠB-1. Ta činjenica govori i u prilog razmišljanju da vrijednosti KIM-1 u urinu nisu povišene u oboljelih kao posljedica „toksičnosti same albuminurije uslijed glomerularnog oštećenja“, već oštećenja proksimalnih tubula *per se*. Zanimljivo je istraživanje na tom tragu Vaidye i sur. koji su utvrdili povišene vrijednosti KIM-1 u urinu u normoalbuminuričnih i mikroalbuminuričnih oboljelih od ŠB-1 u odnosu na zdrave, a zatim praćenjem tijekom dvije godine utvrdili snižavanje vrijednosti KIM-1 u urinu, istodobno s regresijom MA-e u normoalbuminuriju (91). Rezultati ove studije

upućuju na potencijal tubularnog markera KIM-1 u urinu kao pretkazatelja, kako progresije tako i regresije MA-e. Za razliku od navedenih istraživanja, Panduru i sur. nisu dokazali da je KIM-1 u urinu važan pretkazatelj ranoga bubrežnoga oštećenja u oboljelih od ŠB-1 te da je u pozitivnoj korelaciji s albuminurijom (92). Nauta i sur. također nisu pronašli pozitivnu korelaciju između KIM-1 u urinu i albuminurije, iako su vrijednosti KIM-1 u urinu bile više u oboljelih nego u zdravih (114). U radu Aslan i sur. KIM-1 u urinu bio je povišen u oboljelih od ŠB-2 u odnosu na zdrave i bio je u pozitivnoj korelaciji s albuminurijom, a slični rezultati nađeni su u studiji Nowak i sur. u normoalbuminuričnih pacijenata oboljelih od ŠB-1, naglašavajući da oštećenje proksimalnih tubula ima zasebnu ulogu u razvoju ranoga bubrežnoga oštećenja u sklopu razvoja DBB-a (89,115). Zaključno, u našem istraživanju KIM-1 u urinu bio je statistički značajno viši u normoalbuminuričnih oboljelih u usporedbi sa zdravim sudionicima i nije bio u pozitivnoj korelaciji s albuminurijom, što govori o tubularnoj fazi bubrežnoga oštećenja kao vrlo ranoj i zasebnoj pojavi, neovisnoj o glomerularnom oštećenju i pojavi MA-e.

U ovom istraživanju oboljeli su imali i statistički značajno više vrijednosti doplerskog RI-ja u odnosu na zdrave, a nakon prilagodbe za dob, spol i ITM negativna povezanost RI-ja i koncentracije albuminina u urinu u oboljelih više nije bila statistički značajna. Vrijednosti doplerskog RI-ja u DBB-u povezane su s ranim hemodinamskim promjenama u bubregu te s povećanjem rezistencije u renalnom žilju (94). U odraslih oboljelih od ŠB-1 primijećeno je da su vrijednosti RI-ja više nego u zdravih i u pozitivnoj korelaciji s povišenim AT-om i trajanjem bolesti (93). Povišene vrijednosti doplerskog RI-ja u djece oboljele od ŠB-1 koja su normoalbuminurična opisuju u svom

radu Pellicia i sur. te Savino i sur. naglašavajući također važnost RI-ja u bubrežnoj hemodinamici i pretkliničkoj fazi DBB-a prije pojave MA-e (98,99). Youssef i sur. su u djece oboljele od ŠB-1 s trajanjem bolesti 3,5–7 godina pronašli statistički značajno više vrijednosti RI-ja nego u zdravih, ali bez povezanosti s albuminurijom (116). Za razliku od navedenoga, Okten i sur. nisu pronašli statistički značajnu razliku u vrijednostima RI-ja u djece oboljele od ŠB-1 i zdravih ni povezanost između albuminurije i RI-ja, te su zaključili da RI nije dobar pretkazatelj ranoga bubrežnoga oštećenja u oboljelih od ŠB-1 (100).

U ovom radu, kao i u većem broju istraživanja u djece oboljele od ŠB-1, RI je bio viši nego u zdravih i nije bio u korelaciji s koncentracijom albumina u urinu, iz čega se može zaključiti da je doplerski RI u normoalbuminuričnih oboljelih od ŠB-1 koristan pretkazatelj ranih hemodinamskih promjena u pretkliničkoj fazi bubrežnoga oštećenja (117,118).

Serumski cistatin C je protein, inhibitor serin proteaze, koji se slobodno filtrira kroz glomerul i u potpunosti reapsorbira kroz stanice proksimalnih tubula u zdravih osoba, što ga čini surogat-biljekom za GFR (71). Utjecaj na vrijednosti cistatina C u serumu imaju kortikosteroidna terapija, disfunkcija štitnjače (hipotireoza i hipertireoza), DKA (73,75). Dvojaki su podatci o utjecaju na njegovu vrijednost u serumu. Prema nekim studijama na njegovu vrijednost ne utječu spol, visina, mišićna masa i manje je pouzdan u dobi do tri godine, dok je u recentnom radu Ziegelasch i sur. zaključeno kako vrijednosti serumskoga cistatina C u zdrave djece ovise o stupnju puberteta u dobi od 11 do 14 godina, gdje su u muške djece znatno više vrijednosti sa stupnjem pubertetskog

razvoja po Tanneru 3 i 4, u usporedbi s dječacima u prepubertetu (119,120). U djevojčica iste dobi su vrijednosti serumskoga cistatina C, naprotiv, u negativnoj korelaciji sa stupnjem pubertetskog razvoja. Hipoteza je da tijekom rasta tijela postoji sve više tjelesnih stanica koje proizvode cistatin C, što je posebno zamjetno u dječaka u pubertetu zbog većeg zamaha rasta u odnosu na djevojčice. Također je pokazano da vrijednosti cistatina C ovise i o dobi, pri čemu su vrijednosti stabilne nakon treće godine života, a od 11. do 14. godine bilježi se porast medijana vrijednosti u muške djece od 0,98 mg/L i smanjenje u ženske od 0,86 mg/L u istom razdoblju. U ispitanika u ovom istraživanju, serumski cistatin C bio je niži u oboljelih, ali nakon prilagodbe za dob, spol i ITM nije bio statistički značajno različit u odnosu na zdravu skupinu i nije bio statistički značajno povezan s albuminurijom. U nekim studijama u kojima se istraživao značaj cistatina C u serumu u djece oboljele od ŠB-a kao pretkazatelja razvoja ranoga bubrežnoga oštećenja, nađene su znatno više vrijednosti cistatina C u oboljelih, uz pozitivnu korelaciju s koncentracijom albumina u urinu (73,121). Isto je viđeno i kod Jeon i sur. koji su u normoalbuminuričnih pacijenata sa ŠB-2 pronašli više vrijednosti serumskoga cistatina C u odnosu na zdrave, uz pozitivnu korelaciju s koncentracijom albumina u urinu (122). U studiji Papadopoulou-Marketou i sur. praćena su normoalbuminurična djeca oboljela od ŠB-1 i određivane su im vrijednosti serumskoga cistatina C i tubularnog biljega NGAL-a u urinu, pri čemu je zaključeno da je cistatin C viših vrijednosti u oboljelih i raste s pogoršanjem bubrežne funkcije (80). Nije nađena značajna povezanost s albuminurijom, što nameće zaključak da je cistatin C značajan biljeg bubrežnoga oštećenja prije pojave same MA-e, a slične rezultate pokazala su i druga istraživanja (123–125). U skladu s našim rezultatima je i istraživanje Maahs i sur. koji nisu pronašli statistički značajne razlike u vrijednostima serumskoga cistatina C u

zdrave djece i djece oboljele od ŠB-1 s trajanjem bolesti 8,7 (SD 2,9) godina, naglašavajući važnost utjecaja dobi i spola na vrijednosti serumskoga cistatina C (83). U radu Shankar i sur. usporedbom zdravih mladih i oboljelih od ŠB-1 nađene su statistički značajno niže vrijednosti serumskoga cistatina C u oboljelih, ali s obzirom na varijabilnost laboratorijskog određivanja cistatina C, zaključuju da vrlo vjerojatno nisu klinički značajne (126). Vrijednosti ovise i o dobi, što je u suprotnosti s već navedenim istraživanjem (119). Moguće objašnjenje nižih vrijednosti cistatina C u oboljelih je i povezanost s razvojem hiperfiltracije.

#### *6.2.2. Povezanost istraživanih pretkazatelja s indikatorima bubrežnoga oštećenja*

Od istraživanih pretkazatelja, samo je cistatin C u serumu bio u statistički značajnoj negativnoj korelaciji s GFR-om, ali uz SLO 10%>15%, dok KIM-1 u urinu i RI nisu bili povezani s GFR-om u oboljelih. Serumski kreatinin bio je statistički značajno negativno koreliran s RI-jem u oboljelih, dok cistatin C u serumu i KIM-1 u urinu nisu bili povezani s kreatininom. U zdravoj skupini istraživani pretkazatelji nisu bili povezani s kreatininom ni s GFR-om. U skladu s našim rezultatima su i rezultati već navedenih istraživanja (114,127,128). U normoalbuminurične djece sa ŠB-1 cistatin C u serumu negativno je koreliran s GFR-om, što znači da uz porast vrijednosti cistatina C dolazi do smanjenja GFR-a (80). Taj rezultat učvršćuje ulogu cistatina C kao pretkazatelja ranoga bubrežnoga oštećenja prije pojave MA-e. U istom radu dobivena je pozitivna korelacija između serumskoga cistatina C i serumskoga kreatinina u oboljelih, što u našem istraživanju nije bio slučaj. Većina istraživanja također ne nalazi povezanost KIM-1 u urinu i GFR-a, tumačeći to povezanošću GFR-a i glomerularnog

oštećenja i naglašavajući proksimalno tubularno oštećenje kao zasebnu fazu razvoja DBB-a (88,114). Doplerski RI i GFR nisu bili povezani u ovom istraživanju, kao ni u radu Pellicia i sur., za razliku od nekih drugih istraživanja u kojima je uočena pozitivna korelacija GFR-a i RI-ja, što se tumačilo ranom fazom hiperfiltracije i posljedičnom renalnom preglomerularnom vazodilatacijom i nižim RI-jem (98,100,116,118,129,130). Statistički značajna negativna povezanost RI-ja i serumskoga kreatinina u oboljelih od ŠB-1 u ovom istraživanju nije logična, pogotovo uzevši u obzir činjenicu da RI nije povezan s GFR-om, što isključuje mogućnost tumačenja takvog rezultata hiperfiltracijom. Navedeni rezultat je možda posljedica djelovanja nekog zbunjujućeg čimbenika koji trenutačno ne možemo objasniti ni klinički ni laboratorijski. Zaključno, u normoalbuminurične djece sa ŠB-1 cistatin C negativno korelira s GFR-om sugerirajući da porast vrijednosti cistatina C prati smanjenje GFR-a. Taj rezultat učvršćuje ulogu cistatina C kao pretkazatelja ranoga bubrežnoga oštećenja, prije pojave MA-e.

### *6.2.3. Rizični čimbenici za povišeni albumin u urinu*

ŠB-1 je povezan s mikrovaskularnim (DBB, retinopatija, neuropatija) i makrovaskularnim (hipertenzija, dislipidemija, ateroskleroza, kardiovaskularne bolesti) komplikacijama, što dugoročno može dovesti do završnoga stadija bubrežne bolesti, hipertenzije, oštećenja vida, parestezija, slabosti mišića, posturalne hipotenzije, gastropareze, pareze mokraćnoga mjehura, srčanih bolesti, bolesti perifernoga žilja te srčanoga i moždanoga udara. Djetinjstvo i adolescencija su razdoblja tijekom kojih se intenzivnom edukacijom i liječenjem može prevenirati i odgoditi nastanak komplikacija

(40). U multicentričnoj, randomiziranoj kliničkoj studiji „*Diabetes Control and Complications Trial*“ (DCCT) među adolescentima podijeljenima ovisno o tome jesu li primali intenziviranu ili konvencionalnu terapiju, pokazano je da intenzivirana terapija smanjuje rizik od razvoja dijabetičke retinopatije za 53%, kliničke neuropatije za 53% i razvoja MA-e za 54% (131). Drugi su rizični čimbenici za razvoj komplikacija ŠB-1 duže trajanje bolesti, starija dob, pubertet, ženski spol (132,133). Za isto trajanje bolesti, dob i bolest tijekom puberteta povećavaju rizik od razvoja MA-e (134). Povišen AT i promjene u varijabilnosti AT-a pridonose povećanom riziku od razvoja komplikacija (135,136). Dislipidemija u smislu povišenog ukupnog LDL kolesterola i triglicerida te nižeg HDL kolesterola, povišen ITM, celijakija kao pridružena bolest također pridonose povećanom riziku od razvoja DBB-a i ostalih komplikacija u sklopu ŠB-1 (137–140). U ispitanika oboljelih od ŠB-1 u ovom istraživanju, dob, spol, ITM, vrijednost HbA1c, trajanje bolesti, vrsta inzulina i vrijednost AT-a nisu bili statistički značajno povezani s količinom albumina u urinu. U radu Suh i sur. bila su uključena također normoalbuminurična djeca oboljela od ŠB-1 i nije nađena povezanost dobi, spola, ITM-a, vrijednosti HbA1c, trajanja bolesti, vrijednost AT-a s koncentracijom albumina u urinu (141). Nađena je znatna povezanost ukupnog kolesterola s albuminurijom. U ovom istraživanju u oboljelih od ŠB-1 postojala je znatna povezanost između koncentracije albumina u urinu i dislipidemije (viših vrijednosti triglicerida te nižih vrijednosti HDL kolesterola), što je u skladu i s drugim istraživanjima (139,142). U DCCT/EDIC studijama dokazana je povezanost dislipidemije i razvoja MA-e, što vodi povećanom riziku od razvoja ateroskleroze (137,143–145). Ateroskleroza pridonosi povećanom riziku od kardiovaskularnih bolesti u oboljelih od ŠB-1. Prema smjernicama probir na dislipidemiju potrebno je početi provoditi ubrzo nakon dijagnoze u dobi od 11



godina te ponavljati svakih pet godina, eventualno svake dvije godine u slučaju pozitivne obiteljske anamneze na hiperkolesterolemiju i kardiovaskularne bolesti (39). Uvođenje statina preporučuje se kod vrijednosti LDL kolesterola  $> 3,4$  mmol/L u djece starije od 11 godina, unatoč preporučenoj prehrani i tjelesnoj aktivnosti. Porast serumskoga kreatinina, uz pojavu povišenih vrijednosti albumina u urinu i smanjivanja GFR-a, jedan je od glavnih kriterija za probir na DBB (43). U ovom istraživanju uočena statistički značajna povezanost koncentracije albumina u urinu i serumskoga kreatinina u oboljelih koji su još uvijek normoalbuminurični govori da su albuminurija i serumski kreatinin pretkazatelji razvoja glomerularnog oštećenja bubrega. Inzulinska rezistencija prepoznata je kao čimbenik koji sudjeluje u progresiji DBB-a i kao dodatni kardiovaskularni rizik (7). Iako mehanizam nastanka nije u potpunosti razjašnjen, inzulinska rezistencija dovodi do važnih hemodinamskih promjena unutar samog bubrega, uključujući povećan tonus simpatičkoga živčanog sustava, hipertenziju i ubrzan razvoj ateroskleroze na bubrežnom mikrožilju. U odraslih oboljelih od ŠB-1 povećana inzulinska rezistencija povećava vjerojatnost razvoja DBB-a, uključujući raniju pojavu MA-e i brži pad GFR-a tijekom šest godina (66). Inzulinska rezistencija povezana je i s povećanim kardiovaskularnim rizikom, iako mehanizam nije jasan (146). Više doze inzulina, potrebne za metaboličku regulaciju bolesti, jedan su od pokazatelja inzulinske rezistencije, iako one ovise i o tjelesnoj aktivnosti, uzimanju ugljikohidrata, tipu inzulina (139). U ovom istraživanju nađena je statistički značajna povezanost albumina u urinu i količine inzulina, što je u skladu s literaturom (7,139). Zaključno, dislipidemija (viši trigliceridi i niži HDL kolesterol), viši serumski kreatinin i doza inzulina povezani su s povećanim rizikom od razvoja MA-e i DBB-a, a ujedno i s povećanim rizikom od razvoja ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti.

#### 6.2.4. *Multivarijabilna povezanost istraživanih pretkazatelja s pokazateljima bubrežnoga oštećenja*

Ovim istraživanjem utvrdili smo da su serumski cistatin C, KIM-1 u urinu i doplerski RI zajedno statistički značajno povezani s višom koncentracijom albumina u urinu, nižim GFR-om i višim kreatininom u serumu u oboljelih od ŠB-1. Time smo potvrdili hipotezu ovog rada da je korištenjem kombinacije pokazatelja glomerularnog (serumski cistatin C), vaskularnog (doplerski RI) i tubularnog (KIM-1 u urinu) oštećenja moguće razviti model za rano otkrivanje bubrežnoga oštećenja u djece sa ŠB-1.

MA se smatra najranijim biljekom razvoja DBB-a i često je povezana sa znatnim glomerularnim oštećenjem i zadebljanjem glomerularne bazalne membrane, uz koju se razvija i hiperfiltracija (147). Nedavne studije pokazale su da MA može biti i prolazna i ne mora nužno biti pokazatelj permanentnog renalnog oštećenja, već može doći i do regresije u normoalbuminuriju (47). U studiji Thorn i sur. zaključeno je da u 2% normoalbuminuričnih sa ŠB-1 već postoji KBB, uz postojanje povišenoga rizika od obolijevanja od kardiovaskularnih bolesti (67). Osim glomerularnih oštećenja, sve više istraživanja upućuje na važnost tubulointersticijskog oštećenja u razvoju i progresiji DBB-a (56). U nalazima bioptata bubrega pacijenata koji još nisu razvili MA-u vidljive su strukturne promjene koje obuhvaćaju i glomerul i tubulointersticij: zadebljanje glomerularne i tubularne bazalne membrane, difuzna ekspanzija mezangija te hijalinoza aferentnih i eferentnih arteriola. Navedeno je nađeno i u normoalbuminurične djece oboljele od ŠB-1 u prepubertetu, s prosječnim trajanjem bolesti pet do osam godina

(148). Serumski kreatinin i na temelju njegove vrijednosti procijenjen GFR rabe se kao pokazatelji bubrežne funkcije, no zbog nedovoljne osjetljivosti kreatinina da otkrije rane poremećaje u bubrežnoj funkciji te njegove nespecifičnosti, sve se više istražuju kombinacije drugih serumskih i tubularnih proteina kao pokazatelja bubrežne funkcije. Prema dostupnoj literaturi ovo je prvi rad u kojem je istraživani zajednički značaj serumskoga cistatina C, KIM-1 u urinu i doplerskog RI-ja kao pretkazatelja razvoja DBB-a u djece. Serumski cistatin C se relativno često ispituje kao pretkazatelj DBB-a u djece. Tako su Chae i sur. zaključili da je serumski cistatin C u djece oboljele od ŠB-1 i 2 kao pretkazatelj razvoja DBB-a superiorniji u odnosu na serumski kreatinin (121). Jeon i sur. ispitivali su serumski cistatin C i tubularni biljeg urinarni cistatin C u odraslih oboljelih od ŠB-2 i pronašli da su oba biljega značajni pretkazatelji razvoja DBB-a, pozitivno korelirani sa stupnjem albuminurije i negativno s GFR-om (122). U dvjema drugim studijama serumski cistatin C apostrofirani su kao pretkazatelj DBB-a (149,150). Za razliku od navedenih, u nekim drugim studijama promjene u vrijednostima cistatina C nisu bile značajno korelirane s promjenama vrijednosti GFR-a (82,151). Zanimljiv rezultat ovog rada je statistički značajna povezanost cistatina C u serumu, KIM-1 u urinu i doplerskog RI-ja zajedno s višom koncentracijom albumina u urinu i nižim GFR-om, što se razlikuje od rezultata drugoga općeg cilja istraživanja, gdje cistatin C i KIM-1 u urinu zasebno nisu bili povezani s koncentracijom albumina u urinu, a sa GFR-om je u negativnoj korelaciji bio samo cistatin C. Navedeno govori u prilog važnosti određivanja sva tri pretkazatelja DBB-a i značaja oštećenja na razini kako glomerula tako i tubula i bubrežnoga mikrožilja. Doplerski RI kao neinvazivna metoda za određivanje intrarenalnoga žilnog otpora za koji su odgovorne strukturne i

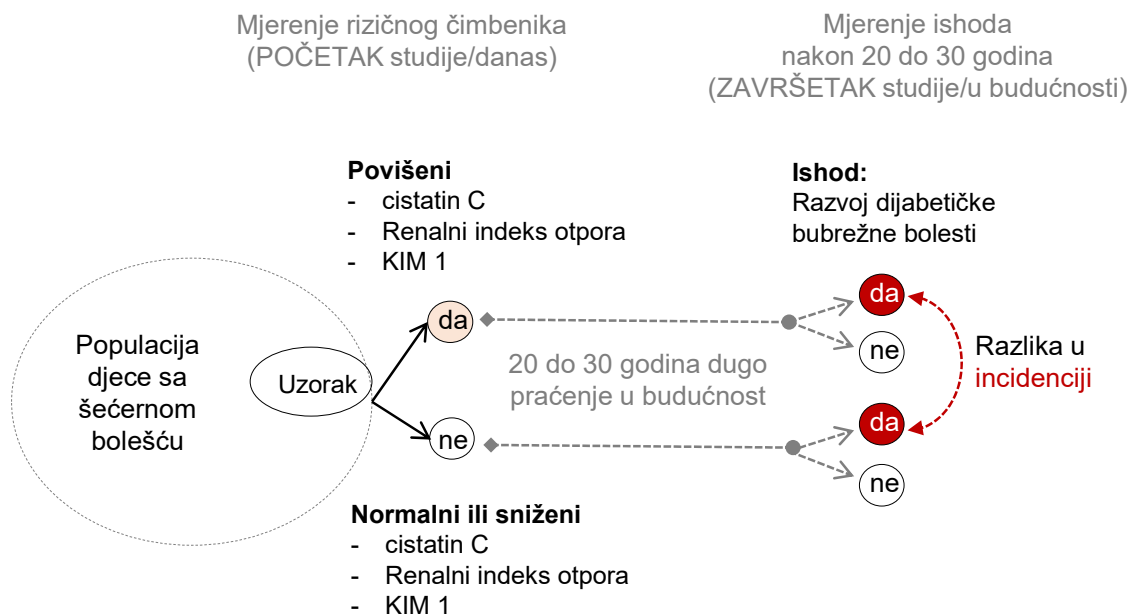
funkcionalne promjene prisutne nekoliko godina nakon početka bolesti pokazao se korisnim pretkazateljem DBB-a (94).

KIM-1 je transmembranski protein izoliran iz bubrežnih tubularnih stanica čovjeka i miša u vrlo malim količinama. Koncentracija KIM-1 u urinu raste zbog akutne bubrežne ozljede, kao i u oboljelih od ŠB-1 s bubrežnim oštećenjem. KIM-1 u urinu istaknuo se kao biljeg tubularnog oštećenja prije pojave albuminurije i glomerularnog oštećenja (44,90). Osim KIM-1 u urinu, istaknuli su se i drugi urinarni enzimi kao biljezi oštećenja tubulointercicija u oboljelih od ŠB-1, kao što su NAG, NGAL i L-FABP. Određivanjem doplerskog RI-ja i tubularnih biljega KIM-1, NGAL-a i L-FABP-a u adolescenata oboljelih od ŠB-1 nađen je porast svih pretkazatelja u odnosu na zdravu skupinu, uz pozitivnu korelaciju s koncentracijom albumina u urinu, zaključujući da su pretkazatelji „normoalbuminuričnog DBB-a“ (152). Podatci u literaturi o KIM-1 u urinu kao biljegu tubularnog oštećenja i pretkazatelja DBB-a upućuju na porast vrijednosti KIM-1 u urinu s porastom koncentracije albumina u urinu, gdje se porastom vrijednosti KIM-1 u normoalbuminuričnih pacijenata sa ŠB-1 u odnosu na zdrave tumače pojavom tubularnog oštećenja prije glomerularnoga (88). Petrica i sur. govore o normoalbuminuričnim pacijentima oboljelima od ŠB-2 s povišenim vrijednostima KIM-1 u urinu, također tumačeći to oštećenjem proksimalnih tubula koji nastaju rano u DBB-u (153). KIM-1 u urinu istraživao se u kombinaciji s drugim biljezima tubularnog i glomerularnog oštećenja. U radu Zeng i sur. nađeno je da su NGAL u urinu i cistatin C u serumu povišeni u normoalbuminuričnih pacijenata sa ŠB-2 u odnosu na zdrave osobe (154). U radu Nauta i sur. su normoalbuminurični oboljeli od ŠB-1 i 2 imali više vrijednosti KIM-1 i NGAL-a u urinu i serumskoga cistatina C u odnosu na zdrave, uz

pozitivnu korelaciju navedenih biljega s ITM-om, trajanjem bolesti i vrijednostima HbA1c (114). Serumski cistatin C, KIM-1 i NGAL u urinu su također bili u pozitivnoj korelaciji s koncentracijom albumina u urinu u odraslih sa ŠB-2, uz isticanje albuminurije kao jednoga od trenutno najvažnijih pretkazatelja razvoja DBB-a, uz zaključak da navedeni biljezi mogu pomoći u ranijem otkrivanju bubrežnoga oštećenja (155). Ovo istraživanje pokazalo je da normoalbuminurična djeca oboljela od ŠB-1 s urednom bubrežnom funkcijom imaju promjene koje upućuju na rano bubrežno oštećenje, a određivanje kombinacije serumskoga cistatina C, KIM-1 u urinu i doplerskog RI-ja je značajno u budućem preventivnom i terapijskom djelovanju u oboljelih.

### **6.3. Ograničenja istraživanja**

Zlatni standard ustroja istraživanja prognostičkih čimbenika jest prospektivna, kohortna studija u kojoj bi vrijednosti tri ispitivana prognostička čimbenika bila izmjerena pri uključivanju bolesnika, a zatim bi se nakon dovoljno vremena izmjerio ishod, odnosno incidencija DBB-a (Slika 8). S takvim, optimalnim, ustrojem postoji u ovom slučaju problem. Naime, s obzirom na to da se DBB razvija u prosjeku nakon 20 do 30 godina, studija bi trebala trajati barem toliko da bi se prikupio dovoljan uzorak bolesnika u kojih je došlo do ciljanog ishoda. To je moguće, ali nepraktično, i realno znači da bismo na rezultate koji mogu poboljšati skrb o djeci sa ŠB-1 morali čekati 20 do 30 godina. Takav ustroj studije bio bi i etički sporan jer bi zahtijevao da se tijekom praćenja ignoriraju danas poznati pokazatelji bubrežne funkcije, umjesto da se odmah klinički tretiraju rani znakovi mogućeg razvoja DBB-a.



**Slika 8.** Konceptualni dijagram metodološki optimalnog, ali realno nepraktičnog i etički spornog ustroja ove studije

Zato je bilo nužno odabrati drukčiji ustroj studije, odnosno drukčiji ciljani, ili surogat, ishod. Najbolji takav surogat-ishod jest: trenutačno najbolji skup pokazatelja bubrežne funkcije, odnosno trenutačno najbolji skup čimbenika za prognozu razvoja DBB-a. Glavno ograničenje ovog istraživanja jest u tom neoptimalnom ustroju studije i u uporabi surogat-ishoda. Na temelju rezultata ovog istraživanja i proučene literature nemoguće je pouzdano pretpostaviti u kojem smjeru bi djelovale time eventualno izazvane sustavne pogreške, kao ni kolika je njihova veličina. Jedino rješenje ove slabosti istraživanja jest u – kako je opisano – provođenju prospektivne kohortne studije dugog trajanja u kojoj bi ishod bio dijagnosticirani DBB. Sljedeće je ograničenje u veličini uzorka koja je bila nedovoljna da bi analiza bila provedena na još višim

vrijednostima ishoda, primjerice 80. 85. 90. ili čak 95. centilu, odnosno 20. 15. 10. ili čak 5. centilu GFR-a umjesto na 75. centilu (25. centilu GFR-a) kako je učinjeno. Teorijski je opravdano očekivati to veću valjanost standardnih pokazatelja bubrežne funkcije za procjenu povišenog rizika od razvoja DBB-a, što su njihove vrijednosti više. Međutim, više vrijednosti standardnih pokazatelja ima manja populacija djece, što znači da raste zahtjevnost biranja uzorka dovoljne veličine. Kompromisno je odabran 75. centil, kao visoka vrijednost koju ima dovoljno velika populacija djece. Iako je jasno da bi više ciljane vrijednosti standardnih pokazatelja značile veću valjanost ishoda, nemoguće je procijeniti smjer i veličinu djelovanja tog povećavanja valjanosti. Jedino rješenje ove slabosti istraživanja jest u novom istraživanju na većem uzorku te analiza viših vrijednosti standardnih pokazatelja. Nedovoljna veličina uzorka uzrok je i sljedećih dvaju ograničenja: nepostojanja djece s MA-om u uzorku te nemogućnosti provođenja interne validacije eksplorativnog pretkazateljskog modela. Kao i kod prethodnih ograničenja, nismo u stanju procijeniti vjerojatni smjer i veličinu time izazvanih sustavnih pogrešaka. Validaciju pretkazateljskog modela učinit ćemo u istraživačkom projektu tijekom dvije godine nakon obrane doktorske disertacije, dodatnim prikupljanjem uzorka od  $n = 100$  djece sa ŠB-1 iz iste populacije na kojoj je provedeno ovo istraživanje. Sljedeće ograničenje jest u tome što je istraživanje provedeno samo u jednoj ustanovi. Iz tog razloga je vanjska valjanost ovog istraživanja slabija te rezultate treba vrlo oprezno generalizirati na druge populacije.

## 7. ZAKLJUČCI

S obzirom na opće i specifične ciljeve, a na osnovi rezultata istraživanja, možemo zaključiti sljedeće:

1. KIM-1 u urinu i RI bili su značajno viši u oboljelih od ŠB-1 u usporedbi sa zdravom skupinom.
2. Serumski cistatin C, RI i KIM-1 u urinu nisu bili značajno povezani s koncentracijom albumina u urinu u obje skupine.
3. KIM-1 u urinu je viši u normoalbuminuričnih oboljelih od ŠB-1 u usporedbi sa zdravom skupinom te nije u pozitivnoj korelaciji s albuminurijom, što upućuje na tubularnu fazu bubrežnoga oštećenja kao vrlo ranu i zasebnu pojavu, neovisno o glomerularnom oštećenju i pojavi MA-e.
4. Doplerski RI je viši u oboljele djece i koristan je za procjenu ranih hemodinamskih promjena u pretkliničkoj fazi ranoga bubrežnoga oštećenja.
5. U oboljelih, cistatin C u serumu negativno je koreliran s GFR-om, što znači da porast njegove vrijednosti prati smanjenje GFR-a. Taj rezultat naglašava važnost uloge cistatina C kao pretkazatelja ranoga bubrežnoga oštećenja prije pojave MA-e.
6. S koncentracijom albumina u urinu u oboljelih nisu bili značajno povezani dob, spol, ITM, HbA1c i trajanje ŠB-1.
7. Dislipidemija (više vrijednosti triglicerida i niže HDL kolesterola), viši serumski kreatinin i doza inzulina u oboljelih od ŠB-1 povezani su značajno s koncentracijom albumina u urinu te s povećanim rizikom od razvoja MA-e i DBB-a.



8. Serumski cistatin C i RI bili su značajni pretkazatelji visokih vrijednosti prvoga surogat-ishoda (oblikovanoga kao kombinacija albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a) kao pokazatelja rizika od razvoja DBB-a u oboljelih od ŠB-1.
9. Serumski cistatin C i GFR bili su značajni pretkazatelji visokih vrijednosti drugoga surogat-ishoda kao pokazatelja rizika od razvoja DBB-a, a oblikovanoga kao linearna kombinacija sva tri pokazatelja bubrežne funkcije (albumina u urinu, kreatinina u serumu i GFR-a) te raspoloživih standardnih pretkazatelja DBB-a (spol, trajanje ŠB-1, metabolička kontrola operacionalizirana kao HbA1c, stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru, sistolički i dijastolički krvni tlak izražen kao centil opće populacije odgovarajućeg spola i dobi).
10. Korištenjem kombinacije pokazatelja glomerularnog (serumski cistatin C), vaskularnog (doplerski RI) i tubularnog (KIM-1 u urinu) oštećenja moguće je razviti model za rano otkrivanje bubrežnoga oštećenja u djece sa ŠB-1.
11. Normoalbuminurična djeca oboljela od ŠB-1 s urednom bubrežnom funkcijom imaju promjene koje upućuju na rano bubrežno oštećenje, a određivanje vrijednosti serumskoga cistatina C, KIM-1 u urinu i doplerskog RI-ja zajedno značajno je u budućem preventivnom i terapijskom djelovanju.

## 8. KRATKI SADRŽAJ NA HRVATSKOM JEZIKU

Dijabetička bolest bubrega (DBB) vodeći je uzrok završnoga stadija bubrežne bolesti, a albuminurija se smatra ranim pokazateljem bubrežnoga oštećenja u oboljelih od šećerne bolesti tipa 1 (ŠB-1). Nalazi biopsija bubrega učinjenih 1,5–2,5 godina nakon početka bolesti, a u djece koja su i dalje bila normoalbuminurična, pokazuju strukturne promjene u smislu zadebljanja glomerularne i tubularne bazalne membrane, a regresija u normoalbuminuriju u već albuminurične djece dovodi u pitanje albuminuriju kao rani pokazatelj razvoja DBB-a. Cilj je ovog istraživanja izrada klinički uporabljivog modela koji bi se temeljio na povezanosti cistatina C u serumu, doplerskog renalnog indeksa otpora (RI) i Kidney injury molecule-1 (KIM-1) u urinu sa standardnim pokazateljima bubrežne funkcije, a radi određivanja optimalnog modela za rano otkrivanje DBB-a. U istraživanje je uključeno 75 djece i adolescenata oboljelih od ŠB-1 sa normoalbuminurijom i urednom bubrežnom funkcijom u dobi od 10 do 18 godina te 75 zdrave djece u kontrolnoj skupini. Rezultati upućuju na povišeni KIM-1 u urinu i RI u oboljelih od ŠB-1 u usporedbi s metabolički zdravom populacijom, bez pozitivne korelacije s albuminurijom, što upućuje na tubularnu fazu bubrežnoga oštećenja kao vrlo ranu i zasebnu pojavu, neovisno o glomerularnom oštećenju i pojavi mikroalbuminurije (MA). U ovom istraživanju doplerski RI viši je u oboljele djece i koristan je za procjenu ranih hemodinamskih promjena u pretkliničkoj fazi ranoga bubrežnoga oštećenja. Dislipidemija (viši trigliceridi i niži HDL kolesterol), viši serumski kreatinin i doza inzulina povezani su s povećanim rizikom od razvoja MA-e i DBB-a, a ujedno i s povećanim rizikom od razvoja ateroskleroze i kardiovaskularnih bolesti, što je značajno za planiranje preventivnih i terapijskih intervencija. U zaključku

se može reći da normoalbuminurična djeca oboljela od ŠB-1 s urednom bubrežnom funkcijom imaju promjene koje upućuju na rano bubrežno oštećenje, a određivanje vrijednosti serumskoga cistatina C, KIM-1 u urinu i doplerskog RI-ja zajedno značajno je u budućem preventivnom i terapijskom djelovanju.

**Ključne riječi:** cistatin C, doplerski indeks bubrežnog otpora, KIM-1 u urinu, šećerna bolest tip 1, dijabetička bubrežna bolest, djeca

## 9. KRATKI SADRŽAJ NA ENGLESKOM JEZIKU

### **The combination of glomerular, vascular and tubular biomarkers of renal damage in early detection of diabetic kidney disease in children with diabetes mellitus type 1**

Ivana Trutin, 2021.

Diabetic kidney disease (DKD) is the leading cause of end-stage renal disease. Regression to normoalbuminuria in already albuminuric children calls into question albuminuria as an early indicator of DKD development. The aim of this study is to develop a clinically useful model based on the association of serum cystatin C, Doppler renal resistance index (RI) and kidney injury molecule-1 in urine (KIM-1) with standard indicators of renal function in order to determine the optimal model for early detection of DKD. The study included 75 children with type 1 diabetes (T1D), normoalbuminuria and normal renal function aged 10-18 years, and 75 healthy children in the control group. The results suggest that RI and urinary KIM-1 are higher in patients with T1D compared to the control group. In this study, RI is higher in affected children and is useful for assessing early hemodynamic changes in the preclinical phase of early renal impairment. Dyslipidemia, higher values of serum creatinine and insulin dose are associated with the increased risk of developing microalbuminuria and DKD.

In conclusion, combination of serum cystatin C, KIM-1 in urine and RI plays a significant role in future preventive and therapeutic action.

**Keywords:** Cystatin C, Doppler renal resistance index, urinary KIM-1, Type 1 Diabetes Mellitus, diabetic kidney disease, children

## 10. POPIS LITERATURE

1. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2009;10(Suppl 12):3-12. doi: 10.1111/j.1399-5448.2009.00568.x
2. Nadeau KJ, Anderson BJ, Berg EG, Chiang JL, Chou H, Copeland KC, i sur. Youth-onset type 2 diabetes consensus report: current status, challenges, and priorities. *Diabetes Care*. 2016;39(9):1635-42. doi: 10.2337/dc16-1066
3. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus—present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;8(4):228-36. doi: 10.1038/nrendo.2011.183
4. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, Imperatore G, Linder B, Divers J, i sur. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA*. 2014;311(17):1778-86. doi: 10.1001/jama.2014.3201
5. Rosenbloom AL, Joe JR, Young RS, Winter WE. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. *Diabetes Care*. 1999;22(2):345-54. doi: 10.2337/diacare.22.2.345
6. Dabelea D, Pihoker C, Talton JW, D'Agostino RB, Fujimoto W, Klingensmith GJ, i sur. Etiological approach to characterization of diabetes type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care*. 2011;34(7):1628-33. doi: 10.2337/dc10-2324
7. Bjornstad P, Donaghue KC, Maahs DM. Macrovascular disease and risk factors in youth with type 1 diabetes: time to be more attentive to treatment? *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6(10):809-20. doi: 10.1016/S2213-8587(18)30035-4
8. Bjornstad P, Cherney D, Maahs DM. Early diabetic nephropathy in type 1 diabetes: new insights. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2014;21(4):279-86. doi: 10.1097/MED.0000000000000074
9. Kershner AK, Daniels SR, Imperatore G, Palla SL, Pettitt DB, Pettitt DJ, i sur. Lipid abnormalities are prevalent in youth with type 1 and type 2 diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *J Pediatr*. 2006;149(3):314-9. doi: 10.1016/j.jpeds.2006.04.065
10. Mayer-Davis EJ, Kahkoska AR, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Gong CX, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19(Suppl 27):7-19. doi: 10.1111/pedi.12773
11. Felner EI, Klitz W, Ham M, Lazaro AM, Stastny P, Dupont B, i sur. Genetic interaction among three genomic regions creates distinct contributions to early- and late-onset type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes*. 2005;6(4):213-20. doi:

10.1111/j.1399-543X.2005.00132.x

12. Gale EA, Gillespie KM. Diabetes and gender. *Diabetologia*. 2001;44(1):3-15. doi: 10.1007/s001250051573
13. Harjutsalo V, Sjöberg L, Tuomilehto J. Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet*. 2008;371(9626):1777-82. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60765-5
14. Patterson CC, Gyürüs E, Rosenbauer J, Cinek O, Neu A, Schober E, i sur. Seasonal variation in month of diagnosis in children with type 1 diabetes registered in 23 European centers during 1989-2008: little short-term influence of sunshine hours or average temperature. *Pediatr Diabetes*. 2015;16(8):573-80. doi: 10.1111/pedi.12227
15. Lipman TH, Levitt Katz LE, Ratcliffe SJ, Murphy KM, Aguilar A, Rezvani I, i sur. Increasing incidence of type 1 diabetes in youth: twenty years of the Philadelphia Pediatric Diabetes Registry. *Diabetes Care*. 2013;36(6):1597-603. doi: 10.2337/dc12-0767
16. Berhan Y, Waernbaum I, Lind T, Möllsten A, Dahlquist G, Swedish Childhood Diabetes Study Group. Thirty years of prospective nationwide incidence of childhood type 1 diabetes: the accelerating increase by time tends to level off in Sweden. *Diabetes*. 2011;60(2):577-81. doi: 10.2337/db10-0813
17. Stipancic G, La Grasta Sabolic L, Malenica M, Radica A, Skrabic V, Tiljak MK. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes in Croatia from 1995 to 2003. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008;80(1):122-7. doi: 10.1016/j.diabres.2007.10.019
18. Rojnic Putarek N, Ille J, Spehar Uroic A, Skrabic V, Stipancic G, Krnic N, i sur. Incidence of type 1 diabetes mellitus in 0 to 14-yr-old children in Croatia–2004 to 2012 study. *Pediatr Diabetes*. 2015;16(6):448-53. doi: 10.1111/pedi.12197
19. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am*. 2005;52(6):1553-78. doi: 10.1016/j.pcl.2005.07.006
20. Roche EF, Menon A, Gill D, Hoey H. Clinical presentation of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2005;6(2):75–8. doi: 10.1111/j.1399-543X.2005.00110.x
21. Silverstein J, Klingensmith G, Copeland K, Plotnick L, Kaufman F, Laffel L, i sur. Care of children and adolescents with type 1 diabetes: a statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005;28(1):186-212. doi: 10.2337/diacare.28.1.186
22. Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1994;331(21):1428-36. doi: 10.1056/NEJM199411243312107
23. Cooper JD, Smyth DJ, Smiles AM, Plagnol V, Walker NM, Allen JE, i sur.

- Meta-analysis of genome-wide association study data identifies additional type 1 diabetes risk loci. *Nat Genet.* 2008;40(12):1399-401. doi: 10.1038/ng.249
24. Nguyen C, Varney MD, Harrison LC, Morahan G. Definition of high-risk type 1 diabetes HLA-DR and HLA-DQ types using only three single nucleotide polymorphisms. *Diabetes.* 2013;62(6):2135-40. doi: 10.2337/db12-1398
  25. Mehers KL, Gillespie KM. The genetic basis for type 1 diabetes. *Br Med Bull.* 2008;88(1):115-29. doi: 10.1093/bmb/ldn045
  26. Knip M. Pathogenesis of type 1 diabetes: implications for incidence trends. *Horm Res Paediatr.* 2011;76(Suppl 1):57-64. doi: 10.1159/000329169
  27. Erlich H, Valdes AM, Noble J, Carlson JA, Varney M, Concannon P, i sur. HLA DR-DQ haplotypes and genotypes and type 1 diabetes risk: analysis of the type 1 diabetes genetics consortium families. *Diabetes.* 2008;57(4):1084-92. doi: 10.2337/db07-1331
  28. Watkins RA, Evans-Molina C, Blum JS, DiMeglio LA. Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res.* 2014;164(2):110-21. doi: 10.1016/j.trsl.2014.02.004
  29. Steck AK, Barriga KJ, Emery LM, Fiallo-Scharer RV, Gottlieb PA, Rewers MJ. Secondary attack rate of type 1 diabetes in Colorado families. *Diabetes Care.* 2005;28(2):296-300. doi: 10.2337/diacare.28.2.296
  30. Hyöty H, Taylor KW. The role of viruses in human diabetes. *Diabetologia.* 2002;45(10):1353-61. doi: 10.1007/s00125-002-0852-3
  31. Vaarala O, Knip M, Paronen J, Hämäläinen AM, Muona P, Väättäinen M, i sur. Cow's milk formula feeding induces primary immunization to insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes.* 1999;48(7):1389-94. doi: 10.2337/diabetes.48.7.1389
  32. Couper JJ, Haller MJ, Greenbaum CJ, Ziegler A-G, Wherrett DK, Knip M, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: stages of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2018;19(Suppl 27):20-7. doi: 10.1111/pedi.12734
  33. Quinn M, Fleischman A, Rosner B, Nigrin DJ, Wolfsdorf JI. Characteristics at diagnosis of type 1 diabetes in children younger than 6 years. *J Pediatr.* 2006;148(3):366-71. doi: 10.1016/j.jpeds.2005.10.029
  34. Wolfsdorf JI, Glaser N, Agus M, Fritsch M, Hanas R, Rewers A, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: diabetic ketoacidosis and the hyperglycemic hyperosmolar state. *Pediatr Diabetes.* 2018;19(Suppl 27):155-77. doi: 10.1111/pedi.12701
  35. Insel RA, Dunne JL, Atkinson MA, Chiang JL, Dabelea D, Gottlieb PA, i sur. Staging presymptomatic type 1 diabetes: a scientific statement of JDRF, the



- Endocrine Society, and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2015;38(10):1964-74. doi: 10.2337/dc15-1419
36. Danne T, Phillip M, Buckingham BA, Jarosz-Chobot P, Saboo B, Urakami T, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: insulin treatment in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2018;19(Suppl 27):115-35. doi: 10.1111/pedi.12718
  37. Bangstad H-J, Danne T, Deeb LC, Jarosz-Chobot P, Urakami T, Hanas R, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2006-2007. Insulin treatment. *Pediatr Diabetes*. 2007;8(2):88-102. doi: 10.1111/j.1399-5448.2007.00233.x
  38. DiMaggio LA, Evans-Molina C, Oram RA. Type 1 diabetes. *Lancet*. 2018;391(10138):2449-62. doi: 10.1016/S0140-6736(18)31320-5
  39. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA, Wong TY, Chiarelli F, Marcovecchio ML, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2014;15(Suppl 20):257-69. doi: 10.1111/pedi.12180
  40. Donaghue KC, Marcovecchio ML, Wadwa RP, Chew EY, Wong TY, Calliari LE, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018. Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19(Suppl 27):262-74. doi: 10.1111/pedi.12742
  41. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, i sur. IDF Diabetes Atlas: global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017;128:40-50. doi: 10.1016/j.diabres.2017.03.024
  42. Rossing P. Diabetic nephropathy: worldwide epidemic and effects of current treatment on natural history. *Curr Diab Rep*. 2006;6(6):479-83. doi: 10.1007/s11892-006-0083-y
  43. Bogdanović R. Diabetic nephropathy in children and adolescents. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(4):507-25. doi: 10.1007/s00467-007-0583-2
  44. Papadopoulou-Marketou N, Kanaka-Gantenbein C, Marketos N, Chrousos GP, Papassotiriou I. Biomarkers of diabetic nephropathy: a 2017 update. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2017;54(5):326-42. doi: 10.1080/10408363.2017.1377682
  45. Glasscock RJ. Is the presence of microalbuminuria a relevant marker of kidney disease? *Curr Hypertens Rep*. 2010;12(5):364-8. doi: 10.1007/s11906-010-0133-3
  46. Papadopoulou-Marketou N, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. Diabetic nephropathy in type 1 diabetes: a review of early natural history, pathogenesis, and diagnosis. *Diabetes Metab Res Rev*. 2017;33(2). doi: 10.1002/dmrr.2841
  47. Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, Finkelstein DM, Warram JH, Krolewski

- AS. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2003;348(23):2285-93. doi: 10.1056/NEJMoa021835
48. Schmitz A, Vaeth M, Mogensen CE. Systolic blood pressure relates to the rate of progression of albuminuria in NIDDM. *Diabetologia*. 1994;37(12):1251-8. doi: 10.1007/BF00399799
  49. MacIsaac RJ, Ekinci EI, Jerums G. Progressive diabetic nephropathy. How useful is microalbuminuria? *Kidney Int*. 2014;86(1):50-7. doi: 10.1038/ki.2014.98
  50. Montero RM, Covic A, Gnudi L, Goldsmith D. Diabetic nephropathy: what does the future hold? *Int Urol Nephrol*. 2016;48(1):99-113. doi: 10.1007/s11255-015-1121-y
  51. Osterby R. Structural changes in the diabetic kidney. *Clin Endocrinol Metab*. 1986;15(4):733-51.
  52. Brito PL, Fioretto P, Drummond K, Kim Y, Steffes MW, Basgen JM, i sur. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1998;53(3):754-61. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00809.x
  53. Katz A, Caramori MLA, Sisson-Ross S, Groppoli T, Basgen JM, Mauer M. An increase in the cell component of the cortical interstitium antedates interstitial fibrosis in type 1 diabetic patients. *Kidney Int*. 2002;61(6):2058-66. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00370.x
  54. Demirel F, Tepe D, Kara O, Esen I. Microvascular complications in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*. 2013;5(3):145-9. doi: 10.4274/Jcrpe.994
  55. Steffes MW, Schmidt D, McCreery R, Basgen JM, International Diabetic Nephropathy Study Group. Glomerular cell number in normal subjects and in type 1 diabetic patients. *Kidney Int*. 2001;59(6):2104-13. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00725.x
  56. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2005;12(2):177-86. doi: 10.1053/j.ackd.2005.01.008
  57. Kalluri R. Proteinuria with and without renal glomerular podocyte effacement. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(9):2383-9. doi: 10.1681/ASN.2006060628
  58. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Ebihara I, i sur. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(9):1379-83. doi: 10.1093/ndt/15.9.1379
  59. Pourghasem M, Shafi H, Babazadeh Z. Histological changes of kidney in diabetic nephropathy. *Casp J Intern Med*. 2015;6(3):120-7.
  60. Ikee R, Kobayashi S, Hemmi N, Imakiire T, Kikuchi Y, Moriya H, i sur.

- Correlation between the resistive index by Doppler ultrasound and kidney function and histology. *Am J Kidney Dis.* 2005;46(4):603–9. doi: 10.1053/j.ajkd.2005.06.006
61. Nosadini R, Velussi M, Brocco E, Abaterusso C, Carraro A, Piarulli F, i sur. Increased renal arterial resistance predicts the course of renal function in type 2 diabetes with microalbuminuria. *Diabetes.* 2006;55(1):234–9. doi: 10.2337/diabetes.55.01.06.db05-0881
  62. Hamano K, Nitta A, Ohtake T, Kobayashi S. Associations of renal vascular resistance with albuminuria and other macroangiopathy in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2008;31(9):1853–7. doi: 10.2337/dc08-0168
  63. Afkarian M. Diabetic kidney disease in children and adolescents. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(1):65–74. doi: 10.1007/s00467-014-2796-5
  64. Lambers Heerspink HJ, Gansevoort RT, Brenner BM, Cooper ME, Parving HH, Shahinfar S, i sur. Comparison of different measures of urinary protein excretion for prediction of renal events. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21(8):1355-60. doi: 10.1681/ASN.201001006358.
  65. Daniels M, Dubose SN, Maahs DM, Beck RW, Fox LA, Gubitosi-Klug R, i sur. Factors associated with microalbuminuria in 7,549 children and adolescents with type 1 diabetes in the T1D exchange clinic registry. *Diabetes Care.* 2013;36(9):2639-45. doi: 10.2337/dc12-2192
  66. Fox CS, Matsushita K, Woodward M, Bilo HJG, Chalmers J, Heerspink HJL, i sur. Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *Lancet.* 2012;380(9854):1662-73. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61350-6
  67. Thorn LM, Gordin D, Harjutsalo V, Hägg S, Masar R, Saraheimo M, i sur. The presence and consequence of nonalbuminuric chronic kidney disease in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2015;38(11):2128-33. doi: 10.2337/dc15-0641
  68. Pottel H, Dubourg L, Goffin K, Delanaye P. Alternatives for the Bedside Schwartz equation to estimate glomerular filtration rate in children. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2018;25(1):57-66. doi: 10.1053/j.ackd.2017.10.002
  69. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2017;7(1):1-59. doi: doi:10.1016/j.kisu.2017.04.001
  70. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am.* 1987;34(3):571-90. doi: 10.1016/s0031-3955(16)36251-4

71. Nitta K, Hayashi T, Uchida K, Honda K, Tsukada M, Sekine S, i sur. Serum cystatin C concentration as a marker of glomerular filtration rate in patients with various renal diseases. *Intern Med.* 2002;41(11):931-5. doi: 10.2169/internalmedicine.41.931
72. Schwartz GJ, Schneider MF, Maier PS, Moxey-Mims M, Dharnidharka VR, Warady BA, i sur. Improved equations estimating GFR in children with chronic kidney disease using an immunonephelometric determination of cystatin C. *Kidney Int.* 2012;82(4):445-53. doi: 10.1038/ki.2012.169
73. Zaffanello M, Franchini M, Fanos V. Is serum cystatin-C a suitable marker of renal function in children? *Ann Clin Lab Sci.* 2007;37(3):233-40.
74. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* 2003;63(5):1944-7. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00925.x
75. Willems D, Wolff F, Mekahli F, Mekhali F, Gillet C. Cystatin C for early detection of renal impairment in diabetes. *Clin Biochem.* 2009;42(1-2):108-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.10.002
76. Borges RL, Hirota AH, Quinto BMR, Ribeiro AB, Zanella MT, Batista MC. Is cystatin C a useful marker in the detection of diabetic kidney disease? *Nephron Clin Pract.* 2010;114(2):c127-34. doi: 10.1159/000254385
77. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JM, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child.* 2000;82(1):71-5. doi: 10.1136/adc.82.1.71
78. Peczyńska J, Urban M, Głowińska B, Florys B. Is the level of cystatin C in children and adolescents with type 1 diabetes an early marker for diabetic nephropathy? *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw.* 2005;11(3):141-6.
79. Maahs DM, Ogden LG, Kretowski A, Snell-Bergeon JK, Kinney GL, Berl T, i sur. Serum cystatin C predicts progression of subclinical coronary atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes. *Diabetes.* 2007;56(11):2774-9. doi: 10.2337/db07-0539
80. Papadopoulou-Marketou N, Skevaki C, Kosteria I, Peppas M, Chrousos GP, Papassotiropoulos I, i sur. NGAL and cystatin C: two possible early markers of diabetic nephropathy in young patients with type 1 diabetes mellitus: one year follow up. *Hormones (Athens).* 2015;14(2):232-40. doi: 10.14310/horm.2002.1520
81. Bjornstad P, Roncal C, Milagres T, Pyle L, Lanasa MA, Bishop FK, i sur. Hyperfiltration and uricosuria in adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Nephrol.* 2016;31(5):787-93. doi: 10.1007/s00467-015-3299-8
82. Oddoze C, Morange S, Portugal H, Berland Y, Dussol B. Cystatin C is not more

- sensitive than creatinine for detecting early renal impairment in patients with diabetes. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(2):310-6. doi: 10.1053/ajkd.2001.26096
83. Maahs DM, Prentice N, McFann K, Snell-Bergeon JK, Jalal D, Bishop FK, i sur. Age and sex influence cystatin C in adolescents with and without type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2011;34(11):2360-2. doi: 10.2337/dc11-0829
  84. Lim AI, Tang SCW, Lai KN, Leung JCK. Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells? *J Cell Physiol.* 2013;228(5):917-24. doi: 10.1002/jcp.24267
  85. Zhang Z, Cai CX. Kidney injury molecule-1 (KIM-1) mediates renal epithelial cell repair via ERK MAPK signaling pathway. *Mol Cell Biochem.* 2016;416(1-2):109-16. doi: 10.1007/s11010-016-2700-7
  86. Ichimura T, Hung CC, Yang SA, Stevens JL, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1: a tissue and urinary biomarker for nephrotoxicant-induced renal injury. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004;286(3):F552-63. doi: 10.1152/ajprenal.00285.2002
  87. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002;62(1):237-44. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00433.x
  88. Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS, Tarnow L, Lajer M, Hansen PR, i sur. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule 1 (KIM1) in patients with diabetic nephropathy: a cross-sectional study and the effects of lisinopril. *Diabet Med.* 2010;27(10):1144-50. doi: 10.1111/j.1464-5491.2010.03083.x
  89. Aslan O, Demir M, Koseoglu M. Kidney injury molecule levels in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Lab Anal.* 2016;30(6):1031-6 doi: 10.1002/jcla.21976
  90. Kin Tekce B, Tekce H, Aktas G, Sit M. Evaluation of the urinary kidney injury molecule-1 levels in patients with diabetic nephropathy. *Clin Investig Med.* 2014;37(6):E377-83. doi: 10.25011/cim.v37i6.22242
  91. Vaidya VS, Niewczas MA, Ficociello LH, Johnson AC, Collings FB, Warram JH, i sur. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase. *Kidney Int.* 2011;79(4):464-70. doi: 10.1038/ki.2010.404
  92. Panduru NM, Sandholm N, Forsblom C, Saraheimo M, Dahlström EH, Thorn LM, i sur. Kidney injury molecule-1 and the loss of kidney function in diabetic nephropathy: a likely causal link in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2015;38(6):1130-7. doi: 10.2337/dc14-2330
  93. Brkljacić B, Mrzljak V, Drinković I, Soldo D, Sabljarić Matovinović M, Hebrang A. Renal vascular resistance in diabetic nephropathy: duplex Doppler US

- evaluation. *Radiology*. 1994;192(2):549-54. doi: 10.1148/radiology.192.2.8029430
94. Tublin ME, Bude RO, Platt JF. The resistive index in renal Doppler sonography: where do we stand? *AJR Am J Roentgenol*. 2003;180(4):885-92. doi: 10.2214/ajr.180.4.1800885
  95. Platt JF, Ellis JH, Rubin JM. Intrarenal arterial Doppler sonography in the detection of renal vein thrombosis of the native kidney. *AJR Am J Roentgenol*. 1994;162(6):1367-70. doi: 10.2214/ajr.162.6.8192001
  96. Matsumoto N, Ishimura E, Taniwaki H, Emoto M, Shoji T, Kawagishi T, i sur. Diabetes mellitus worsens intrarenal hemodynamic abnormalities in nondialyzed patients with chronic renal failure. *Nephron*. 2000;86(1):44-51. doi: 10.1371/journal.pone.0224923
  97. Boeri D, Derchi LE, Martinoli C, Simoni G, Sampietro L, Storace D, i sur. Intrarenal arteriosclerosis and impairment of kidney function in NIDDM subjects. *Diabetologia*. 1998;41(1):121-4. doi: 10.1007/s001250050877
  98. Pelliccia P, Savino A, Cecamore C, Primavera A, Schiavone C, Chiarelli F. Early changes in renal hemodynamics in children with diabetes: Doppler sonographic findings. *J Clin Ultrasound*. 2008;36(6):335-40. doi: 10.1002/jcu.20457
  99. Savino A, Pelliccia P, Schiavone C, Primavera A, Tumini S, Mohn A, i sur. Serum and urinary nitrites and nitrates and Doppler sonography in children with diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29(12):2676-81. doi: 10.2337/dc06-0346
  100. Okten A, Dinç H, Kul M, Kaya G, Can G. Renal duplex Doppler ultrasonography as a predictor of preclinical diabetic nephropathy in children. *Acta Radiol*. 1999;40(3):246-9. doi: 10.3109/02841859909175549
  101. Andrésdóttir G, Jensen ML, Carstensen B, Parving H-H, Hovind P, Hansen TW, i sur. Improved prognosis of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Kidney Int*. 2015;87(2):417-26. doi: 10.1038/ki.2014.206
  102. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Cruickshank JK, Dominiczak A, Erdine S, Hirth A, i sur. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens*. 2016;34(10):1887-920. doi: 10.1097/HJH.0000000000001039
  103. Izzo JL, Weir MR. Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2011;13(9):667-75. doi: 10.1111/j.1751-7176.2011.00508.x
  104. Strippoli GFM, Craig M, Deeks JJ, Schena FP, Craig JC. Effects of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor antagonists on mortality and renal outcomes in diabetic nephropathy: systematic review. *BMJ*. 2004;329(7470):828. doi: 10.1136/bmj.38237.585000.7C
  105. Koulis C, Chow BSM, McKelvey M, Steckelings UM, Unger T, Thallas-Bonke

- V, i sur. AT2R agonist, compound 21, is reno-protective against type 1 diabetic nephropathy. *Hypertens.* 2015;65(5):1073-81. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.05204
106. Kohan DE, Barton M. Endothelin and endothelin antagonists in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014;86(5):896-904. doi: 10.1038/ki.2014.143
  107. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191-4. doi: 10.1001/jama.2013.281053
  108. The Canadian Initiative on Pediatric Reference Intervals (CALIPER). Reference Interval Database [Internet]. CALIPER Database. 2020; [pristupljeno 20.03.2021.]. Dostupno na: <https://caliperproject.ca/>
  109. Kuzmić AC, Brkljacić B, Ivanković D, Galesić K. Doppler sonographic renal resistance index in healthy children. *Eur Radiol.* 2000;10(10):1644–8. doi: 10.1007/s003300000466
  110. Moresco RN, Bochi GV, Stein CS, De Carvalho JAM, Cembranel BM, Bollick YS. Urinary kidney injury molecule-1 in renal disease. *Clin Chim Acta.* 2018;487:15–21. doi: 10.1016/j.cca.2018.09.011
  111. Bennett MR, Nehus E, Haffner C, Ma Q, Devarajan P. Pediatric reference ranges for acute kidney injury biomarkers. *Pediatr Nephrol.* 2015;30(4):677–85. doi: 10.1007/s00467-014-2989-y
  112. Pennemans V, Rigo J-M, Faes C, Reynders C, Penders J, Swennen Q. Establishment of reference values for novel urinary biomarkers for renal damage in the healthy population: are age and gender an issue? *Clin Chem Lab Med.* 2013;51(9):1795–802. doi: 10.1515/cclm-2013-0157
  113. DiMeglio LA, Acerini CL, Codner E, Craig ME, Hofer SE, Pillay K, i sur. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Glycemic control targets and glucose monitoring for children, adolescents, and young adults with diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2018;19(Suppl 2):105–14. doi: 10.1111/pedi.12737
  114. Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJL, van Goor H, van Oeveren W, de Jong PE, i sur. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2011;34(4):975-81. doi: 10.2337/dc10-1545
  115. Nowak N, Skupien J, Niewczas MA, Yamanouchi M, Major M, Croall S, i sur. Increased plasma kidney injury molecule-1 suggests early progressive renal decline in non-proteinuric patients with type 1 diabetes. *Kidney Int.* 2016;89(2):459-67. doi: 10.1038/ki.2015.314
  116. Youssef DM, Fawzy FM. Value of renal resistive index as an early marker of diabetic nephropathy in children with type-1 diabetes mellitus. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2012;23(5):985-92. doi: 10.4103/1319-2442.100880

117. Yamaguchi Y, Akagaki F, Nakamori A, Sugiura T. Chronological renal resistive index increases related to atherosclerotic factors, and effect of renin-angiotensin system inhibitors. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23(4):513-20. doi: 10.1007/s10157-018-1667-y99
118. Abd El Ghaffar S, El Kaffas K, Hegazy R, Mostafa M. Renal Doppler indices in diabetic children with insulin resistance syndrome. *Pediatr Diabetes.* 2010;11(7):479–86. doi: 10.1111/j.1399-5448.2009.00628.x100
119. Bökenkamp A, Domanetzki M, Zinck R, Schumann G, Byrd D, Brodehl J. Cystatin C—a new marker of glomerular filtration rate in children independent of age and height. *Pediatrics.* 1998;101(5):875-81. doi: 10.1542/peds.101.5.875
120. Ziegelasch N, Vogel M, Müller E, Tremel N, Jurkutat A, Löffler M, i sur. Cystatin C serum levels in healthy children are related to age, gender, and pubertal stage. *Pediatr Nephrol.* 2019;34(3):449-57. doi: 10.1007/s00467-018-4087-z
121. Chae H-W, Shin J-I, Kwon A-R, Kim H-S, Kim D-H. Spot urine albumin to creatinine ratio and serum cystatin C are effective for detection of diabetic nephropathy in childhood diabetic patients. *J Korean Med Sci.* 2012;27(7):784-7. doi: 10.3346/jkms.2012.27.7.784
122. Jeon YK, Kim MR, Huh JE, Mok JY, Song SH, Kim SS, i sur. Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J Korean Med Sci.* 2011;26(2):258-63. doi: 10.3346/jkms.2011.26.2.258
123. Mussap M, Dalla Vestra M, Fioretto P, Saller A, Varagnolo M, Nosadini R, i sur. Cystatin C is a more sensitive marker than creatinine for the estimation of GFR in type 2 diabetic patients. *Kidney Int.* 2002;61(4):1453-61. doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00253.x
124. Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, Fotino C, Pellegrini G, Pardini E, i sur. Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. *Clin Chem.* 2007;53(3):480–8. doi: 10.1373/clinchem.2006.076042
125. Rigalleau V, Beauvieux M-C, Le Moigne F, Lasseur C, Chauveau P, Raffaitin C, i sur. Cystatin C improves the diagnosis and stratification of chronic kidney disease, and the estimation of glomerular filtration rate in diabetes. *Diabetes Metab.* 2008;34(5):482-9. doi: 10.1016/j.diabet.2008.03.004
126. Kanakatti Shankar R, Dolan LM, Isom S, Saydah S, Maahs DM, Dabelea D, i sur. Serum cystatin C in youth with diabetes: the SEARCH for diabetes in youth study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;130:258-65. doi: 10.1016/j.diabres.2017.06.010
127. Garg V, Kumar M, Mahapatra HS, Chitkara A, Gadpayle AK, Sekhar V. Novel urinary biomarkers in pre-diabetic nephropathy. *Clin Exp Nephrol.*



2015;19(5):895-900. doi: 10.1007/s10157-015-1085-3

128. Kim SS, Song SH, Kim IJ, Jeon YK, Kim BH, Kwak IS, i sur. Urinary cystatin C and tubular proteinuria predict progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Care*. 2013;36(3):656-61. doi: 10.2337/dc12-0849
129. Perkins BA, Bebu I, de Boer IH, Molitch M, Tamborlane W, Lorenzi G, i sur. Risk factors for kidney disease in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2019;42(5):883-90. doi: 10.2337/dc18-2062
130. Nathan DM. Long-term complications of diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;328(23):1676-85. doi: 10.1056/NEJM199306103282306
131. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-86. doi: 10.1056/NEJM199309303291401
132. Amin R, Widmer B, Prevost AT, Schwarze P, Cooper J, Edge J, i sur. Risk of microalbuminuria and progression to macroalbuminuria in a cohort with childhood onset type 1 diabetes: prospective observational study. *BMJ*. 2008;336(7646):697-701. doi: 10.1136/bmj.39478.378241.BE
133. Benitez-Aguirre P, Craig ME, Cass HG, Sugden CJ, Jenkins AJ, Wang JJ, i sur. Sex differences in retinal microvasculature through puberty in type 1 diabetes: are girls at greater risk of diabetic microvascular complications? *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;56(1):571-7. doi: 10.1167/iovs.14-15147
134. Donaghue KC, Craig ME, Chan AKF, Fairchild JM, Cusumano JM, Verge CF, i sur. Prevalence of diabetes complications 6 years after diagnosis in an incident cohort of childhood diabetes. *Diabet Med*. 2005;22(6):711-8. doi: 10.1111/j.1464-5491.2005.01527.x
135. Lurbe E, Redon J, Kesani A, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, i sur. Increase in nocturnal blood pressure and progression to microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med*. 2002;347(11):797-805. doi: 10.1056/NEJMoa013410
136. Marcovecchio ML, Dalton RN, Schwarze CP, Prevost AT, Neil HAW, Acerini CL, i sur. Ambulatory blood pressure measurements are related to albumin excretion and are predictive for risk of microalbuminuria in young people with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2009;52(6):1173-81. doi: 10.1007/s00125-009-1327-6
137. Marcovecchio ML, Dalton RN, Prevost AT, Acerini CL, Barrett TG, Cooper JD, i sur. Prevalence of abnormal lipid profiles and the relationship with the development of microalbuminuria in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(4):658-63. doi: 10.2337/dc08-1641
138. Raile K, Galler A, Hofer S, Herbst A, Dunstheimer D, Busch P, i sur. Diabetic nephropathy in 27,805 children, adolescents, and adults with type 1 diabetes:

- effect of diabetes duration, A1C, hypertension, dyslipidemia, diabetes onset, and sex. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2523-8. doi: 10.2337/dc07-0282
139. Stone ML, Craig ME, Chan AK, Lee JW, Verge CF, Donaghue KC. Natural history and risk factors for microalbuminuria in adolescents with type 1 diabetes: a longitudinal study. *Diabetes Care*. 2006;29(9):2072-7. doi: 10.2337/dc06-0239
  140. Pham-Short A, C Donaghue K, Ambler G, K Chan A, Hing S, Cusumano J, i sur. Early elevation of albumin excretion rate is associated with poor gluten-free diet adherence in young people with coeliac disease and diabetes. *Diabet Med*. 2014;31(2):208-12. doi: 10.1111/dme.12329
  141. Suh J-S, Kim S-H, Cho KS, Jung I-A, Cho WK, Jeon YJ, i sur. Urinary markers in the early stage of nephropathy in patients with childhood-onset type 1 diabetes. *Pediatr Nephrol*. 2016;31(4):623-31. doi: 10.1007/s00467-015-3253-9
  142. Maahs DM, Snively BM, Bell RA, Dolan L, Hirsch I, Imperatore G, i sur. Higher prevalence of elevated albumin excretion in youth with type 2 than type 1 diabetes: the SEARCH for diabetes in youth study. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2593-8. doi: 10.2337/dc07-0450
  143. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D, Otvos JD, Lackland DT, McGee D, i sur. Lipoproteins in the DCCT/EDIC cohort: associations with diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2003;64(3):817-28. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00164.x
  144. Strong JP, Malcom GT, McMahan CA, Tracy RE, Newman WP, Herderick EE, i sur. Prevalence and extent of atherosclerosis in adolescents and young adults: implications for prevention from the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth Study. *JAMA*. 1999;281(8):727-35. doi: 10.1001/jama.281.8.727
  145. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, Newman WP, Tracy RE, Wattigney WA. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. The Bogalusa Heart Study. *N Engl J Med*. 1998;338(23):1650-6. doi: 10.1056/NEJM199806043382302
  146. Orchard TJ, Olson JC, Erbey JR, Williams K, Forrest KY-Z, Smithline Kinder L, i sur. Insulin resistance-related factors, but not glycemia, predict coronary artery disease in type 1 diabetes: 10-year follow-up data from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1374-9. doi: 10.2337/diacare.26.5.1374
  147. Torbjörnsdotter TB, Staffansdotter Sohlman Perrin NE, Jaremko GA, Berg UB. Widening of foot processes in normoalbuminuric adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Nephrol*. 2005;20(6):750-8. doi: 10.1007/s00467-005-1829-5
  148. Ellis EN, Warady BA, Wood EG, Hassanein R, Richardson WP, Lane PH, i sur. Renal structural-functional relationships in early diabetes mellitus. *Pediatr Nephrol*. 1997;11(5):584-91. doi: 10.1007/s004670050342

149. Donahue RP, Stranges S, Rejman K, Rafalson LB, Dmochowski J, Trevisan M. Elevated cystatin C concentration and progression to pre-diabetes: the Western New York Study. *Diabetes Care*. 2007;30(7):1724-9. doi: 10.2337/dc07-0040
150. Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quintó L, Saurina A, i sur. Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *Am J Kidney Dis*. 2000;36(1):29-34. doi: 10.1053/ajkd.2000.8237
151. Mueller TF, Raeder J, Oetl K, Zitta S, Klausmann G, Estelberger W, i sur. Cystatin C does not detect acute changes in glomerular filtration rate in early diabetic nephropathy. *Ren Fail*. 2008;30(1):21-9. doi: 10.1080/08860220701741916
152. Abd El Dayem S, El Bohy AEM, El Shehaby A. Value of the intrarenal arterial resistivity indices and different renal biomarkers for early identification of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2016;29(3):273-9. doi: 10.1515/jpem-2014-0397
153. Petrica L, Petrica M, Vlad A, Jianu DC, Gluhovschi G, Ianculescu C, i sur. Proximal tubule dysfunction is dissociated from endothelial dysfunction in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes mellitus: a cross-sectional study. *Nephron Clin Pract*. 2011;118(2):155-64. doi: 10.1159/000320038
154. Zeng X-F, Lu D-X, Li J-M, Tan Y, Li Z, Zhou L, i sur. Performance of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, clusterin, and cystatin C in predicting diabetic kidney disease and diabetic microalbuminuria: a consecutive cohort study. *BMC Nephrol*. 2017;18(1):233. doi: 10.1186/s12882-017-0620-8
155. Żyłka A, Dumnicka P, Kuśnierz-Cabala B, Gala-Błądzińska A, Ceranowicz P, Kucharz J, i sur. Markers of glomerular and tubular damage in the early stage of kidney disease in type 2 diabetic patients. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:7659243. doi: 10.1155/2018/7659243

## 11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1975. godine u Krapini, a maturirala sam 1993. u XVI. gimnaziji u Križanićevoj ulici u Zagrebu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu završila sam 1999., nakon čega sam odradila pripravnički staž u OB-u Zabok. Nakon položenoga državnog ispita, 2001–06. obavljala sam specijalističko usavršavanje iz pedijatrije u Klinici za pedijatriju KBC-a Rebro, gdje sam 2003. završila Poslijediplomski studij na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu – program „Klinička pedijatrija“. Poslijediplomski tečaj stalnoga medicinskog usavršavanja 1. kategorije „Ultrazvučna dijagnostika abdominalnih i torakalnih organa u dječjoj dobi“ završila sam 2008., a 2015. položila sam subspecijalistički ispit iz pedijatrijske nefrologije u KBC-u Rebro. U OB-u Zabok radila sam kao odjelni liječnik i bila voditeljica Odjela za pedijatriju, a od 2015. radim kao subspecijalist pedijatrijske nefrologije u Klinici za pedijatriju KBC-a Sestre milosrdnice. Tečaj iz ultrazvučne mikcijske urosonografije pojačane kontrastom i poslijediplomski tečaj prve kategorije „Doplerska ultrazvučna dijagnostika bolesti krvnih žila“ položila sam 2016. Sudjelovala sam na više domaćih i inozemnih stručnih i znanstvenih skupova, te objavila više radova. Članica sam više domaćih i stranih stručnih i znanstvenih udruga. Doktorski studij Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu „Biomedicina i zdravstvo“ upisala sam 2017. Udana sam i majka dvoje djece.