

# Kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka i biljezi bubrežnoga oštećenja u ranom otkrivanju dijabetičke nefropatije u djece

---

**Valent Morić, Bernardica**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2020**

*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:105:423018>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-25**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Bernardica Valent Morić**

**Kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka  
i biljezi bubrežnoga oštećenja u ranom  
otkrivanju dijabetičke nefropatije u djece**

**DISERTACIJA**



**Zagreb, 2020.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Bernardica Valent Morić**

**Kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka  
i biljezi bubrežnoga oštećenja u ranom  
otkrivanju dijabetičke nefropatije u djece**

**DISERTACIJA**

**Zagreb, 2020.**

Disertacija je izrađena pri Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice u Zagrebu.

Voditelji rada: prof.dr.sc. Bojan Jelaković, dr.med.

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

Zahvaljujem Hrvatskom društvu za hipertenziju i njegovom predsjedniku prof.dr.sc. Bojanu Jelakoviću na osiguranim sredstvima za kupnju reagensa za određivanje urinarnog NGAL-a.

## SADRŽAJ:

Popis kratica

<b>1. UVOD</b> .....	1
1.1. Šećerna bolest u djece .....	1
1.1.1. Epidemiologija šećerne bolesti tip 1 .....	2
1.1.2. Patogeneza šećerne bolesti tip 1.....	3
1.1.3. Mikrovaskularne i makrovaskularne komplikacije šećerne bolesti tip 1 u djece.....	3
1.1.4. Druge komplikacije i stanja pridružena šećernoj bolesti tip 1 u djece.....	4
1.2. Dijabetička nefropatija .....	5
1.2.1. Prirodni tijek dijabetičke nefropatije .....	5
1.2.2. Čimbenici povezani s razvojem dijabetičke nefropatije u djece .....	7
1.2.3. Albuminurija kao biljeg dijabetičke nefropatije .....	8
1.2.4. Arterijski tlak i dijabetička nefropatija .....	11
1.2.4.1. Patofiziologija povišenoga arterijskoga tlaka u šećernoj bolesti.....	12
1.2.4.2. Uloga kontinuiranoga mjerenja arterijskoga tlaka (KMAT) .....	13
1.2.4.3. Veza arterijskoga tlaka i albuminurije u bolesnika sa šećernom bolešću.....	14
1.2.5. Biljezi tubularnoga oštećenja u ranom otkrivanju dijabetičke nefropatije.....	17
1.2.5.1. <i>Neutrophil gelatinase - associated lipocalin</i> (NGAL).....	18
1.2.5.2. <i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i> (NGAL) kao biljeg dijabetičke nefropatije.....	20
<b>2. HIPOTEZA</b> .....	22
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	23
3.1. Glavni ciljevi istraživanja .....	23
3.2. Specifični ciljevi istraživanja .....	23
<b>4. ISPITANICI I METODE</b> .....	24
4.1. Ispitanici .....	24
4.2. Uzorci i metode .....	25
4.3. Definicije .....	27
4.4. Statističke metode .....	30
<b>5. REZULTATI</b> .....	31

5.1. Kliničke karakteristike ispitanika.....	31
5.2. Obilježja arterijskoga tlaka u djece sa šećernom bolešću tip 1.....	33
5.3. Odnos između parametara KMAT-a i albuminurije u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1.....	35
5.4. Urinarni NGAL u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1 i kontrola .....	39
5.5. Korelacija parametara KMAT-a i urinarnog NGAL-a .....	41
5.6. Povezanost urinarnog NGAL-a s drugim čimbenicima .....	43
5.7. Povezanost povišenog urinarnog NGAL-a u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1 s drugim čimbenicima.....	44
5.8. Povezanost urinarnog NGAL-a i kategorije albuminurije .....	45
5.9. Povezanost mikroalbuminurije s raznim čimbenicima u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1.....	46
5.10. Povezanost nisko normalne i visoko normalne albuminurije s raznim čimbenicima u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1.....	49
5.11. Vrijednost glomerulske filtracije u odnosu na albuminuriju.....	51
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>52</b>
<b>7. ZAKLJUČAK .....</b>	<b>63</b>
<b>8. SAŽETAK .....</b>	<b>65</b>
<b>9. SUMMARY .....</b>	<b>67</b>
<b>10. LITERATURA .....</b>	<b>69</b>
<b>11. ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>84</b>

## **POPIS KRATICA**

ACR – prema engl. albumin/creatinine ratio; omjer albumin/kreatinin

AT – arterijski tlak

DAT – dijastolički arterijski tlak

DCCT/EDIC – prema engl. The Diabetes Control and Complications Trial and the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications

DN – dijabetička nefropatija

eGFR – prema engl. estimated glomerular filtration rate; procijenjena glomerularna filtracija

HbA1c – glikozilirani hemoglobin

ISPAD – prema engl. International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes

ITM – indeks tjelesne mase

KIM – 1 – prema engl kidney injury molecule-1

KMAT – kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka

LDL – low – density lipoprotein

L-FABP – prema engl. liver-type fatty acid-binding protein

MCP-1- monocitni kemotaktički peptid-1

MODY – prema engl. maturity-onset diabetes of the young

NAG – N-acetil- $\beta$ -D-glukozaminidaza

NGAL – prema engl. neutrophil gelatinase – associated lipocalin; lipokalin povezan s neutrofilnom želatinazom

RAAS – prema engl. renin-angiotensin-aldosteron system; sustav renin-angiotensin-aldosteron

SAD – Sjedinjene Američke Države

SAT – sistolički arterijski tlak

ŠB – šećerna bolest

TM – tjelesna masa

TV – tjelesna visina



## 1. UVOD

### 1.1. Šećerna bolest u djece

Šećerna bolest (ŠB) definirana je kao kompleksni metabolički poremećaj karakteriziran kroničnom hiperglikemijom koja je posljedica apsolutnoga ili relativnoga manjka inzulina. Neadekvatna inzulinska sekrecija i/ili smanjen tkivni odgovor na inzulin u složenom nizu hormonskoga djelovanja rezultira u nedostatnom inzulinskom djelovanju na ciljna tkiva što vodi u poremećaj metabolizma ugljikohidrata, proteina i masti (1).

Iako je etiologija ŠB heterogena, većinu bolesnika možemo svrstati u jednu od dvije etiopatogenetski široke kategorije: ŠB tip 1 obilježenu apsolutnim manjkom inzulina i ŠB tip 2 koja je posljedica kombinacije inzulinske rezistencije i neadekvatne kompenzatorne inzulinske sekrecije.

Osim dva navedena osnovna tipa, klasifikacija ŠB iz 2017. godine uključuje četiri osnovne kategorije:

I Tip 1 – autoimuno razaranje  $\beta$  stanica s apsolutnim deficitom inzulina

II Tip 2 – progresivni gubitak inzulinske sekrecije uz inzulinsku rezistenciju

III gestacijska ŠB

IV specifični tipovi ŠB zbog drugih uzroka:

- monogeniski dijabetički sindromi (neonatalni dijabetes, MODY *engl. maturity-onset diabetes of the young*)
- bolesti egzokrinoga pankreasa (cistična fibroza)
- ŠB uzrokovana lijekovima ili kemikalijama (glukokortikoidi, lijekovi za HIV/AIDS, nakon transplantacije organa) (2).

Dijagnostički kriteriji za ŠB temelje se na mjerenju razine glukoze u krvi te prisutnosti ili odsutnosti simptoma (3). ŠB tip 1 u mladih ljudi obično se prezentira poliurijom, polidipsijom, nokturijom, enurezom i gubitkom na tjelesnoj masi koji može biti praćen polifagijom. Zastoj rasta i sklonost infekcijama, prvenstveno kože i urogenitalne regije, također mogu pratiti kroničnu hiperglikemiju. Za razliku od neke djece koja bolest razvijaju polako kroz nekoliko tjedana ili mjeseci, druga djeca imaju vrlo nagli početak bolesti koji za nekoliko dana dovodi do razvoja dijabetičke ketoacidoze (4). Dijabetička ketoacidoza najozbiljnija je posljedica nedostatka inzulina i vodeći je uzrok akutnoga morbiditeta i mortaliteta u djece oboljele od tip 1 ŠB.

Prema ISPAD-u (*International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes*) kriteriji za postavljanje dijagnoze ŠB su: 1) klasični simptomi ŠB uz glukozu u krvi  $\geq 11,1$  mmol/l ili 2) glukozu u krvi natašte  $\geq 7,0$  mmol/L ili 3) glukozu u krvi 2 sata nakon opterećenja  $\geq 11,1$  mmol/L tijekom OGGT-a ili 4) glikozilirani hemoglobin (HbA1c)  $>6,5\%$  (5). Uz nedostatak simptoma povišena koncentracija glukoze u krvi mora se potvrditi u dva odvojena uzorka.

### **1.1.1. Epidemiologija šećerne bolesti tip 1**

Najčešći oblik ŠB u djece je tip 1 (5). U većini zapadnih zemalja ŠB tip 1 čini preko 90% slučajeva ŠB među djecom i adolescentima, dok u cjelokupnoj populaciji oboljelih od ŠB tip 1 ima udio od 5 do 10%. Svake godine oko 80 000 djece mlađe od 15 godina oboljet će od ŠB tip 1 (6).

Incidencija ŠB tip 1 značajno se razlikuje između pojedinih zemalja, unutar samih država i različitih etničkih populacija s najvišom incidencijom u Finskoj, Sjevernoj Europi i Kanadi (7 - 10). Podaci za Republiku Hrvatsku u razdoblju od 1995 – 2003. godine ukazivali su na standardiziranu incidenciju od 8,87/100 000 na godinu u djece od 0 do 14. godine uvrštavajući nas time u skupinu zemalja s umjerenim rizikom za razvoj ŠB tip 1 (11). U istoj studiji zabilježen je i prosječni godišnji porast incidencije od 9% koji je bio znatno iznad onoga u većini Europskih zemalja. Visoki godišnji porast incidencije zabilježen je u svim dobnim podskupinama i protumačen je kao posljedica promjena načina života koje su uslijedile nakon društvenih i ekonomskih promjena tijekom kasnih 90-ih godina prošlog stoljeća. Posljednji dostupni podaci za Hrvatsku za period 2004 – 2012. godine potvrdili su daljnji porast incidencije u djece od 0-14 godina čime smo ušli u krug zemalja s visokim rizikom za ŠB tip 1 (17,23/100 000 godišnje) (12). Porast incidencije ŠB tip 1 bilježi se i u drugim regijama svijeta, gdje iznosi oko 2% do 3% godišnje (1).

Za razliku od većine autoimunih bolesti koje disproportionalno zahvaćaju ženski spol, bitnih spolnih razlika za ŠB tip 1 nema. Nije zabilježena niti značajna povezanost sa socioekonomskim statusom. Vrhunac učestalosti pojave bolesti bilježi se u dvije dobne skupine: između 5. i 7. godine života te u vrijeme puberteta. Pojavnost bolesti u prvoj dobnj skupini poklapa se s periodom visoke izloženosti infektivnim agensima zbog uključivanja u kolektiv, dok se u drugom periodu bilježi zamah rasta potaknut pojačanim pubertetskim lučenjem hormona rasta koji djeluje antagonistički na učinak inzulina izazivajući fiziološku inzulinsku rezistenciju (13).

Poznata je i pojava sezonskih varijacija u incidenciji ŠB tip 1. Klinička prezentacija bolesti češće započinje tijekom jeseni i zime, a sezonske varijacije najčešće su među adolescentima (14).

### 1.1.2. Patogeneza šećerne bolesti tip 1

Šećernu bolest tip 1 karakterizira kronično imunološki posredovano razaranje  $\beta$  stanica otočića pankreasa koje vodi u djelomični ili, u većini slučajeva, potpuni manjak inzulina (15). Prirodni tijek bolesti ukazuje da autoimuni proces započinje čak i godinama prije kliničke dijagnoze (16). Upala unutar otočića – inzulitis progredira tijekom vremena sve dok dostatna masa  $\beta$  stanica ne bude uništena ili nefunkcionalna. Procjenjuje se da oštećenje 90%  $\beta$  stanica dovodi do kliničke prezentacije bolesti.

Etiologija bolesti je multifaktorijalna i ne još u potpunosti razjašnjena, a uključuje međudjelovanje genske predispozicije, okolišnih čimbenika, imunološkog sustava i  $\beta$  stanica (5).

Inzulitis je karakteriziran infiltracijom raznih tipova stanica. Prisutni su T i B limfociti uz citotoksične CD8+ T stanice kao predominantnu staničnu populaciju. Ključnu ulogu u razaranju  $\beta$  stanica imaju autoreaktivne T stanice koje su izbjegle mehanizmu imunološke tolerancije (15).

Iz oštećenih  $\beta$  stanica oslobađaju se antigeni, do tad nepoznati imunološkom sustavu koji na njih, posredovano B limfocitima, stvara protutijela. Pet vrsta protutijela predstavljaju serološke biljege  $\beta$ -stanične autoimunosti: protutijela na membranski protein glutamičku kiselu dekarboksilazu (od *engl. glutamic acid decarboxylase*, GAD65), protutijela na protein tirozin fosfatazu (ICA 152 ili IA2A), protutijelo na endogeni inzulin (od *engl. insulin autoantibodies*, IAA), protutijela na citoplazmatski dio stanice Langerhansovih otočića (od *engl. islet cell antibodies*, ICA) i cink transporterski protein (ZnT8) (17). Protutijela nisu patogena već su znak aktivne autoimune bolesti koja može trajati mjesecima i godinama prije kliničke prezentacije ŠB.

### 1.1.3. Mikrovaskularne i makrovaskularne komplikacije šećerne bolesti tip 1 u djece

Šećerna bolest povezana je s akutnim metaboličkim te kasnim kroničnim komplikacijama. U većini razvijenih zemalja ŠB predstavlja glavni uzrok kardiovaskularnih bolesti, sljepoće, zatajenja bubrega te amputacije donjih ekstremiteta. S obzirom na ulogu komplikacija ŠB u sveukupnom morbiditetu i mortalitetu, intenzivnom edukacijom i liječenjem potrebno ih je prevenirati ili odgoditi njihov nastanak. Tako je dobro poznata činjenica da poboljšanje glikemijske kontrole bolesti smanjuje rizik za vaskularno oštećenje u djece sa ŠB tip 1, a dogovorenim planom probira komplikacije u djece sa ŠB tip 1 nastoje se otkriti u što ranijoj fazi (18).

Kronične komplikacije ŠB tip1 koje bitno određuju prognozu bolesnika i osnovni su uzrok morbiditeta i mortaliteta su vaskularne komplikacije, a dijelimo ih na makrovaskularne i mikrovaskularne.

Makrovaskularne komplikacije odnose se na grupu kardiovaskularnih bolesti karakteriziranu aterosklerozom koja obuhvaća koronarnu bolest, cerebrovaskularnu bolest i perifernu vaskularnu bolest. U djece sa ŠB tip 1 probir na makrovaskularne komplikacije vrši se kontrolom lipidograma svakih 5 godina te godišnjim kontrolama arterijskoga tlaka (AT) (19).

Mikrovaskularne komplikacije zahvaćaju bubrege, živce i oko, tj. uključuju nefropatiju s razvojem bubrežnog zatajenja i hipertenzije, poremećaj vida i sljepoću kao posljedicu retinopatije te bolove, parestezije i autonomnu disfunkciju uslijed dijabetičke neuropatije. Probir za dijabetičku nefropatiju (DN) obuhvaća godišnje kontrole omjera albumin/kreatinin (engl. albumin/creatinine ratio ACR; omjer albumin/kreatinin) u urinu nakon 2 do 5 godina trajanja bolesti, dok se u svrhu ranog otkrivanja retinopatije prema smjernicama ISPAD-a preporuča godišnji pregled očne pozadine nakon 2 do 5 godina trajanja bolesti. Probir na neuropatiju prema istim smjernicama nije jasno definiran i temelji se na anamnezi i fizikalnom pregledu.

Kliničke manifestacije vaskularnih komplikacija vezanih uz ŠB tip 1 u djece i adolescenata su rijetke. Međutim, rane funkcijske i strukturne abnormalnosti mogu biti prisutne već nakon nekoliko godina od početka bolesti (20). Stoga su djetinjstvo i adolescencija razdoblje tijekom kojeg intenzivna edukacija i liječenje može prevenirati ili odgoditi razvoj i progresiju komplikacija kasnije u životu. Poznato je da su rizični čimbenici za razvoj vaskularnih komplikacija hiperglikemija, povišen AT, dislipidemija i veći indeks tjelesne mase (ITM). Stoga se intervencijske mjere u njihovoj prevenciji temelje na poboljšanju glikemijske kontrole bolesti, regulaciji AT nefarmakološkim i farmakološkim mjerama, promjenama u prehrani i normalizaciji tjelesne mase. Jedan od primjera takve intervencije jest *Diabetes Control and Complication Trial (DCCT)* u kojem je poboljšanje glikemijske kontrole u osoba sa ŠB tip 1 odložilo početak pada bubrežne funkcije za 6 godina (21).

#### **1.1.4. Druge komplikacije i stanja pridružena šećernoj bolesti tip 1 u djece**

U djece sa ŠB tip 1 osim protutijela koja predstavljaju serološke biljege osnovne bolesti češće se nego u općoj populaciji nalaze i druga organ-specifična protutijela (22). Autoimuna stanja udružena sa ŠB u djece su hipotireoza zbog kroničnoga limfocitnog tireoiditisa, hipertireoza zbog Gravesove bolesti, celijakija, vitiligo i primarna adrenalna insuficijencija (23). Od ostalih komplikacija moguć je razvoj lipodistrofije, dijabetičke nekrobioze, ograničene pokretljivosti zglobova, edema i osteoporoze.

Dvije najčešće autoimune bolesti u djece sa ŠB tip 1 su kronični limfocitni ili Hashimotov tireoiditis i celijakija. Primarna ili subklinička hipotireoza zbog autoimunog tireoiditisa javlja se u 3-8% djece sa

ŠB tip 1 (24). Razvoj tireoiditisa obično ne utječe značajno na kontrolu glikemije. Celijakija u djece sa ŠB tip 1 je obično asimptomatska i nije nužno udružena sa zastojem u rastu ili lošom kontrolom bolesti (23). Javlja se u 1-10% djece i adolescenata sa ŠB tip 1.

## **1.2. Dijabetička nefropatija**

Šćerna bolest udružena je s višim mortalitetom u odnosu na opću populaciju, prvenstveno zbog dugoročnih komplikacija bolesti. Kao najvažnije izdvajaju se vaskularne komplikacije od kojih je najčešća DN (25). Budući da je rizik smrtnosti najveći upravo u skupini bolesnika koji razviju bubrežnu bolest, bolesnici s DN čine populaciju pod povećanim rizikom (26).

Dijabetička nefropatija definirana je kao mikrovaskularna komplikacija na bubregu u bolesnika sa ŠB, a obilježena je perzistentnom albuminurijom (> 300 mg/24 h), postupnim padom glomerularne filtracije, porastom AT i većim rizikom kardiovaskularnoga morbiditeta i mortaliteta. Dijabetička nefropatija je danas vodeći uzrok kroničnog zatajenja bubrega i najčešća dijagnoza u bolesnika na programu kronične dijalize (27). Dvadeset do 40% bolesnika sa ŠB razvije DN (28).

Dijabetička nefropatija je dijagnoza koja se odnosi na specifične patološke strukturne i funkcijske promjene u bubrežima bolesnika sa ŠB oba tipa (tip 1 i 2), a posljedica su učinka ŠB na bubreg (29). Iako su za razvoj težih stupnjeva bubrežne bolesti potrebna desetljeća te stoga razvijenu DN vrlo rijetko vidimo u pedijatrijskoj populaciji, biopsije bubrega u odraslih i djece već 1,5 – 5 godina nakon početka ŠB pokazuju strukturne promjene karakteristične za DN (20). Stoga se može zaključiti da razvoj bubrežnoga oštećenja počinje ubrzo nakon pojave ŠB te da nam ovaj rani period pruža vremenski okvir za detekciju i intervenciju u svrhu sprečavanja progresije bubrežne bolesti.

### **1.2.1. Prirodni tijek dijabetičke nefropatije**

Prirodni tijek DN prvi je opisao 70-ih godina Kussman i sur. analizirajući podatke bolesnika kojima je ŠB tip 1 dijagnosticirana u djetinjstvu, a koji su umrli od bubrežnoga zatajenja (30). Ova studija dala je uvid u prirodni tijek neliječene DN prije ere renoprotektivne terapije. Zapaženo je da se perzistentna albuminurija (> 300 mg/24h) javlja 11 do 23 godine nakon dijagnosticiranja ŠB, da porast serumskoga kreatinina počinje nakon 13 do 25 godina te da završni stupanj bubrežnog zatajenja nastupa nakon 18 do 30 godina od dijagnoze ŠB. Kasnijim razvojem osjetljivijih testova počele su se

uočavati i niže razine albuminurije (mikroalbuminurija 30 – 299 mg/24h) koja prethodi trajnoj proteinuriji (makroalbuminurija) i koje se u većine bolesnika javlja obično 10 godina nakon dijagnoze ŠB (28).

Patofiziološki proces koji vodi u razvoj DN i posljedični pad bubrežne funkcije rezultat je dijabetičkoga *milieu*-a sa stvaranjem glikacijskih završnih produkata, utjecaja faktora rasta te hemodinamskih i hormonskih promjena. Dolazi do oslobađanja reaktivnih oksidativnih molekula i inflamatornih medijatora. Sve ove promjene vode u glomerularnu hiperfiltraciju, glomerularnu hipertenziju, bubrežnu hipertrofiju i promijenjenu strukturu glomerula koja se klinički očituje kao albuminurija i arterijska hipertenzija. Na patološkoj razini viđa se odlaganje ekscelularnoga matriksa, zadebljanje glomerularne bazalne membrane, proliferativne promjene i tubularna atrofija koje u konačnici rezultiraju intersticijskom fibrozom i glomerulosklerozom (31) .

Klasifikaciju prirodnog tijeka DN u ŠB tip 1 predložio je Mogensen i sur. opisujući razvoj bolesti kroz pet faza:

1. faza dijagnoze - karakterizirana je hiperfiltracijom i hipertrofijom bubrega; porast albuminurije obično se javlja samo tijekom tjelesne aktivnosti
2. tiha faza – razvija se nakon više godina bez klinički manifestne bolesti, no prisutne su tipične morfološke lezije na uzorcima bioptata (zadebljanje glomerularne bazalne membrane, mezangijska ekspanzija); još uvijek je prisutna hiperfiltracija, a razina albuminurije ovisi o kvaliteti metaboličke kontrole bolesti
3. početna dijabetička nefropatija – prisustvo mikroalbuminurije 30-300 mg/24 h; glomerularna filtracija još je uvijek visoka ili je uredna; arterijski tlak raste
4. klasična dijabetička nefropatija – karakterizirana perzistentnom proteinurijom >0,5 g/24 h i trajno povišenim arterijskim tlakom; glomerularna filtracija postupno pada, osobito u loše kontroliranih bolesnika
5. završni stupanj bubrežnoga zatajenja s uremijom uslijed DN (32).

Revidirana klasifikacija iz 2014. godine predlaže stupnjevanje DN u pet kategorija ovisno o vrijednostima albuminurije izražene u mg/g kreatinina i procijenjenoj glomerulskoj filtraciji (eGFR u ml/min/1,73 m<sup>2</sup>):

1. stupanj (prenefropatija): normoalbuminurija (<30 ) i GFR ≥30
2. stupanj (početna nefropatija): mikroalbuminurija (30-299) i GFR ≥30
3. stupanj (očita nefropatija): makroalbuminurija (≥300) ili perzistentna proteinurija (≥0,5)
4. stupanj: bubrežno zatajenje - bilo koja razina albuminurije/proteinurije i GFR <30
5. stupanj: liječenje dijalizom - bilo koje stanje koje zahtjeva kontinuiranu dijalizu (33).

Iz svega navedenog vidljivo je kako je DN karakterizirana dugim klinički asimptomatskim razdobljem bez simptoma i znakova bolesti. Stoga postoji potreba za unapređenjem metoda otkrivanja ranih medijatora bubrežne ozljede kako bi se spriječio početak i napredovanje DN.

### **1.2.2. Čimbenici povezani s razvojem dijabetičke nefropatije u djece**

Nekoliko rizičnih čimbenika se povezuje s razvojem DN u djece među kojima se hiperglikemija izražena kao vrijednost HbA1c smatra dominantnim faktorom rizika. Tako je u *DCCT/EDIC* studiji (*Diabetes Control and Complications Trial / Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*) na 195 ispitanika u dobi od 13 do 17 godina nedvojbeno dokazano da je rizik za razvoj i progresiju dijabetičkih komplikacija u ŠB tip 1 usko povezan s razinom glikemijske kontrole, a intenziviran program liječenja doveo je do 54% smanjenja albuminurije (34). Prema smjernicama ISPAD-a iz 2014. godine kao i preporukama Američkog društva za dijabetes (ADA) iz 2017. godine ciljna vrijednost HbA1c <7,5% preporuča se kao optimalna vrijednost za čitavu pedijatrijsku populaciju (35, 36). Najnovije ISPAD-ove smjernice iz 2018. godine daju preporuku da ta vrijednost bude <7% za djecu, adolescente i mlade odrasle koji imaju osiguranu sveobuhvatnu skrb (37).

Nadalje, ženski spol, trajanje ŠB, hipertenzija, visoko normalno izlučivanje albumina u urinu, povišen LDL kolesterol i trigliceridi, visok indeks tjelesne mase i pušenje navode se kao rizični čimbenici za razvoj mikroalbuminurije u djece i adolescenata (38 – 43).

Uz hiperglikemiju, trajanje ŠB prepoznato je kao glavni čimbenik za razvoj DN, ali i drugih komplikacija. Dugo je već poznato da su duže trajanje bolesti, starija dob i pubertet faktori rizika za nastanak komplikacija ŠB. Uloga prepubertetskog trajanja ŠB na pojavu albuminurije predmetom je rasprave. Dok prema nekim autorima prepubertetski početak ŠB nema utjecaj na razvoj mikroalbuminurije, drugi autori smatraju da moguća pojava mikroalbuminurije prije puberteta ukazuje kako prepubertetsko trajanje bolesti ipak doprinosi riziku za razvoj mikroalbuminurije (38, 44, 45). Veći značaj za razvoj mikrovaskularnih komplikacija pridaje se utjecaju puberteta s obzirom na viši rizik za vaskularne komplikacije u onih koji imaju ŠB tijekom puberteta u usporedbi s mladim ljudima koji su dobili ŠB nakon puberteta (46). Tako je u normoalbuminurične prepubertetske, pubertetske i postpubertetske djece s istim trajanjem bolesti godišnja progresija albuminurije bila značajno viša u pubertetskoj u odnosu na preostale dvije skupine (47).

U nekoliko radova dokazano je kako je ukupno trajanje bolesti ono koje određuje kumulativni rizik za mikroalbuminuriju (38, 45, 48). Također, rezultati *International Diabetic Nephropathy Study Group*

pokazali su da je ukupno trajanje bolesti, a ne trajanje bolesti prije i nakon puberteta čimbenik koji je utjecao na progresiju strukturnih promjena u bubrezima (49).

Prospektivne studije u odraslih pokazale su da je viši AT, čak i unutar normalnog raspona, prediktivan za razvoj DN (50,51). Bolesnici sa ŠB tip 1 i uznapređovalom DN imaju viši prosječan AT tijekom adolescencije (52). Dobro je poznato i kako je porast AT povezan s porastom albuminurije i u djece i u odraslih (40, 53). Više studija nedvojbeno je potvrdilo ranu i usku poveznicu između AT i rastućih vrijednosti albuminurije, čak i unutar normalnih vrijednosti (54, 55). Stoga je prema smjernicama ISPAD-a rano otkrivanje DN i liječenje povišenog AT ključno u prevenciji bubrežnog zatajenja u djece sa ŠB (19).

### **1.2.3. Albuminurija kao biljeg dijabetičke nefropatije**

Iako se danas smatra da je najbolji prediktor budućeg bubrežnog zatajenja trenutna vrijednost eGFR i kretanje njezinih vrijednosti u prošlosti, albuminurija kao biljeg glomerularnog oštećenja i dalje se opisuje kao prvi klinički znak početne DN (19).

Albuminurija je prema KDIGO (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) smjernicama definirana u tri kategorije (56). Pritom se albuminurija A1 s vrijednostima ACR <3 mg/mmol smatra normalnom do blago povišenom, albuminurija A2 s vrijednostima ACR 3-30 mg/mmol umjereno povišenom, dok se albuminurija A3 s vrijednostima ACR >30 mg/mmol definira kao značajno povišena. Prema smjernicama ISPAD-a mikroalbuminurijom se smatraju vrijednosti ACR 2,5 – 25 mg/mmol kod muške djece te 3,5 – 25 mg/mmol u ženske djece, odnosno normoalbuminurijom se smatraju vrijednosti ACR < 2,5 mg/mmol kod muške djece i ACR < 3,5 mg/mmol kod ženske djece (57). Sve vrijednosti iznad onih definiranih za mikroalbuminuriju označavaju se kao makroalbuminurija.

Zbog biološke varijabilnosti urinarnoga lučenja albumina, dva od tri uzorka u razdoblju od 3 do 6 mjeseci trebaju biti pozitivna da bi se postavila dijagnoza perzistentne mikroalbuminurije (19,58). Tjelovježba unutar 24 sata, upala, vrućica, kongestivno srčano zatajenje, značajna hiperglikemija, menstruacija i hipertenzija mogu biti uzroci povišenog lučenja albumina u urinu neovisno o bubrežnom oštećenju.

Probir za albuminuriju provodi se kao određivanje omjera albumin/kreatinin (ACR) iz uzorka prvog jutarnjeg urina ili određivanjem albumina u 24- satnom urinu. Kako je sakupljanje 24- satnog urina zahtjevnija metoda sa zanemarivo većom preciznošću u odnosu na pojedinačni uzorak, u kliničkoj



praksi preferira se određivanje ACR (58). Probir se preporuča jednom godišnje nakon navršenih 10 godina ili s početkom puberteta ako to nastupi ranije te nakon 2 do 5 godina trajanja ŠB (19).

U Oxfordskoj prospektivnoj studiji o dijabetesu u djece (*Oxford Regional Prospective Study of Childhood Diabetes*) dobiveni su precizni podaci o prevalenciji mikroalbumurije u kohorti djece i adolescenata praćenih od trenutka postavljanja dijagnoze ŠB. Kumulativna prevalencija mikroalbuminurije nakon 10 godina praćenja bila je 25,7%, a nakon 19 godina iznosila je 50,7% (59).

Albuminurija nije samo znak bubrežnoga oštećenja, već predstavlja snažan prediktor kardiovaskularnoga morbiditeta i mortaliteta, osobito u bolesnika s visokim kardiovaskularnim rizikom i već postojećim vaskularnim oštećenjem (60). Iako je albuminurija snažan prediktor progresije dijabetičke bolesti bubrega, manjka joj specifičnost i senzitivnost za progresivni pad eGFR i nastanak završnog stupnja bubrežnog zatajenja (61).

Mikroalbuminurija nije specifična za dijabetičku bolest bubrega, jer se može javiti u dijabetičara bez postojeće ili buduće DN, ali i u ne-dijabetičara s progresivnom kroničnom bubrežnom bolešću. U ŠB tip 2 velik dio bolesnika s progresijom bubrežne bolesti je normoalbuminuričan, a slični rezultati uočeni su i kod ŠB tip 1 gdje je albuminurija imala slabu pozitivnu prediktivnu vrijednost za dijabetičku bolest bubrega, jer je samo 1/3 bolesnika s mikroalbuminurijom imala progresivni pad bubrežne funkcije (62, 63).

Usprkos tome što mikroalbuminurija povećava vjerojatnost za razvoj bubrežne bolesti, u mnogih odraslih i djece dolazi do regresije mikroalbuminurije (30-40%) te se smatra da mikroalbuminurija vjerojatno predstavlja reverzibilno oštećenje endotela (64 - 66), a manje biljeg specifične i ireverzibilne dijabetične bubrežne bolesti. Nadalje, dok se u većine bolesnika sa ŠB tip 1 viđa klasični obrazac makroalbuminurije koja prethodi padu eGFR, u manjeg broja pad eGRF događa se ili nakon pojave mikroalbuminurije (kod 16% bolesnika) ili čak uz normoalbuminuriju (kod 24% bolesnika) (67). Također, iako je makroalbuminurija udružena s 50 puta većim rizikom progresije u bubrežno zatajenje, 60% bolesnika s makroalbuminurijom održava eGFR >60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> čak i nakon 15 godina praćenja (66). Ova opažanja ukazuju kako je makroalbuminurija znak značajnog bubrežnog oštećenja. Njena prisutnost, međutim, ne znači nužno propadanje bubrežne funkcije i razvoj završnog stupnja bubrežnog zatajenja kod svih bolesnika. Osim toga, značajno bubrežno oštećenje moguće je i u odsutnosti mikro- pa čak i makroalbuminurije (68).

Pojava mikroalbuminurije obično jest najraniji klinički znak DN, no paradigma o njejoj ulozi u ranoj DN u ŠB tip 1 dovedena je u pitanje posljednjih nekoliko godina nakon što je dokazano kako mikroalbuminurija, kao što je već navedeno, ne znači nužno progresivnu nefropatiju, već štoviše može regresirati u normoalbuminuriju. Istovremeno je uočeno kako rani progresivni pad bubrežne

funkcije definiran kao godišnji pad eGFR >3,3% ili 3 ml/min/1,73m<sup>2</sup> prethodi mikroalbuminuriji i smatra se prediktivnijim za procjenu progresije bubrežne insuficijencije u odnosu na mikroalbuminuriju (69,70).

Na tragu ove spoznaje kao nova paradigma DN u ŠB tip 1 predlaže se progresivni pad bubrežne funkcije (63). To se obrazlaže činjenicom da je progresivni pad bubrežne funkcije jednosmjerni proces superponiran na prirodni tijek albuminurije koja može regredirati, ostati ista ili progredirati. Za razliku od toga, pad bubrežne funkcije nakon što je započeo progredira prema bubrežnom zatajenju, iako se tempo propadanja bubrežne funkcije događa u izrazito širokom rasponu znatno varirajući od osobe do osobe. Liječnici su, stoga, suočeni s izazovom prepoznavanja bolesnika u kojih će se razviti progresivni pad bubrežne funkcije kao i bolesnika sa sporom progresijom pada bubrežne funkcije.

Za dijagnozu DN u ŠB tip 1 danas se mogu koristiti dva testa: određivanje albuminurije kao pokazatelja glomerularnog oštećenja i koncentracije serumskoga kreatinina kao pokazatelja bubrežne funkcije (71).

Naše razumijevanje čimbenika koji djeluju na rani pad eGFR je za sada ograničeno i nejasno je počinje li taj proces u glomerulu, tubulu, intersticiju ili krvnim žilama. Nedvojbeno je da se albuminurija i eGFR ne mogu promatrati odvojeno na što ukazuju rezultati Druge Joslin kliničke studije (2<sup>nd</sup> Joslin Kidney Study on Natural History of Early Renal Decline in T1D) u kojoj je prevalencija bolesnika s padom bubrežne funkcije prema ranije navedenim kriterijima bila 10% u normoalbuminuričnih, 32% u mikroalbuminuričnih i 50% u makroalbuminuričnih bolesnika sa ŠB tip 1 (63).

Usprkos nedovoljno jakoj prediktivnoj vrijednosti za procjenu pada eGFR, albuminurija i dalje ima centralno mjesto u dijagnostici DN. Uočeno je da se osobe rizične za razvoj DN mogu otkriti unutar prvih nekoliko godina od postavljanja dijagnoze ŠB, jer je razvoj mikroalbuminurije udružen s višim ACR ili s višom stopom porasta ACR unutar 1 i 2,5 godina ili unutar prvih 5 godina od početka ŠB (72). U studiji u kojoj je bilo uključeno 170 djece, adolescenata i mladih odraslih s prosječnim trajanjem ŠB od 8 godina početni ACR unutar raspona normoalbuminurije bio je viši u onih koji su nakon 5-godišnjeg praćenja razvili mikroalbuminuriju nego u ispitanika koji su ostali normoalbuminurični (73). Slično, djeca i adolescenti s graničnom mikroalbuminurijom imali su dva puta veću vjerojatnost za razvoj perzistentne mikroalbuminurije, odnosno samo jednokratno registrirana mikroalbuminurija bila je snažan prediktor perzistentne mikroalbuminurije i proteinurije 18 godina kasnije u bolesnika sa ŠB tip 1 otkrivenoj u djetinjstvu (74, 75).

Porast ACR u normoalbuminuričnom rasponu odvija se paralelno s morfološkim promjenama početne dijabetičke glomerulopatije, a viši ACR unutar normalnog raspona povezan je s izraženijim lezijama glomerula (73, 76). Stoga, iako se albuminurija radi jednostavnije procjene rizika

kategorizira kao normo-, mikro- i makroalbuminurija radi se o kontinuiranoj varijabli čije vrijednosti u gornjoj polovici normalnoga raspona predstavljaju rizik za razvoj mikroalbuminurije i DN, kao što je dokazano u studijama u odraslih (77, 78). Uloga visoko normalne albuminurije u predikciji kasnije mikroalbuminurije dokazana je i u djece u Oxfordskoj prospektivnoj studiji u kojoj su tercile ACR fenotipa u dobi od 11 do 15 godina bile prediktivne za kasniji rizik razvoja mikroalbuminurije, odnosno svi ispitanici koji su razvili kliničku proteinuriju imali su inicijalno ACR u najvišoj tercili (79).

Prošlo je više od dva desetljeća otkako je mikroalbuminurija prihvaćena kao rani biljeg DN i postavljena kao zlatni standard za dijagnozu i predikciju progresije bubrežne bolesti u oba tipa ŠB. Međutim, iako se radi o široko dostupnoj metodi pogodnoj za svakodnevni klinički rad, danas znamo da njena prediktivna vrijednost nije snažna. Stoga se posljednjih godina intenzivno provode istraživanja potencijalnih novih biljega koji prethode mikroalbuminuriji i imaju veću prediktivnu vrijednost u ranom otkrivanju, ali i praćenju progresije DN. Studije se uglavnom razvijaju u dva pravca: istraživanja poveznice između razine albuminurije i vrijednosti AT i istraživanja uloge tubularnoga oštećenja u razvoju DN.

#### **1.2.4. Arterijski tlak i dijabetička nefropatija**

Arterijska hipertenzija je jedan od vodećih rizičnih čimbenika za razvoj kardiovaskularne bolesti na koji je moguće utjecati. U odraslih bolesnika sa ŠB prevalencija arterijske hipertenzije veća je nego u općoj populaciji, a već desetljećima je poznato kako kardiovaskularne bolesti predstavljaju glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta u odraslih sa ŠB tip 1 (80). Arterijska hipertenzija je prisutna u više od 50% odraslih bolesnika sa ŠB i značajno doprinosi razvoju mikro- i makrovaskularnih komplikacija (81). Rizik za kardiovaskularnu bolest je četiri puta veći u bolesnika sa ŠB i hipertenzijom u odnosu na normotenzivne ne-dijabetičare (82). Meta-analizom 102 prospektivne studije koje su uključile ukupno 698 782 ispitanika nađeno je kako je ŠB odgovorna za približno dva puta veći rizik za koronarnu bolest, moždani udar i smrt kardiovaskularnog uzroka (srčano zatajenje, aritmija, nagla smrt, hipertenzivna bolest i aneurizma aorte) (83). Ovi podaci govore da se oko 10% smrti uslijed vaskularne bolesti u razvijenim zemljama može pripisati ŠB što osobito zabrinjava s obzirom na rastuću incidenciju ŠB. U Framinghamskoj studiji (*The Framingham Heart Study*) ŠB je bila udružena s 2-4 puta većim rizikom za infarkt miokarda, kongestivno srčano zatajenje, perifernu vaskularnu bolest, moždani udar i smrt (84). Recentnija analiza Framinghamskih podataka pokazala je da je populacija s arterijskom hipertenzijom u vrijeme postavljanja dijagnoze ŠB imala više stope

mortaliteta svih uzroka u usporedbi s normotenzivnim osobama sa ŠB sugerirajući zaključak kako se velik dio dodatnoga zdravstvenoga rizika u osoba sa ŠB može pripisati arterijskoj hipertenziji (85).

Kako vaskularno remodeliranje u ŠB tip 1 počinje već u djetinjstvu i pojačano je u prisustvu arterijske hipertenzije, rano otkrivanje povišenoga AT postaje ključno za prevenciju budućih mikro- i makrovaskularnih komplikacija, uključujući i DN .

Usprkos rastućim dokazima kako je ŠB tip 1 neovisan rizični čimbenik za kardiovaskularnu bolest, razmjerno je malo podataka o prevalenciji arterijske hipertenzije u pedijatrijskih bolesnika sa ŠB (86). Prema *SEARCH* studiji, velikom multicentričnom populacijskom istraživanju provedenom u Sjevernoj Americi, prevalencija arterijske hipertenzije u djece sa ŠB tip 1 kreće se oko 6%, dok je u drugim studijama procijenjena prevalencija iznosila varijabilnih 4-16%, ne razlikujući se bitno od prevalencije arterijske hipertenzije u općoj pedijatrijskoj populaciji koja se kreće od 2,2-13% u Europi, odnosno SAD-u (87 - 92). Navedena istraživanja ukazala su i na zabrinjavajući podatak kako je arterijska hipertenzija u djece sa ŠB često neprepoznata i neliječena.

#### **1.2.4.1. Patofiziologija povišenoga arterijskoga tlaka u šećernoj bolesti**

Šećernoj bolesti i arterijskoj hipertenziji zajedničko je nekoliko patofizioloških mehanizama koji uključuju neadekvatnu aktivaciju sustava renin- angiotenzin -aldosteron (RAAS), oksidativni stres uslijed prekomjernoga stvaranja reaktivnih spojeva kisika (ROS), poremećenu vazodilataciju posredovanu inzulinom, prekomjernu aktivaciju simpatičkoga živčanog sustava i nefiziološku bubrežnu regulaciju natrija (81). Također, kao važni čimbenici koji utječu na razvoj povišenoga AT u bolesnika sa ŠB ističu se endotelna disfunkcija, hiperglikemija, angiotenzin I i II i upala.

Endotel ima važnu ulogu u održavanju normalnoga vaskularnog tonusa preko lučenja dušičnoga oksida (vazodilatatora) i endotelina-1 (vazokonstriktora), a endotelna disfunkcija nastaje kad se naruši njihova homeostaza (93). Prema Steno hipotezi albuminurija nije samo biljeg nefropatije, već i retinopatije i makroangiopatije te se može smatrati znakom generalizirane endotelne disfunkcije (94). Mehanizmi koji dovode do endotelne disfunkcije nisu još u potpunosti razjašnjeni i vjerojatno su multifaktorijalni, a ključnim čimbenicima smatraju se hiperglikemija i intracelularni oksidativni stres (95).

Trajna hiperglikemija procijenjena kao HbA1c u bolesnika sa ŠB tip1 predstavlja rizični čimbenik za razvoj arterijske hipertenzije ne samo u odraslih, već i u djece i adolescenata (87, 96). Učinak hiperglikemije na stijenku krvne žile ostvaruje se preko pojačane proizvodnje reaktivnih spojeva

kisika (ROS) što rezultira smanjenom bioraspoloživostu dušičnoga oksida vodeći u endotelnu disfunkciju, vazokonstrikciju i povećan periferni vaskularni otpor (97).

Aktivacija sustava renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) dobro je poznat uzrok arterijske hipertenzije (98). Angiotenzin II glavni je medijator RAAS sustava koji potiče sintezu aldosterona u kori nadbubrežne žlijezde i stimulira oslobađanje antidiuretskog hormona čime dolazi do pojačane bubrene apsorpcije natrija. Angiotenzin II ima i direktno vazokonstriktivno djelovanje i stimulira aktivnost simpatikusa.

Upalni citokini uključeni su u endotelnu disfunkciju neovisno o inicijalnom uzroku. U mladih odraslih sa ŠB tip 1 hiperglikemija je dovela do upalnog odgovora s povišenim TNF $\alpha$ , a vezano uz hiperglikemiju opisan je i porast proinflammatoryh citokina IL-1 $\alpha$ , IL-4 i IL-6 (99, 100).

#### **1.2.4.2. Uloga kontinuiranoga mjerenja arterijskoga tlaka (KMAT)**

Iako regulacija AT ima neosporno važnu ulogu u razvoju komplikacija ŠB u više istraživanja je dokazano kako se ordinacijskim i kućnim mjerenjem AT arterijska hipertenzija ne može otkriti u značajnog broja bolesnika. Kao pouzdanija metoda ističe se kontinuirano 24 h mjerenje arterijskoga tlaka (KMAT) (101, 102). KMAT je danas nezamjenjiv za postavljanje ispravne dijagnoze arterijske hipertenzije (103). Ima veću reproducibilnost u usporedbi s kućnim i ordinacijskim mjerenjima i u odnosu na njih pokazuje bolju korelaciju s oštećenjima ciljnih organa (104, 105). Nadalje, ključan je za dijagnosticiranje hipertenzije bijele kute i maskirane hipertenzije. Prednosti KMAT-a uključuju mjerenje AT u ispitaniku bliskom okruženju uklanjajući time „efekt bijele kute“ uz mogućnost procjene cirkadijarne varijabilnosti AT (npr. fiziološki porast AT pri tjelesnoj aktivnosti, noćni pad tlaka i dr.). Osim toga, KMAT-om možemo procijeniti prosječan AT, izračunati postotak povišenih vrijednosti AT koje prelaze 95. centilu (*engl. blood pressure load*) te procijeniti varijabilnost AT i jutarnji skok AT što su sve parametri za koje je dokazano da imaju važnu prognostičku vrijednost (106).

Za razliku od ordinacijskoga AT, određeni parametri KMAT-a dobro koreliraju s morfološkim promjenama na bubregu. Tako je u studiji u kojoj je kroz 6 godina praćeno 29 adolescenata sa ŠB tip 1 i kod kojih je učinjena biopsija bubrega na početku i na kraju studije, vrijednost noćnog tlaka pri prvoj biopsiji bila prediktivna za morfološke promjene pri drugoj biopsiji. Također, kod ispitanika s izostankom noćnog pada AT uočene su teže morfološke promjene (107).

Prema važećim Europskim smjernicama za povišen AT u djece i adolescenata KMAT se preporuča provesti u svakog djeteta sa ŠB, dok je preporuka ISPAD-a da se dijagnoza hipertenzije u djece sa ŠB potvrdi KMAT-om (19, 91).

Klinička vrijednost KMAT-a u djece i adolescenata sa ŠB tip 1 uključuje:

1. Mogućnost dijagnosticiranja hipertenzije bijele kute i maskirane hipertenzije. Kod hipertenzije bijele kute ordinacijski mjeren AT je povišen ( $\geq 95$ . centile), a prosječne vrijednosti u KMAT-u su  $< 95$ . centile uz postotak prekoračenja 95. centile ispod 25%. Maskiranu hipertenziju definira normalan ordinacijski tlak ( $< 95$ . centile) uz vrijednosti u KMAT-u  $> 95$ . centile i postotak prekoračenja 95. centile  $> 25\%$  (108). Oba ova stanja povezana su s rizikom za razvoj trajne hipertenzije i povećanim kardiovaskularnim rizikom kasnije u životu.
2. Mogućnost prepoznavanja noćne hipertenzije. U zdravih osoba AT noću pada za 10% ili više u odnosu na dnevne vrijednosti. Ukoliko taj pad izostaje, raste rizik oštećenja ciljnih organa (109).
3. Mogućnost procjene učinkovitosti antihipertenzivne terapije. Podcijenjenost ili precijenjenost vrijednosti AT može rezultirati neadekvatnim liječenjem, stoga je njena ispravna procjena veoma važna. Istraživanja su pokazala da korištenje KMAT-a umjesto pojedinačnih ordinacijskih mjerenja AT dovodi do manje potrebe za antihipertenzivnim lijekovima (110).

#### **1.2.4.3. Veza arterijskoga tlaka i albuminurije u bolesnika sa šećernom bolešću**

Mikroalbuminurija je najčešće korišten rani klinički pokazatelj DN, inicijalno prepoznat kao prediktor progresije bubrežne bolesti u oba tipa ŠB. Mikroalbuminurija, znak oštećenja glomerula u tradicionalnom poimanju razvoja bubrežne bolesti, prelazi u makroalbuminuriju što je često povezano s padom glomerularne filtracije i razvojem bubrežnog zatajenja. To se osobito događa uz prisutnost dodatnih faktora rizika kao što je primjerice arterijska hipertenzija. Međutim, mikroalbuminurija kao metoda otkrivanja dijabetičke bolesti bubrega ima i brojne nedostatke i ograničenu prediktivnu vrijednost. Neki bolesnici bez mikroalbuminurije razvijaju uznapredovale patološke promjene na bubrezima ukazujući da mikroalbuminurija nije optimalan biljeg za rano otkrivanje bubrežne bolesti (111).

Bubrežno oštećenje i DN u oba tipa ŠB vrlo su rijetki u djetinjstvu i adolescenciji. No, u predisponiranih bolesnika dijabetička bolest bubrega počinje ubrzo nakon postavljanja dijagnoze ŠB

(112). Temeljem navedenih spoznaja te uz znanu činjenicu o utjecaju AT na progresiju bubrežne bolesti bilo kojeg tipa, krenula su istraživanja o mogućoj vezi AT i pojave bubrežnog oštećenja u djece sa ŠB.

U bolesnika sa ŠB tip 1 i normoalbuminurijom prevalencija arterijske hipertenzije definirane prema vrijednostima ordinacijskoga tlaka slična je onoj u općoj populaciji (113). Potom, kad se u bolesnika sa ŠB tip 1 otkrije mikroalbuminurija ukazujući na razvoj DN, ordinacijski mjeren AT i nadalje je uglavnom normalan. Stoga, korištenje konvencionalne definicije arterijske hipertenzije navodi na zaključak da se arterijska hipertenzija razvija tijekom progresije DN.

Istraživanja KMAT-a u osoba sa ŠB još pred 20-ak godina pokazala su kako bolesnici sa ŠB tip 1 i mikroalbuminurijom imaju viši noćni AT u odnosu na bolesnike sa ŠB bez albuminurije ili u odnosu na zdrave osobe (114 - 116). Ove studije su pokazale da je u ŠB tip 1 početna nefropatija često udružena s noćnom hipertenzijom. Nakon navedenih istraživanja u jednom od ključnih radova na ovom području Lurbe i sur. postavili su hipotezu da kod ŠB tip 1 i početne nefropatije noćna arterijska hipertenzija prethodi albuminuriji te bi tako promjene AT mogle biti rani biljeg DN i prije pojave albuminurije (117). U svom istraživanju pratili su kroz 5 godina 75 adolescenata i mladih odraslih sa ŠB tip 1, inicijalnom normoalbuminurijom i urednim AT prema ordinacijskim mjerenjima i KMAT-u. Ustanovili su da je prosječan noćni sistolički tlak bio značajno povišen u skupini koja je na kraju studije razvila albuminuriju u odnosu na skupinu s normoalbuminurijom. Zaključili su kako u osoba sa ŠB tip 1 porast noćnoga sistoličkog tlaka prethodi razvoju albuminurije. Nasuprot tome, u ispitanika u kojih se mikroalbuminurija nije razvila tijekom 5 godina nije zabilježen značajan porast ni dnevnog ni noćnog AT. Važnost ovog istraživanja jest i u tome što se niti ordinacijski AT niti dnevna mjerenja AT u KMAT-u nisu mijenjala u ispitanika koji su u konačnici razvili mikroalbuminuriju te se ističe porast noćnoga sistoličkog AT kao najraniji pokazatelj narušene regulacije AT u ŠB tip 1. Rezultati ovog istraživanja su također pokazali da je na rizik za progresiju u mikroalbuminuriju utjecala i vrijednost HbA1c, iako se mikroalbuminurija nije razvila u skupini ispitanika s lošom metaboličkom kontrolom i urednim AT. Stoga autori smatraju kako bi, neovisno o razini metaboličke kontrole bolesti upravo porast AT koji prethodi pojavi mikroalbuminurije mogao imati ključnu ulogu u razvoju DN.

Kada se razmatra moguća uloga AT u razvoju DN potrebno je spomenuti i veliku multicentričnu studiju provedenu u Njemačkoj i Austriji koja je obuhvatila 2105 djece sa ŠB tip 1. Cilj studije bio je analizirati rizične čimbenike koji dovode do odstupanja u KMAT-u i do pojave mikroalbuminurije. Rezultati istraživanja pokazali su kako djeca sa ŠB tip 1 imaju povišene vrijednosti noćnoga AT uz izostanak noćnog pada AT. Pojava mikroalbuminurije bila je povezana s izostankom pada noćnog dijastoličkog AT usprkos relativno kratkom trajanju bolesti. U multiploj regresijskoj analizi doza

inzulina, ženski spol, ITM, HbA1c i trajanje bolesti bili su čimbenici povezani s povišenim vrijednostima AT u KMAT-u (118). Povišene vrijednosti sistoličkoga tlaka bile su snažno povezane s trajanjem bolesti, ITM i ženskim spolom uz napomenu da su ženski ispitanici imali statistički značajno viši ITM u odnosu na muške ispitanike. Dob ispitanika i HbA1c nisu imali utjecaja na sistolički AT. Dijastolički AT je bio povezan s trajanjem bolesti, ženskih spolom i vrijednošću HbA1c. Dnevni dijastolički tlak bio je dodatno povezan s ITM, a noćni dijastolički tlak s dobi i dozom inzulina.

Za razliku od hipoteza o promjenama AT koje prethode pojavi albuminurije, u nekim studijama se ova teza ne podržava, već se sugerira istovremena pojava oba fenomena (119, 120).

Iz svega navedenog vidljivo je da su AT i ŠB povezani ne samo patofiziološki, već je ta povezanost, kako je ranije navedeno, dokazana u epidemiološkim istraživanjima u kojima je u bolesnika sa ŠB potvrđena značajno viša prevalencija arterijske hipertenzije u odnosu na opću populaciju (80). Također, postoji i jasna veza između odstupanja u parametrima KMAT-a i razvoja mikroalbuminurije, odnosno DN. Činjenica kako inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACEi) i blokatori angiotenzinskih receptora (ARB) povoljno utječu ne samo na AT već i na smanjenje proteinurije ukazuje na zajednički patofiziološki mehanizam u razvoju oba poremećaja. Međutim, ova dva parametra ne mogu se promatrati izolirano, već samo u kontekstu postojeće ŠB i drugih čimbenika koji na njih mogu utjecati. To su prvenstveno razina metaboličke kontrole ŠB, dužina trajanja bolesti i dob bolesnika. Stoga je teško sa sigurnošću tvrditi prethode li promjene AT pojavi albuminurije ili se, kao vjerojatnija teza, oba događaja odvijaju istovremeno, tj. albuminurija i porast AT vjerojatno su manifestacija istoga patofiziološkog događaja.

Određivanje albuminurije je metoda pogodna za svakodnevni klinički rad, no kako je već navedeno, njena prediktivna vrijednost za procjenu pada bubrežne funkcije je razmjerno slaba. Nedostatak ove metode kao biljega razvoja DN jest i u tome što u određenoga broja bolesnika dolazi do regresije albuminurije. Nadalje, zbog relativno kratkog trajanja bolesti ona se rijetko dijagnosticira u pedijatrijskoj populaciji, a dio bolesnika sa ŠB ima razvijenu bubrežnu bolest i bez pojave mikro- ili makroalbuminurije.

Na tragu ovih činjenica i novijih spoznaja o ulozi tubularnog oštećenja u razvoju DN, započela su istraživanja potencijalnih tubularnih biljega kao mogućih najranijih pokazatelja DN.



### 1.2.5. Biljezi tubularnoga oštećenja u ranom otkrivanju dijabetičke nefropatije

Rani klinički znak zahvaćenosti bubrega u ŠB još uvijek se definira pojavom patoloških vrijednosti albuminurije. Poznato je da su albuminurija i proteinurija primarno posljedice oštećenja glomerula uzrokovanoga ŠB. Međutim, novija istraživanja potakla su sumnju je li to jedini mehanizam bubrežnoga oštećenja u ovoj bolesti. Danas je poznato kako lezije tubulointercicija također imaju važnu ulogu u nastanku DN, a posljedica su trajne izloženosti raznim metaboličkim i hemodinamskim čimbenicima tipičnim za ŠB (121). Trajna proteinurija također izaziva tubularno oštećenje s obzirom da je trajan protok plazmatskih proteina unutar lumena tubula štetan za epitelne stanice zbog progresivne intratubularne aktivacije kaskade komplementa. Ovaj proces može voditi u tubularnu upalu i tubulointercicijsku fibrozu koja u konačnici rezultira razvojem kronične bubrežne bolesti (122).

Literaturni podaci podržavaju tezu da težina kronične bubrežne bolesti u ŠB ne ovisi samo o težini lezija glomerula, već i o promjenama tubulointercicija. Bubrežna funkcija i prognoza bolje koreliraju s tubulointercicijskim promjenama, nego s težinom oštećenja glomerula, a današnje spoznaje ukazuju da tubulointercicijske promjene najvjerojatnije prethode lezijama glomerula (123). Histološka istraživanja pokazala su da je proksimalna tubularna bazalna membrana zadebljana u normoalbuminuričnih bolesnika sa ŠB u usporedbi sa zdravim kontrolama (124). Istraživanje provedeno među mikroalbuminuričnim dijabetičarima sa sličnim vrijednostima eGFR pokazalo je da samo 29% ima histološke promjene glomerula tipične za DN, dok je 42% ispitanika imalo teška tubulointercicijska oštećenja nesrazmjerna blagim glomerularnim promjenama (125). Činjenica da kultivirane tubularne proksimalne i intersticijske stanice direktno reagiraju na visoke razine glukoze sintezom profibrotičkih medijatora podržava koncept da je oštećenje tubulointercicija primarno, a ne sekundarno u razvoju DN (126). Također, iako je glomeruloskleroza tradicionalno glavni nalaz u DN, obim tubulointercicijskog oštećenja jest čimbenik koji u konačnici određuje brzinu propadanja bubrežne funkcije, a glomerularna i vaskularna disfunkcija dodatno pridonose progresivnoj nefropatiji (127).

Dijabetička tubulopatija karakterizirana je raznolikim strukturnim i funkcionalnim promjenama kao što su hipertrofija tubuloepitelnih stanica, smanjen transport iona, zadebljanje bazalne membrane, epitelno-mezenhimalna tranzicija i tubularno nakupljanje glikogena. Te promjene prisutne su i prije pojave albuminurije (121). Tubularne stanice izravno su ugrožene povećanom koncentracijom glukoze u krvi, a suvišak glukoze u glomerularnom filtratu vodi u pojačanu reapsorpciju glukoze u proksimalnim tubulima pojačavajući učinak hiperglikemije. Visoka unutarstanična razina glukoze vodi u pojačano stvaranje glikacijskih završnih produkata koji mogu direktno oštetiti bubrežne tubule

(128). Pojačana tubuloglomerularna povratna sprega može neovisno doprinijeti glomerularnoj hiperfiltraciji i proteinuriji.

Nespecifične strukturne promjene osobito su prisutne u proksimalnim tubulima vodeći u teoriju da aktivacija mehanizama koji rezultiraju tubularnim oštećenjem predstavlja zapravo put koji vodi u glomerularnu disfunkciju bilo kojeg uzroka, uključujući i ŠB. Disregulacija tubularne funkcije ili tzv. tubularna faza u ŠB stoga može prethoditi ili se razvijati istovremeno s patognomoničnim promjenama glomerula i početkom albuminurije. Tako je tubularna hipertrofija prisutna nakon samo nekoliko dana trajanja hiperglikemije i udružena je s povećanom reapsorpcijom natrija i aktivacijom intrarenalnog sustava renin- angiotenzin (129). Stoga se danas smatra da promjene bubrežnih tubula nisu samo posljedica, već važan čimbenik u razvoju progresivne bubrežne bolesti.

Iako podjela nefrona u svrhu znanstvene analize može biti opravdana, vjerojatno je ipak interakcija tubula, glomerula i intersticija ključ razumijevanja kompleksnoga poremećaja kao što je DN. Iz svega navedenog neosporno je da tubuli imaju važnu ulogu u razvoju DN, bilo da inicijalni proces oštećenja kreće iz tubula ili se razvija paralelno s oštećenjem ostalih dijelova nefrona.

Istraživanja biljega tubularnog oštećenja primarno su započeta s ciljem ranog otkrivanja akutnog bubrežnog oštećenja. Tražene karakteristike ovih biljega bile su neinvazivnost, uzorkovanje iz lako dostupnog biološkog materijala, analitika koja omogućava brzo dobivanje rezultata, senzitivnost te postojanje referentnih vrijednosti koje omogućavaju stratifikaciju rizika.

U tom pravcu za procjenu oštećenja proksimalnog tubula istraživani su brojni urinarni enzimi, među kojima najviše *kidney injury molecule-1* (KIM-1), N-acetil- $\beta$ -D-glukozaminidaza (NAG), *liver-type fatty acid-binding protein* (L-FABP), interleukin-18, monocitni kemotaktički peptid-1 (MCP-1) i *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL) (130, 131, 132).

#### **1.2.5.1. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)**

U posljednjem desetljeću lipokalin povezan s neutrofilnom želatinazom (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL) pojavio se u kliničkoj i eksperimentalnoj nefrologiji kao jedan od potencijalno najboljih ranih biljega bubrežnog oštećenja koji je uključen u patofiziologiju ne samo akutnoga, već i kroničnoga bubrežnog oštećenja (133,134).

Nakon toksičnog ili ishemijskog bubrežnog oštećenja u tubulima unutar par sati dolazi do sinteze NGAL-ove mRNA ukazujući da ovaj protein pripada ograničenoj skupini bubrežnih stresnih biljega

uključenih u patofiziološki proces akutnog bubrežnog oštećenja. Osim u eksperimentalnim uvjetima, uloga serumskog i urinarnog NGAL-a (uNGAL) kao jednog od najvažnijih biomarkera nove generacije u polju akutnog bubrežnog oštećenja potvrđena je i kliničkim istraživanjima (135,136) .

Recentni pregled dijagnostičkih biljega pokazao je da tubularni biljezi kao KIM-1, NAG, L-FABP,  $\alpha$ -1 mikroglobulin, kao i drugi biljezi npr. nefrin i angiotenzinogen, mogu biti povišeni prije pojave mikroalbuminurije u ŠB tip 1 i 2 (137,138) . Slično, povišen uNGAL bio je prisutan u normoalbuminuričnih dijabetičara kao biljeg tubularnoga oštećenja i kao preteča razvoja mikroalbuminurije u ŠB tipa 1 (139).

NGAL je mali protein (25 kDa) koji pripada porodici lipokalinskih proteina, kovalentno vezan za želatinazu iz humanih neutrofila. Izlučuje se u malim količinama u tkivu pluća , bubrega, dušnika, želuca i debelog crijeva. Osim NGAL-a, u ovu porodicu ubrajaju se i  $\alpha$  1- mikroglobulin, retinol- vežući protein 4, prostaglandin D sintetaza i nitroforini koji su svi specijalizirani za vezivanje i transport malih hidrofobnih molekula.

U zdravom odraslom bubregu NGAL se, kao i slični mali lipokalini, filtrira u glomerulima i u fiziološkim uvjetima gotovo u potpunosti reapsorbira u proksimalnom tubulu. Ova reapsorpcija je posredovana vezanjem za proteinski transporterski kompleks kubilin-megalin koji je posebice izražen na četkastom rubu tubularnih stanica. NGAL se potom procesom endocitoze uklanja iz tubularne tekućine, tako da se u urinu zdravih osoba u konačnici može naći samo u malim koncentracijama. Do povećane koncentracija NGAL-a dolazi na dva načina: 1) njegovim povećanim stvaranjem u tubularnim stanicama kao dio obrambenog kompenzatornog nastojanja čiji je krajnji cilj protudjelovanje na intracelularni komplementom potaknut oksidativni stres i 2) propuštanje cirkulirajućeg NGAL-a kroz oštećene glomerule kao što se to dešava i s ostalim plazmatskim proteinima (133). NGAL je odraz funkcionalne tubularne mase, a prisutan je prije no što je moguće laboratorijski dokazati pad eGFR što ga čini pouzdanim biljekom akutne bubrežne ozljede.

Aktivnost NGAL-a je višestruka i do danas je proučena njegova uloga u staničnim aktivnostima, u razvoju bubrega, u akutnom bubrežnom oštećenju, ali i u kroničnim bubrežnim bolestima. Koristi se i kao prediktor budućeg bubrežnog oštećenja pri korištenju nefrotoksičnih terapijskih protokola, kao i kod akutnog pogoršanja progresivnih nefropatija.

NGAL je inicijalno pronađen u aktiviranim neutrofilima gdje ima ulogu urođenog antibakterijskog čimbenika. Kasnije je ustanovljeno da i brojni drugi tipovi stanica, uključujući i stanice bubrežnih tubula, oslobađaju NGAL kao dio odgovora na akutno bubrežno oštećenje različitih etiologija (140). Povećano oslobađanje NGAL-a iz tubularnih stanica nakon djelovanja štetnih čimbenika moglo bi biti dio samoobrane temeljene na aktivaciji specifičnih putova ovisnih o željezu, koji vjerojatno

predstavljaju i mehanizam preko kojeg NGAL potiče rast bubrega i diferencijaciju. Stanična aktivnost NGAL-a je pod utjecajem raznih veza sa specifičnim površinskim receptorima koji vjerojatno imaju ključnu ulogu u endocitozi NGAL-a i staničnom transportu. Nakon interakcije s receptorima NGAL ulazi u stanicu gdje ovisno o tome ostaje ili samo u formi proteina ili formira komplekse sa sideroforama koje vežu željezo te tako utječe na različite stanične procese, uključujući i apoptozu (133).

Rezultati *in vitro* istraživanja ukazali su da bi NGAL na neki način mogao biti uključen i u razvoj bubrega zbog dokazanog proliferativnog učinka na rane epitelne progenitorske stanice metanefritičkog mezenhima (141). Također, NGAL ima i određeni proliferativni/diferencijacijski učinak na odrasli bubrežni epitel, jer dodan u kulturu stanica sabirnih kanalića potiče rast epitela i stvaranje struktura nalik tubulima (142). Točan molekularni mehanizam kojim NGAL ostvaruje svoj učinak na rast bubrežnih stanica nije još razjašnjen.

Bakterijska infekcija je najčešće stanje udruženo sa značajnim porastom NGAL-a, jer je njegovo oslobađanje iz aktiviranih neutrofila u skladu s ulogom proteina koji sudjeluju u urođenom imunitetu i ima antibakterijska svojstva. Opaženo je da bi razina NGAL-a mogla biti povišena i u nekim sistemskim bolestima koje nisu nužno udružene s infektivnim procesom, potvrđujući da bi i druga tkiva mogla otpuštati NGAL kao biljeg akutnog oštećenja. NGAL se tako može dokazati u sklopu upalnih procesa koji uključuju epitel kože, dišnih putova, crijeva, pa čak i nekih tipova karcinoma (143).

#### **1.2.5.2. *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (NGAL) kao biljeg dijabetičke nefropatije**

U posljednjem desetljeću istražuje se i potencijalna uloga NGAL-a u kroničnoj bubrežnoj bolesti. Osnovna hipoteza bila je kako bi kronično bubrežno oštećenje moglo utjecati na fiziološku ravnotežu ovog proteina na način sličan onome u akutnom oštećenju. Tako bi kronično oštećena tubularna stanica proizvodila značajne količine NGAL-a pa njegova povećana koncentracija ne bi bila posljedica smanjenog kapaciteta klirensa proteina, već aktivne kronične sinteze u oštećenoj stanici. Tako su povišene vrijednosti serumskoga i urinarnoga NGAL-a u inverznoj korelaciji s eGFR dokazane u bolesnika s autosomno dominantnom policističnom bolesti bubrega (144). Povišen NGAL dokazan je, također i u sistemskom eritematoznom lupusu i IgA nefropatiji (145, 146).

Koncentracija NGAL-a u mokraći nađena je povišena i u bolesnika sa ŠB u usporedbi sa zdravim kontrolama, negativno korelira s eGRF, a pozitivno sa serumskim kreatininom, albuminurijom i proteinurijom ukazujući na potencijalnu kliničku primjenu urinarnog NGAL-a kao biljega za rano

otkrivanje DN (147 - 152). U nekim radovima NGAL je pokazao statistički značajnu povezanost s dužinom trajanja ŠB i razinom glikemijske kontrole (148, 151). U usporedbi s drugim urinarnim tubularnim biljezima, primjerice KIM-1 koji se također nalazi u povećanoj koncentraciji u bolesnika sa ŠB s ili bez mikroalbuminurije, uNGAL pokazuje snažniju pozitivnu korelaciju s urinarnim ACR i negativnu korelaciju s eGFR, dok za KIM-1 nije bilo značajne razlike između tri kategorije albuminurije (normoalbuminurija, mikro- i makroalbuminurija) i nije korelirao s ACR, kao niti s eGFR (150).

Budući da se koncentracija uNGAL-a mijenja ovisno o razini albuminurije, raste paralelno s težinom bubrežne bolesti i postiže više vrijednosti u bolesnika s klinički manifestnom DN, postavljena je hipoteza kako bi NGAL također mogao biti i biljeg pada bubrežne funkcije u DN (152), iako to nije potvrđeno u svim istraživanjima (153).

U više istraživanja, uglavnom u odraslih bolesnika sa ŠB, uNGAL je bio značajno viši u onih s mikroalbuminurijom u usporedbi s normoalbuminuričnim bolesnicima i nedijabetičkim kontrolama i pokazivao je pozitivnu korelaciju s ACR ukazujući na rano tubularno oštećenje u razvoju DN (154, 155). Navedeno nije potvrđeno u svim istraživanjima. Naime, u nekoliko radova zaključeno je kako je NGAL manje precizan individualni biomarker DN u usporedbi s ACR, a uočen je i znatan broj negativnih vrijednosti NGAL-a među bolesnicima s potvrđenom DN (156).

Naš cilj bio je istražiti ulogu uNGAL-a u dječjoj populaciji bolesnika sa ŠB tip 1 te analizirati njegov odnos prema AT i albuminuriji.

Uz primjenu biljega tubularnoga oštećenja, uključujući i NGAL, u svakodnevnoj kliničkoj praksi veže se nekoliko problema koje treba spomenuti. U prvom redu to je nepostojanje opće prihvaćenih referentnih vrijednosti, osobito za dječju populaciju. Poznato je, iako za sada bez jasnog fiziološkog objašnjenja, da su vrijednosti NGAL-a više u ženskog spola u svim dobnim skupinama, kao i da koncentracija NGAL-a raste tijekom djetinjstva i adolescencije, pada nakon 40. godine, a zatim ponovno raste nakon 60. godine života (157, 158). U jednom od rijetkih radova s objavljenim pedijatrijskim referentnim vrijednostima za NGAL autori napominju kako treba uzeti u obzir postojanje različitih kitova za analitiku NGAL-a od kojih niti jedan nije standardiziran i ograđuju se od mogućih razlika uslijed korištenja testova koji se baziraju na drugačijim analitičkim metodama (157).

## **2. HIPOTEZA**

U djece i adolescenata sa šećernom bolešću tipa 1 oštećenje tubula je najraniji znak dijabetičke nefropatije i javlja se prije pojave albuminurije, a povezano je s vrijednostima arterijskoga tlaka izmjerenih pomoću uređaja za 24-satno kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

#### **3.1. Glavni ciljevi istraživanja:**

- odrediti obilježja arterijskoga tlaka u djece i adolescenata sa šećernom bolešću tipa 1 izmjerenog pomoću uređaja za 24-satno mjerenje arterijskoga tlaka (prosječne vrijednosti, noćni pad tlaka, varijabilnost tlaka, prisutnost hipertenzije bijele kute, maskirane hipertenzije te jutarnjega skoka tlaka)
- utvrditi imaju li djeca i adolescenti sa šećernom bolešću tipa 1 povišene vrijednosti biljega tubularnog oštećenja u urinu (NGAL) u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika.

#### **3.2. Specifični ciljevi istraživanja:**

- utvrditi odnos između promjena vrijednosti arterijskoga tlaka i drugih parametara kontinuiranog mjerenja arterijskoga tlaka te biljega tubularnog oštećenja i albuminurije
- odrediti povezanost biljega tubularnog oštećenja i albuminurije te analizirati čimbenike koji utječu na oba biljega.

## 4. ISPITANICI I METODE

### 4.1. Ispitanici

Presječno istraživanje provedeno je u Klinici za pedijatriju KBC-a Sestre milosrdnice. U istraživanje su uključene dvije skupine ispitanika. U prvu skupinu uključena su djeca i adolescenti oba spola u dobi od 5 do 20 godina u kojih je ŠB tip 1 prisutna najmanje godinu dana. Liječenje inzulinom provedeno je na konvencionalan način (primjena inzulina 2 x dnevno) ili intenziviranim načinom (primjena inzulina više puta dnevno inzulinskim injektorom ili inzulinskom pumpom).

U drugu skupinu uključena su djeca koja ne boluju od ŠB, a na Klinici su obrađivana zbog glavobolje, opresivnih smetnji i funkcionalnih bolova u trbuhu. Kod ispitanika druge skupine nije rađen puni opseg pretraga, već su samo zabilježeni antropometrijski podaci i sakupljeni uzorci urina kako bi se dobile usporedne vrijednosti za tubularni biljeg NGAL.

Za obje skupine ispitanika koristili smo iste kriterije isključivanja: dijagnoza arterijske hipertenzije, terapija lijekovima koji mogu utjecati na AT ili biljege bubrežnoga oštećenja (antihipertenzivi, kortikosteroidi, estrogeni, nesteroidni protuupalni lijekovi), pridružena bubrežna bolest, akutna ili kronična upalna bolest te leukociturija i hematurija. Dodatni kriterij isključivanja za ispitanike sa ŠB bio je ortostatska proteinurija, a za ispitanike bez ŠB mikro- i makroalbuminurija (vrijednost ACR > 2,5 mg/mmol kreatinina u muške djece i >3,5 mg/mmol kreatinina u ženske djece).

Svi sudionici istraživanja, kao i njihovi roditelji u slučaju kad je ispitanik bio mlađi od 18 godina bili su informirani o istraživanju, cilju i načinu prikupljanja podataka, potpisali su suglasnost za sudjelovanje i imali su mogućnost odustajanja u svakom trenutku istraživanja. Bilo je naglašeno da je sudjelovanje u istraživanju dobrovoljno, kao i to da odbijanje sudjelovanja s obzirom da se radi o kroničnoj bolesti s potrebom daljnje skrbi, ni na koji način neće utjecati na njihovo buduće liječenje u Klinici.

Prilikom uključivanja u studiju svakom pacijentu sa ŠB evidentirani su sljedeći podaci: ime, prezime, dob, spol, tjelesna visina (TV), tjelesna masa (TM), indeks tjelesne mase (ITM), centila ITM, *z-score* ITM, stupanj pubertetskog razvoja prema Tanneru i vrijednost ordinacijskoga AT. Zabilježeni su i podaci o pridruženim autoimunim bolestima, dnevnoj dozi inzulina, kao i ključni podaci iz osobne i obiteljske anamneze.

Kod djece koja ne boluju od ŠB evidentirani su ime, prezime, dob, spol, TV, TM, ITM, centila ITM, *z-score* ITM i stupanj pubertetskog razvoja prema Tanneru.

Prikupljanje podataka i dijagnostičke pretrage vršile su se kod prve skupine ispitanika u vrijeme redovne godišnje kontrolne obrade zbog ŠB te na kasnijim ambulantnim kontrolama kad su uzimani



uzorci urina za omjer albumin/kreatinin (ACR) . Podaci za djecu bez ŠB prikupljeni su tijekom obrade na Klinici zbog ranije navedenih dijagnoza.

#### 4.2. Uzorci i metode

Kod djece sa ŠB određivane su vrijednosti HbA1c, uzet je uzorak krvi za određivanje serumskog kreatinina i lipidograma. Sakupljena su tri uzorka prvog jutarnjeg urina za određivanje ACR u razmaku od tri mjeseca (tijekom inicijalne obrade te kasnije na ambulantnim kontrolama) te uzorak urina za biokemijsku analizu i uzorak urina za analizu NGAL-a. Kod djece s mikroalbuminurijom uzet je dodatno i uzorak prvog jutarnjeg urina za analizu omjera proteini/kreatinin. Svakom djetetu napravljen je KMAT.

Kod djece koja ne boluju od ŠB prikupljeni su uzorci urina za određivanje ACR iz prvog jutarnjeg urina, uzorak za biokemijsku analizu urina i uzorak urina za određivanje NGAL-a. U ovoj skupini ispitanici s albuminurijom nisu uključivani u studiju.

HbA1c određivan je na analizatoru DCA Vantage, Siemens, metodom aglutinacijske reakcije monoklonskih antitijela, a razina metaboličke kontrole bolesti procjenjivana je temeljem prosječne vrijednosti HbA1c u posljednjih 12 mjeseci.

Dobrom razinom metaboličke kontrole bolesti smatrali smo vrijednosti HbA1c <7,5%, vrijednosti HbA1c  $\geq 7,5 \leq 9$  % kao zadovoljavajuću razinu kontrole, a vrijednosti HbA1c >9% definirali smo kao lošu razinu metaboličke kontrole.

Kreatinin u serumu određivan je na analizatoru Architect c8000 originalnim reagensima (Abbott, Abbott Park, IL, SAD) kinetičkom metodom s alkalnim pikratom.

Glomerularna filtracija procijenjena je korištenjem Schwartz-ove formule za ispitanike do 18. godine života, a za starije od 18 godina korištena je CKD-EPI formula (*The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*) (159).

Albumini u porciji urina određivani su imunonefelometrijskom metodom na analizatoru *Behring Nephelometer Analyzer II* (Siemens, Malvern, SAD), a iskazivani su kao omjer albumin/kreatinin (ACR). Sakupljena su tri uzorka urina, a nalaz smo interpretirali kao mikroalbuminuriju kad je u minimalno dva uzorka vrijednost ACR prelazila 2,5 mg/mmol kod muške djece i 3,5 mg/mmol kod ženske djece.

Omjer proteini/kreatinin iz porcije urina radili smo kao test probira za ortostatsku proteinuriju u djece s mikroalbuminurijom. Analizirali smo dva uzorka: uzorak prvog jutarnjeg urina te uzorak urina

uzet kasnije tijekom dana. U slučaju kad je omjer proteini/kreatinin iz prvog jutarnjeg urina bio u granicama normale, a nalaz nakon tjelesne aktivnosti ukazivao na proteinuriju, postavljena je dijagnoza ortostatske proteinurije i dijete je isključeno iz ispitivanja. Koncentracija proteina u mokraći određivana je turbidimetrijskom metodom, a koncentracija kreatinina u mokraći određivana je kinetičkom metodom s alkalnim pikratom, obje na analizatoru Architect c8000 originalnim reagensima (Abbott, Abbott Park, IL, SAD).

Kompletni pregled urina rađen je metodom refleksne fotometrije na Combur-Test M trakama koje se očitavaju na urinskom analizatoru Cobas u411 (Roche Diagnostics, GmbH, Mannheim, Njemačka).

Koncentracija LDL kolesterola u serumu određivana je fotometrijskom metodom, a koncentracija triglicerida fotometrijskom metodom s glicerol-fosfat oksidazom, sve na analizatoru Architect c8000 originalnim reagensima (Abbott, Abbott Park, IL, SAD).

Uzorci urina za analizu NGAL-a smrzavani su na  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a analiza je vršena po prikupljanju uzoraka svih ispitanika. NGAL u uzorku urina određen je imunokemijskom metodom kemiluminiscencije pomoću magnetskih mikročestica (CMIA - eng. *chemiluminescent microparticle immunoassay*) na analizatoru Abbott Architect i2000SR (Abbott Laboratories, Illinois, SAD). Prije analize provedena je verifikacija reagensa za određivanje NGAL-a u uzorku urina. Postupak verifikacije proveden je u periodu od 5 dana na tri koncentracijske razine (20, 200 i 1200  $\mu\text{g/L}$ ), a utvrđene su unutarlaboratorijske preciznosti od 2,6; 2,1 i 1,9 %.

Ordinacijski AT mjeren je sfigmomanometarskim uređajem (Welch Allyn, United States) u sjedećem položaju na nedominantnoj ruci nakon mirovanja od najmanje 5 minuta.

Za KMAT su korišteni oscilometrijski uređaji Mobil-O-Graph M01100120, I.E.M.GmbH uz izbor orukvice primjerene veličine definirane važećim smjernicama (160). Orukvice je stavljana na nedominantnu ruku. Uređaj je bio programiran da mjeri AT svakih 15 minuta tijekom dana (07-22 h) i svakih 30 minuta tijekom noći (22-07 h). Noćni period bio je definiran temeljem dnevnika u koji je ispitanik zapisivao svoje aktivnosti. Djeci je bilo savjetovano da dan provedu u uobičajenim aktivnostima, no da izbjegavaju teške tjelesne napore. Pri određivanju referentnih vrijednosti AT kao gornju granicu normale koristili smo 95. centilu definiranu prema spolu i TV. Kao normativne vrijednosti za KMAT korištene su općeprihvaćene vrijednosti dobivene na kohorti europske djece (161). Za analizu parametara KMAT-a i usporedbu dobivenih vrijednosti između skupina koristili smo LMS referentne tablice koje omogućavaju izračun vrijednosti skora standardne devijacije (engl. *standard deviation score (SDS)*) za 24 – satni, dnevni i noćni sistolički i dijastolički AT, a time i prilagodbu podataka iz KMAT-a prema spolu i dobi, odnosno spolu i TV (162).

Ukoliko su vrijednosti 95. centile za određeno dijete premašivale prag definiran za odrasle (24 h 130/80 mmHg, dnevni 135/85 mmHg i noćni 125/75 mmHg), koristili smo referentne vrijednosti za odrasle. Također, prema posljednjim smjernicama Europskog društva za hipertenziju iz 2016. godine za adolescente s navršениh 16 godina i starije koristili smo također referentne vrijednosti za odrasle (91). Pretragu smo smatrati adekvatnom ukoliko je bilo minimalno 58 (75%) valjanih vrijednosti kroz 24 sata uz minimum jednoga mjerenja po satu uključujući i noćni period. Urednim noćnim padom AT smatrali smo pad vrijednosti tlaka noću >10% u odnosu na dnevne vrijednosti. Od parametara KMAT-a analizirali smo prosječan AT kroz 24 sata, prosječan AT danju i postotak povišenih vrijednosti iznad 95. centile za sistolu i dijastolu danju, prosječan AT noću i postotak povišenih vrijednosti iznad 95. centile za sistolu i dijastolu noću i noćni pad AT.

Varijabilnost AT procjenjivana je kao standardna devijacija od prosječnih vrijednosti svih mjerenja za sistolički i dijastolički AT kroz 24 sata te posebno za dnevni i noćni period.

Jutarnji skok tlaka definiran je prema formuli: prosječna vrijednost sistoličkog tlaka tijekom 2 sata neposredno nakon buđenja minus prosječna vrijednost triju mjerenja sistoličkog AT oko najniže noćne vrijednosti sistoličkog AT (163).

#### **4.3. Definicije**

Indeks tjelesne mase (ITM) najčešće je korišten kriterij za procjenu stupnja uhranjenosti. Računa se kao omjer tjelesne mase izražene u kilogramima i kvadrata tjelesne visine izražene u metrima. Stupanj uhranjenosti djece i adolescenata od 2. do 20. godine života procjenjuje se temeljem vrijednosti ITM prema dobi i spolu Centra za kontrolu i prevenciju bolesti (*Centers for Disease Control and Prevention, CDC 2000*) (164) :

Pothranjenost: ITM <5. centile

Normalna tjelesna masa: ITM  $\geq 5 \leq 85$ . centile

Prekomjerna tjelesna masa:  $\geq 85 \leq 95$ . centile

Pretilost:  $\geq 95$ . centile

Procjenu stupnja pubertetskog razvoja vršili smo prema općeprihvaćenim Tannerovim kriterijima i tablicama koje uključuju procjenu stupnja razvoja vanjskog spolovila kod dječaka te razvoja dojki i pubične dlakavosti kod djevojčica. Svaki od ovih parametara opisuje se kroz pet stupnjeva (165).

Prema dužini trajanja bolesti ispitanike smo klasificirali u 3 skupine: trajanje bolesti od 1 do 5 godina, od 5 do 10 godina te preko 10 godina.

Od pridruženih autoimunih bolesti registrirali smo kronični limfocitni tireoiditis ili Hashimotov tireoiditis, hipertireozu u okviru Gravesove bolesti i celijakiju.

Patološkim vrijednostima u lipidogramu smatrali smo LDL kolesterol  $> 2,6$  mmol/L i trigliceride  $>1,7$  mmol/L.

Razinu albuminurije definirali smo prema ISPAD-ovim smjernicama (57). U našem istraživanju razinu albuminurije kod ispitanika s normoalbuminurijom dodatno smo klasificirali kao nisko normalnu i visoko normalnu. Vrijednosti ACR  $< 0,83$  mg/mmol kod muške i  $< 1,1$  mg/mmol kod ženske djece definirali smo kao nisko normalnu albuminuriju, a vrijednosti ACR  $\geq 0,83 < 2,5$  mg/mmol kod muške i  $\geq 1,1 < 3,5$  mg/mmol kod ženske djece kao visoko normalnu albuminuriju. Nisko normalna albuminurija definirana je kao donja tercila, a visoko normalna albuminurija kao srednja i gornja tercila unutar raspona normalnih vrijednosti albuminurije prema spolu. Kategoriju normoalbuminurije (nisko normalna ili visoko normalna) određivali smo temeljem srednje vrijednosti ACR iz tri skupljena uzorka urina. Za postavljanje dijagnoze mikroalbuminurije bilo je potrebno da barem dva od tri uzorka urina za ACR sakupljena u periodu od 3 do 6 mjeseci budu patološka.

Referentnu vrijednost za uNGAL određivala je 95. centila prema dobi i spolu (157, 158) :

5 do < 10 godina	prosječno 58,5 ug/L (muški 10,9 ug/L i ženski 39,5 ug/L)
10 do < 15 godina	prosječno 66,8 ug/L (muški 25,5 ug/L i ženski 72,3 ug/L)
15 do < 18 godina	prosječno 74,7 ug/L (muški 50,0 ug/L i ženki 138,6 ug/L)
18 do 20 godina	prosječno 107 ug/L (muški 91 ug/L i ženski 129 ug/L).

Kao normativne vrijednosti za ordinacijski AT koristili smo auskultacijske vrijednosti US Task Force u kojima su sadržane centile AT prema dobi, spolu i sedam centilnih kategorija tjelesne visine (166). Ordinacijski mjeren AT u djece i adolescenata klasificirali smo prema Smjernicama Europskog društva za hipertenziju iz 2016. godine prikazanim u Tablici 1 (91).

Tablica 1. Klasifikacija arterijske hipertenzije u djece i adolescenata

kategorija	0 – 15 godina centile sistoličkog i/ili dijastoličkog AT	16 godina i stariji sistolički i/ili dijastolički AT (mmHg)
Normalan AT	<90. centile	<130/85
Visoko normalan AT	≥90. do <95. centile	130-139/85-89
Hipertenzija	≥95. centile	≥140/90
Stupanj I hipertenzije	95. do 99. centila + 5 mmHg	140-159/90-99
Stupanj II hipertenzije	>99. centile + 5 mmHg	160-179/100-109
ISH (izolirana sistolička hipertenzija)	Sistolički AT ≥95. centile i dijastolički <90. centile	≥140/<90

Kratice: AT arterijski tlak

Za klasifikaciju arterijskoga tlaka prema KMAT-u koristili smo revidirane Smjernice AHA (*American Heart Association*) prikazane u Tablici 2 (103).

Tablica 2. Klasifikacija kontinuiranoga mjerenja arterijskoga tlaka u djece

Klasifikacija	Ordinacijski AT	srednji SAT ili DAT	SAT ili DAT >95. centile (%)
Normalan AT	<90. centile	<95. centile	<25
H bijele kute	≥95. centile	<95. centile	<25
Predhipertenzija	≥ 90. centile ili 120/80 mmHg	<95. centile	≥25
Maskirana H	<95. centile	>95. centile	≥25
Trajna H	>95. centile	>95. centile	25-50
Teška trajna H (s rizikom za oštećenje ciljnih organa)	>95. centile	>95. centile	>50

Kratice: AT arterijski tlak; H hipertenzija; SAT sistolički arterijski tlak, DAT dijastolički arterijski tlak

#### 4.4. Statističke metode

Analiza statističke snage istraživanja i potrebne veličine uzorka za opći cilj istraživanja (utvrditi imaju li djeca i adolescenti sa ŠB tip 1 povišene vrijednosti biljega tubularnog oštećenja u urinu (NGAL) u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika) napravljena je uz slijedeće pretpostavke: srednja vrijednost i standardna devijacija vrijednosti uNGAL u djece sa šećernom bolesti tipa 1 je  $100 \pm 108$  ng/mL, a u kontrolne skupine je  $22 \pm 19$  mg/mL. Ciljana statistička snaga istraživanja određena je na 80%. Razina statističke značajnosti rezultata određena je na  $p < 0,05$ . Uz te pretpostavke, potrebna završna veličina uzorka procijenjena je na  $n=30$  bolesnika sa ŠB tipa 1 i  $n=30$  zdravih ispitanika. Analiza statističke snage istraživanja te potrebne veličine uzorka napravljena je i za specifični cilj ovog istraživanja - utvrditi povezanost između različitih parametara vrijednosti arterijskog tlaka te biljega tubularnog oštećenja i albuminurije. Analiza potrebne veličine uzorka napravljena je uz pretpostavku o očekivanom stupnju korelacije  $r=0.2$ . Ciljana statistička snaga istraživanja određena je na 80%. Razina statističke značajnosti rezultata određena je na  $p < 0,05$ . Uz te pretpostavke, potrebna završna veličina uzorka procijenjena je na  $n=195$  bolesnika sa ŠB tip 1.

Razina statističke značajnosti određena je na  $p < 0.05$ . Testiranje normalnosti distribucije provedeno je pomoću Kolmogorov-Smirnov testa. Mjere centralne tendencije i raspršenja prikazane su kao medijan i raspon u slučaju odstupanja od normalne distribucije ili kao aritmetička sredina i standardna devijacija u slučaju normalne distribucije. Razlike u srednjim vrijednostima kontinuiranih numeričkih varijabli između dviju skupina (bolesnici sa šećernom bolešću i zdrave kontrole) određivane su t-testom za nezavisne uzorke u slučaju normalne distribucije ili Mann-Whitney U testom u slučaju odstupanja od normalne distribucije. Povezanost između različitih parametara vrijednosti arterijskoga tlaka i biljega glomerularnog oštećenja odnosno albuminurije određivano je računanjem Pearsonovog koeficijenta korelacije kad su uvjeti bili zadovoljeni (normalna distribucija barem jedne varijable, linearna povezanost varijabli) ili Spearmanovog koeficijenta korelacije u suprotnom slučaju. Utjecaj različitih parametara arterijskoga tlaka i drugih kliničkih i anamnestičkih parametara na vrijednost biljega glomerularnog oštećenja određeno je multiplom linearnom regresijom. Utjecaj različitih parametara arterijskoga tlaka i drugih kliničkih i anamnestičkih parametara na prisutnost albuminurije određeno je multiplom logističkom regresijom. Za statističku obradu i analizu korišten je program MedCalc verzija 10.4.0.0 (MedCalc Software bvba; Mariakerke, Belgija).

## 5. REZULTATI

### 5.1. Kliničke karakteristike ispitanika

Istraživanje je provedeno u Klinici za pedijatriju KBC Sestre milosrdnice u razdoblju od 1. listopada 2016. godine do 9. svibnja 2018. godine.

U istraživanje su uključene dvije skupine ispitanika. Prvu skupinu činila su djeca sa ŠB tip 1 (n=201), dok je druga skupina bila kontrolna skupina djece bez dokazane somatske bolesti (n=100) kod koje smo određivali vrijednosti tubularnog biljega NGAL-a u urinu.

Tablica 3. Kliničke karakteristike ispitanika

Varijable	Djeca sa ŠB (n=201)	Djeca bez ŠB (n=100)	p
<b>Spol</b> M/Ž, n(%)	90/111 (45%/55%)	44/56 (44%/56%)	0,99*
<b>Dob</b> (godine) medijan (raspon) SV± SD	15,3 (5-20) 14,7 ± 3,8	14,3 (6-18) 13,6 ± 3,2	<0,01 **
<b>Tjelesna visina</b> (cm) medijan (raspon) SV± SD	164,2 (110,1-200) 161,4 ± 16,9	162,5 (110-186,7) 160 ± 15,9	0,492 **
<b>Tjelesna masa</b> (kg) medijan (raspon) SV± SD	57,5 (19,7-112,5) 56,1 ± 17,6	53,4 (5-93) 53 ± 16,1	0,151 ***
<b>Indeks tjelesne mase (SDS)</b> medijan (raspon) SV± SD	0,4 (-3,1 - 2,6) 0,4 ± 1	0,4 (-2,5 - 2,9) 0,3 ± 1,1	0,746 ***

\* Hi-kvadrat test, \*\* Mann Whitney-ev test, \*\*\* Studentov t-test

Kratice: SV srednja vrijednost; SD standardna devijacija

Između dviju skupina nije bilo statistički značajne razlike prema TV, TM i ITM. Ispitanici sa ŠB bili su stariji u odnosu na ispitanike bez ŠB.

U skupini ispitanika sa ŠB s obzirom na ITM 5 (2,5%) bolesnika je bilo mršavo, 144 (71,6%) bolesnika je imalo normalnu tjelesnu masu, 43 (21,4%) ih je imalo prekomjernu tjelesnu masu, a 9 (4,5%) je bilo pretilo.

U kontrolnoj skupini 3 (3,0%) ispitanika je bilo mršavo, 76 (76,0%) je imalo normalnu tjelesnu masu, 12 (12,0%) prekomjernu tjelesnu masu, a 9 (9,0%) ih je bilo pretilo.

Prema stupnju pubertetskog razvoja definiranom po Tanneru u skupini bolesnika njih 36 (17,9%) je bilo I. stupnja, 19 (9,5%) II. stupnja, 17 (8,5%) III. stupnja, 33 (16,4%) IV. stupnja i 96 (47,8%) V. stupnja. Ukupno 36 (17,9%) bolesnika je bilo u predpubertetu (Tanner I), a njih 165 (82,1%) u pubertetu, odnosno adultno (Tanner II - V).

S obzirom na stupanj pubertetskog razvoja po Tanneru u skupini kontrola 18 (18,0%) ih je bilo I. stupnja, 9 (9,0%) II. stupnja, 16 (16,0%) III. stupnja, 22 (22,0%) IV. stupnja i 35 (35,0%) V. stupnja. Ukupno 18 (18,0%) djece iz kontrolne skupine bilo je u predpubertetu (Tanner I), a njih 82 (82,0%) u pubertetu, odnosno adultno (Tanner II-V). Nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji stupnja puberteta po Tanneru između ispitanika i kontrolne skupine (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=7,12$ ,  $p=0,13$ ).

S obzirom na razinu metaboličke kontrole ŠB definirane vrijednostima HbA1c-a 71 bolesnik (35,3%) je imao dobru, 89 bolesnika (44,2%) zadovoljavajuću, a 41 bolesnik (20,4%) lošu metaboličku kontrolu bolesti.

Raspon trajanja ŠB bio je od 1,1 do 16,47 godina ( $6,87 \pm 4,19$  godina). U 78 (38,8%) bolesnika trajanje bolesti je bilo < 5 godina, u 78 bolesnika (38,8%) 5-10 godina i u 45 bolesnika (22,4%) > 10 godina.

Od ukupno 201 bolesnika njih 151 (75,1%) je imalo uredan lipidogram. U skupini od 50 (24,9%) bolesnika s patološkim lipidogramom njih 39 (19,4%) je imalo povišen LDL, 4 (2,0%) povišene trigliceride, a 7 (3,5%) povišen i LDL i trigliceride.

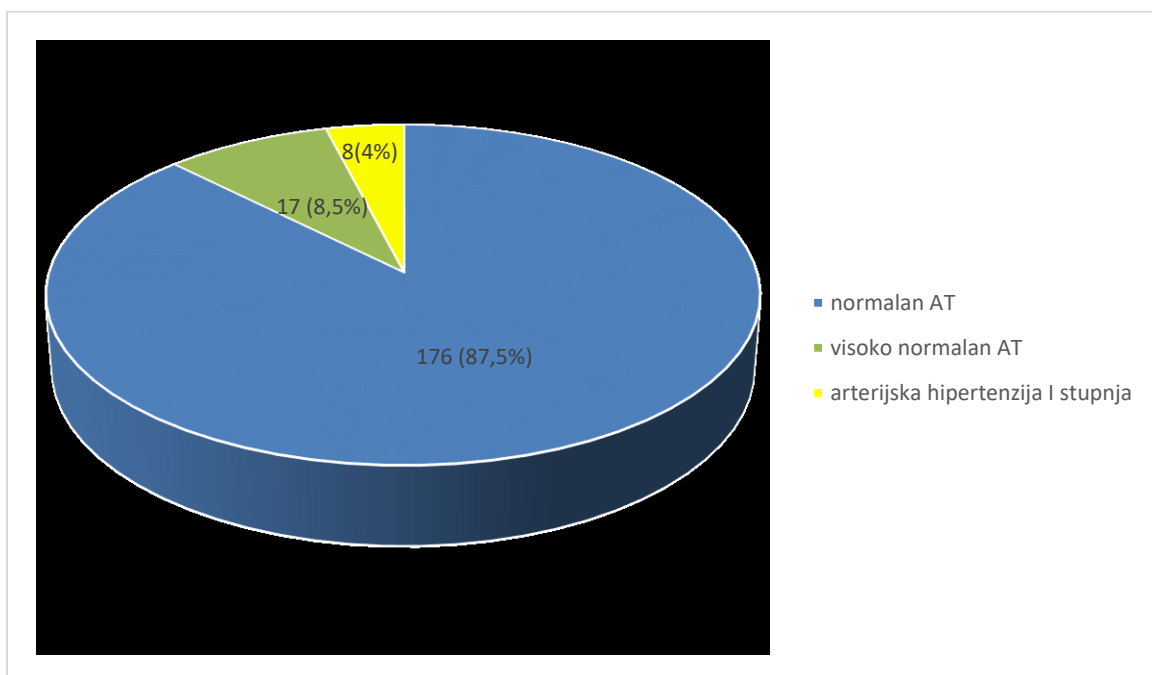
Samo jedan bolesnik je imao dijabetičku retinopatiju (0,49%).

Ukupno 44 bolesnika (21,9%) je imalo pridruženu autoimunu bolest, od toga 38 (18,9%) Hashimotov tireoiditis, 2 (1%) celijakiju, 3 (1,5%) celijakiju i Hashimotov tireoiditis i 1 bolesnik (0,5%) Gravesovu bolest.



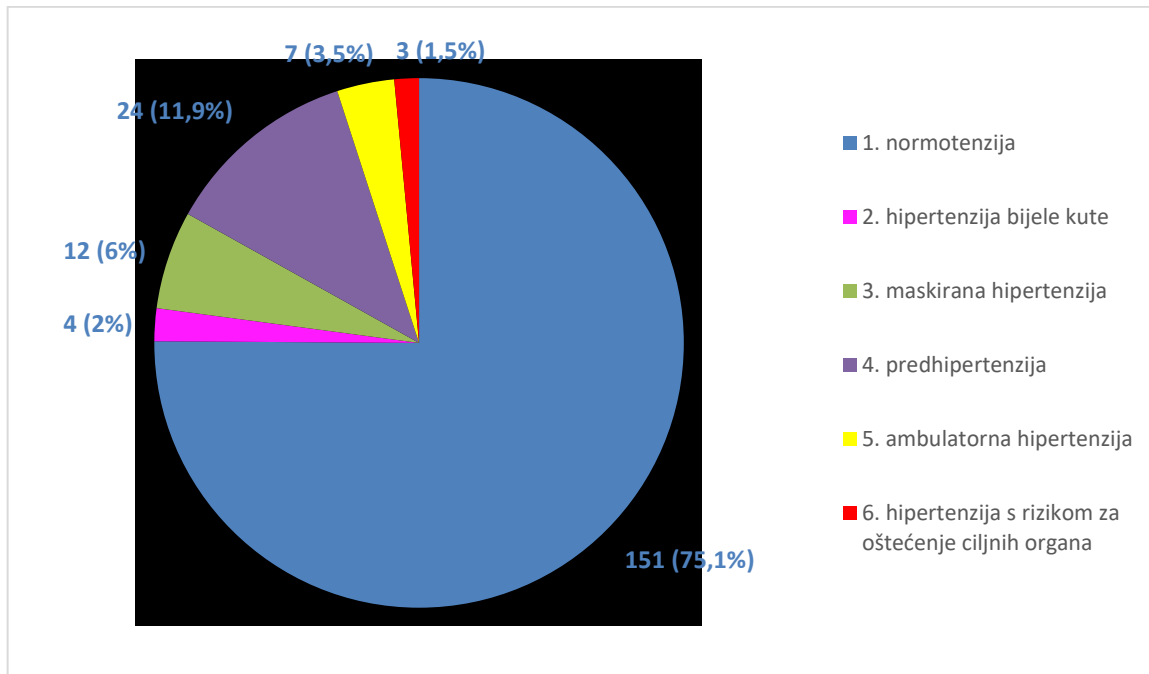
## 5.2. Obilježja arterijskoga tlaka u djece sa šećernom bolešću tip 1

U skupini od 201 bolesnika sa ŠB 176 (87,5%) je imalo normalan ordinacijski AT, 17 (8,5%) visoko normalan AT i 8 (4,0%) hipertenziju I. stupnja (slika 1). Nijedan bolesnik nije imao arterijsku hipertenziju II. stupnja niti izoliranu sistoličku hipertenziju.



Slika 1. Ordinacijski arterijski tlak u bolesnika sa šećernom bolešću tip 1

Nakon analize KMAT-a te uzimajući u obzir vrijednosti ordinacijskih mjerenja AT dobivena je sljedeća klasifikacija ispitanika sa ŠB (slika 2).



Slika 2. Kategorije arterijskoga tlaka u bolesnika sa šećernom bolešću tip 1 temeljem kontinuiranog mjerenja arterijskoga tlaka

Najveći broj ispitanika sa ŠB (151 ili 75,1%) imalo je normalan AT. Predhipertenziju je imalo 24 (11,9%) ispitanika, maskiranu hipertenziju 12 (6%) ispitanika, a ambulatornu hipertenziju 7 (3,5%) ispitanika sa ŠB. Četiri (2%) ispitanika imala su hipertenziju bijele kute, a 3 (1,5%) hipertenziju s rizikom za oštećenje ciljnih organa.

Rezultati KMAT-a na razini čitave skupine ispitanika sa ŠB izraženi su u obliku z-skora izračunatog LMS metodom. Vrijednost 24 - satnoga sistoličkoga arterijskoga tlaka (SAT) (0,2 SDS) i 24 - satnoga dijastoličkoga arterijskoga tlaka (DAT) (0,3 SDS) bila je viša od prosjeka zdrave populacije. Dnevni SAT nije se razlikovao u odnosu na zdravu populaciju (0,0 SDS), dok je dnevni DAT bio nešto niži u odnosu na referentne vrijednosti. Noćni SAT (0,6 SDS) i noćni DAT (0,8 SDS) bili su viši u odnosu na prosječne vrijednosti zdrave djece.

Analiza noćnoga pada AT za cijelu skupinu ispitanika sa ŠB pokazala je izostanak pada SAT uz uredan pad DAT (tablica 4).

Od 201 ispitanika njih 149 (74,1%) nije imalo noćni pad tlaka (*engl. non – dipper*). Svih 149 ispitanika bili su *non – dipperi* za SAT, a njih 34 bili su i *non – dipperi* za DAT. Nijedan bolesnik nije imao izoliran izostanak pada DAT-a.

Tablica 4. Noćni pad arterijskoga tlaka u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1

Noćni pad SAT (%) SV± SD medijan	8,1 ± 7,1 8,0
Noćni pad DAT (%) SV± SD medijan	14,8 ± 6,1 15,0

Kratice: SAT sistolički arterijski tlak, DAT dijastolički arterijski tlak, SV srednja vrijednost

Srednja vrijednost jutarnjega skoka AT u djece i adolescenata sa ŠB tip 1 bila je 18,7 mmHg (medijan 18 i raspon 3 do 40 mmHg) (tablica 5). Od ukupno 201 ispitanika 61 (30,3%) imalo je jutarnji skok AT > 20 mmHg.

Varijabilnost AT u ispitanika sa ŠB izražena kao standardna devijacija vrijednosti AT u nekom promatranom periodu kretala se od najnižih 7,6 mmHg za noćne dijastoličke vrijednosti do 11,1 mmHg za 24-h sistoličke vrijednosti (tablica 6).

### 5.3. Odnos između parametara KMAT-a i albuminurije u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1

Za određivanje odnosa između parametara KMAT-a i razine albuminurije ispitanike sa ŠB smo podijelili u tri skupine: skupinu s nisko normalnom albuminurijom (n =158 ili 78,6%), skupinu s visoko normalnom albuminurijom (n= 36 ili 17,9%) i skupinu s mikroalbuminurijom (n=7 ili 3,5%). Nijedan ispitanik nije imao makroalbuminuriju.

Distribucija parametara KMAT-a izraženih u obliku z-skora izračunatog metodom LMS je prikazana u Tablici 5.

Tablica 5. Parametri kontinuiranoga mjerenja arterijskoga tlaka u djece sa šećernom bolešću tip 1 u odnosu na vrijednost albuminurije

Varijable	Svi ispitanici sa ŠB (n=201)	Nisko normalna albuminurija (n=158)	Visoko normalna albuminurija (n=36)	p <sup>1</sup>	Mikro-albuminurija (n=7)	p <sup>2</sup>
<b>24 h SAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	0,2 (-1,6 - 2,7) 0,2 ± 0,7	0,2 (-1,4-2,7) 0,2 ± 0,7	0,1 (-1,6-2,3) 0,2 ± 0,8	0,93*	-0,2 (-0,4-1,7) 0,2 ± 0,8	0,84*
<b>24h DAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	0,3 (-2,5 - 3,7) 0,3 ± 1,1	0,2 (-2,5-3,7) 0,2 ± 1,1	0,4 (-1,4-2,6) 0,3 ± 1,0	0,76*	1,4 (0,1-1,7) 1,2 ± 0,6	<b>0,03*</b>
<b>Dnevni SAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	-0,0 (-1,9 - 2,3) -0,0 ± 0,7	-0,0 (-1,8 - 2,3) -0,0 ± 0,7	-0,0 (-1,9 - 1,7) -0,0 ± 0,7	0,92*	-0,3 (-0,8-1,5) -0,1 ± 0,8	0,77*
<b>Dnevni DAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	-0,3 (-2,5 - 4,0) -0,2 ± 1,1	-0,3 (-2,5 - 3,8) -0,2 ± 1,0	-0,5 (-1,7 - 2,2) -0,3 ± 1,0	0,88*	0,6 (-0,2-4,0) 1,0 ± 1,4	<b>&lt;0,01*</b>
<b>Noćni SAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	0,6 (-1,2 - 3,5) 0,6 ± 0,7	0,6 (-1,2 - 3,0) 0,6 ± 0,7	0,4 (-0,7 - 3,5) 0,6 ± 0,8	0,66*	0,7 (0,0-1,6) 0,8 ± 0,5	0,52*
<b>Noćni DAT SDS</b> medijan (raspon) SV± SD	0,8 (-1,2 - 3,9) 0,9 ± 0,9	0,9 (-1,2 - 3,9) 0,9 ± 0,9	0,7 (-0,2 - 2,3) 0,9 ± 0,6	0,95*	2,3 (0,9-2,7) 2,3 ± 0,6	<b>&lt;0,01*</b>
<b>Noćni pad SAT (%)</b> medijan (raspon) SV± SD	8,0 (0,0 - 90,0) 8,1 ± 7,1	8,0 (0,0 - 90,0) 8,3 ± 7,7	8,0 (0,0-16,7) 7,8 ± 4,2	0,85**	5,4 (3,0-15,1) 6,3 ± 4,1	0,18**
<b>Noćni pad DAT (%)</b> medijan (raspon) SV± SD	15,0 (0,0 - 35,0) 14,8 ± 6,1	15,0 (0,0 - 35,0) 14,9 ± 6,3	15,1 (1,9-25,0) 15,2 ± 5,4	0,81*	8,9 (4,6-22,6) 11,4 ± 6,1	0,13*
<b>Jutarnji skok tlaka (mmHg)</b> medijan (raspon) SV± SD	18,0 (3,0 - 40,0) 18,7 ± 6,4	19,0 (5,0 - 40,0) 19,2 ± 6,4	17,0 (3,0 - 30,0) 17,4 ± 6,1	0,24**	17,0 (3,0 - 20,0) 13,7 ± 6,9	0,10**

\* Studentov t test; \*\* Mann Whitneyev test; p<sup>1</sup> razlika između nisko normalne i visoko normalne albuminurije; p<sup>2</sup> razlika između normoalbuminurije (nisko normalne + visoko normalne albuminurije) i mikroalbuminurije

Kratice: SDS (*eng. standard deviation score*) vrijednost skora standardne devijacije; SAT sistolički arterijski tlak; DAT dijastolički arterijski tlak

Statistički značajna razlika između bolesnika s nisko normalnom i visoko normalnom albuminurijom nije utvrđena niti za jedan analiziran parametar KMAT-a izražen u obliku z-skora izračunatog metodom LMS: 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,089$ ;  $p=0,93$ ), 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=0,310$ ;  $p=0,76$ ), dnevnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,097$ ;  $p=0,92$ ), dnevnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,148$ ;  $p=0,88$ ), noćnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,447$ ;  $p=0,66$ ), noćnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,058$ ;  $p=0,95$ ), noćnog pada SAT-a (Mann-Whitney-ev test,  $z=0,191$ ,  $p=0,85$ ) noćnog pada DAT-a (Studentov t-test;  $t=0,246$ ;  $p=0,81$ ), kao niti za jutarnji skok AT (Mann-Whitney-ev test,  $z=-1,176$ ,  $p=0,24$ ).

Također, nije bilo statistički značajne razlike niti između bolesnika bez mikroalbuminurije (nisko + visoko normalna albuminurija) i onih s mikroalbuminurijom u sljedećim vrijednostima KMAT-a izraženim u obliku z-skora izračunatog metodom LMS: 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=0,196$ ;  $p=0,84$ ), dnevnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,290$ ;  $p=0,77$ ), noćnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=0,643$ ;  $p=0,52$ ), noćnog pada SAT-a (Mann-Whitney-ev test,  $z=-1,356$ ,  $p=0,18$ ) noćnog pada DAT-a (Studentov t-test;  $t=-1,505$ ;  $p=0,13$ ) i jutarnjeg skoka AT (Mann-Whitney-ev test,  $z=-1,634$ ,  $p=0,10$ ). Međutim, bolesnici s mikroalbuminurijom imali su statistički značajno višu vrijednost 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=2,243$ ;  $p=0,03$ ), dnevnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=3,011$ ;  $p<0,01$ ) i noćnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=3,822$ ;  $p<0,01$ ) u odnosu na normoalbuminurične ispitanike.

U odnosu na razinu albuminurije analizirali smo i varijabilnost AT. Distribucija parametara varijabilnosti AT prikazana je u tablici 6.

Tablica 6. Varijabilnost arterijskoga tlaka u djece sa šećernom bolešću tip 1

Varijable (mmHg)	Svi ispitanici sa ŠB (n=201)	Nisko normalna albuminurija (n=158)	Visoko normalna albuminurija (n=36)	p <sup>1</sup>	Mikro-albuminurija (n=7)	p <sup>2</sup>
<b>SD 24 h SAT</b> medijan (raspon) SV± SD	10,6 (6,4-22,1) 11,1 ± 2,5	10,6 (6,4-22,1) 11,1 ± 2,5	11,3 (6,6-14,9) 10,9 ± 2,2	0,70*	8,4 (7-13,3) 9,8 ± 2,7	0,17*
<b>SD 24h DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	9,1 (5,2-15) 9,3 ± 2,5	9,2 (5,2-15,0) 9,4 ± 1,9	9,2 (6,7-12,8) 9,5 ± 1,6	0,67*	7,1 (5,8-11,9) 8,3 ± 2,4	0,13*
<b>SD Dnevni SAT</b> medijan (raspon) SV+ SD	9,8 (5,4-22,9) 10,2 ± 2,6	9,8 (5,6-22,9) 10,3 ± 2,7	9,8 (5,4-16,0) 10,1 ± 2,5	0,89**	8,6 (5,7-12,6) 8,7 ± 2,1	0,07**
<b>SD Dnevni DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	7,7 (4,8-15,5) 8,1 ± 1,9	7,7 (4,8-15,5) 8,1 ± 1,9	8,0 (5,8-15,4) 8,2 ± 1,8	0,59**	7,0 (5,1-10,1) 7,0 ± 1,6	0,12**
<b>SD Noćni SAT</b> medijan (raspon) SV± SD	9 (2,2-25,6) 9,5 ± 3,2	9,1 (2,2-25,6) 9,6 ± 3,3	8,8 (4,8-15,6) 9,5 ± 2,7	0,99*	9,0 (4,4-11,2) 8,5 ± 2,4	0,37*
<b>SD Noćni DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	7,4 (3,7 – 16,4) 7,6 ± 2,2	7,1 (3,7-16,4) 7,5 ± 2,3	8,0 (5,0-12,0) 8,2 ± 1,7	<b>0,01**</b>	6,1 (5,5-14,1) 7,7 ± 3,2	0,52**

\* Studentov t test; \*\* Mann Whitneyev test; p<sup>1</sup> razlika između nisko normalne i visoko normalne albuminurije; p<sup>2</sup> razlika između normoalbuminurije (nisko normalne + visoko normalne albuminurije) i mikroalbuminurije

Kratice: SAT sistolički arterijski tlak, DAT dijastolički arterijski tlak, SD standardna devijacija

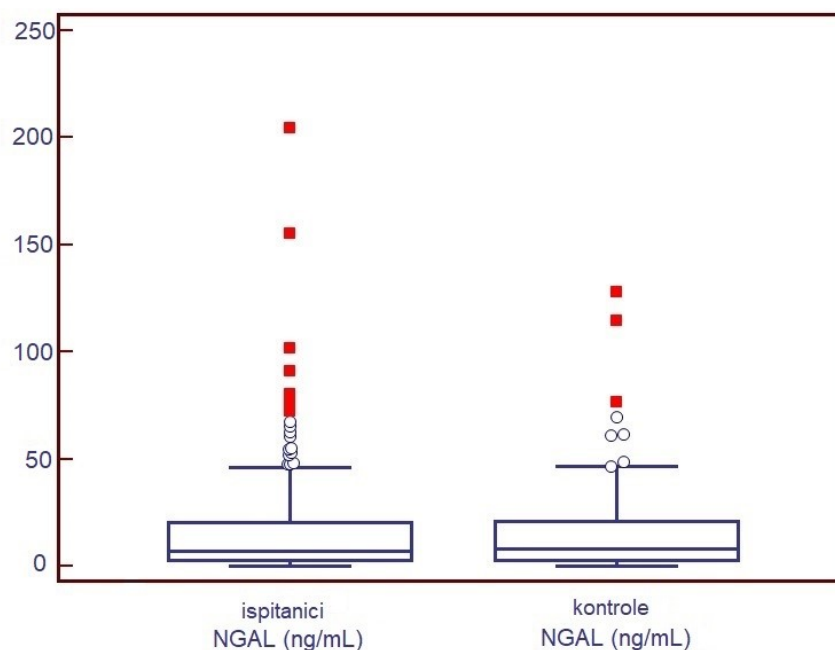
Bolesnici s visoko normalnom albuminurijom su imali statistički značajno višu varijabilnost noćnog DAT-a od bolesnika s nisko normalnom albuminurijom (Mann Whitney-ev test; z=2,618; p=0,009). Nije bilo statistički značajne razlike između ove dvije skupine u varijabilnosti 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test; t=-0,383; p=0,70), 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test; t=0,423; p=0,67), dnevnog SAT-a (Mann Whitney-ev test; z=-0,135; p =0,89), dnevnog DAT-a (Mann Whitney-ev test; z=0,536; p=0,59) i noćnog SAT-a (Studentov t-test; t=-0,144; p=0,89).

Pri usporedbi varijabilnosti AT između bolesnika bez mikroalbuminurije i onih s mikroalbuminurijom nije utvrđena statistički značajna razlika niti za jedan analizirani parametar: varijabilnost 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test; t=-1,372; p=0,17), 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test; t=-1,517; p=0,13),

dnevnog SAT-a (Mann Whitney-ev test;  $z=-1,802$ ;  $p=0,07$ ), dnevnog DAT-a (Mann Whitney-ev test;  $z=-1,544$ ;  $p=0,12$ ), noćnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,901$ ;  $p=0,37$ ) i noćnog DAT-a (Mann Whitney-ev test;  $z=-0,632$ ;  $p=0,53$ ).

#### 5.4. Urinarni NGAL u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1 i kontrola

Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL-a između djece sa ŠB i kontrolne skupine (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,038$ ,  $p=0,97$ ) (slika 3). Neparametrijski Mann Whitney-ev test je odabran budući da distribucija NGAL vrijednosti nije bila normalna (Kolmogorov Smirnov test:  $p<0,001$ ). Od 201 ispitanika sa ŠB samo 4 (1,99%) djece je imalo povišenu vrijednost uNGAL-a definiranu prema dostupnim referentnim vrijednostima, dok je u kontrolnoj skupini povišen uNGAL utvrđen kod 4 (4%) ispitanika.



Slika 3. Vrijednost urinarnog NGAL-a kod ispitanika sa šećernom bolešću tip 1 i kontrola

U skupini djece sa ŠB vrijednost uNGAL-a je bila u rasponu od 0 do 204,3 ng/ml uz medijan od 6,85 ng/mL, srednju vrijednost od 16,71 ng/mL i standardnu devijaciju od 25,42 ng/mL, dok je u kontrolnoj skupini vrijednost uNGAL-a bila u rasponu od 0 do 127,9 ng/mL uz medijan od 7,85 ng/mL, srednju vrijednost od 16,18 ng/mL i standardnu devijaciju od 22,34 ng/mL.

Nije nađena statistički značajna razlika između djece sa ŠB i kontrolne skupine u vrijednosti uNGAL-a niti onda kad je uNGAL korigiran prema vrijednosti kreatinina u urinu (ng /mg kreatinina) (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,871$ ,  $p=0,38$ ). Neparametrijski Mann Whitney-ev test je odabran budući da distribucija uNGAL/kreatinin vrijednosti nije bila normalna (Kolmogorov Smirnov test:  $p<0,001$ ).

U skupini djece sa ŠB vrijednosti uNGAL/kreatinin bile su u rasponu od 0 do 265,6 ng/mg uz medijan od 6,84 ng/mg, srednju vrijednost od 16,01 ng/mg i standardnu devijaciju od 28,73 ng/mg, dok su u kontrolnoj skupini vrijednosti uNGAL/kreatinin bile u rasponu od 0 do 125,6 ng/mg uz medijan od 6,41 ng/mg, srednju vrijednost od 11,94 ng/mg i standardnu devijaciju od 18,45 ng/mg.



## 5.5. Korelacija parametara KMAT-a i urinarnog NGAL-a

Tablica 7. Parametri KMAT-a u djece sa šećernom bolešću tip 1 u odnosu na vrijednost uNGAL-a

Varijable	uNGAL uredan (n=197)	uNGAL povišen (n=4)	p
<b>24 h SAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	0,1 (-1,6 – 2,7) 0,2 $\pm$ 0,7	0,2 (-0,1 – 1,2) 0,4 $\pm$ 0,6	0,53*
<b>24h DAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	0,3 (-2,5 – 3,7) 0,3 $\pm$ 1,1	0,5 (-1,3 – 1,2) 0,2 $\pm$ 1,1	0,92*
<b>Dnevni SAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	-0,1 (-1,8 – 2,3) -0,02 $\pm$ 0,7	0,1 (-0,2 – 0,8) 0,2 $\pm$ 0,5	0,56*
<b>Dnevni DAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	-0,3 (-2,5 – 4,0) -0,2 $\pm$ 1,1	-0,0 (-1,6 – 0,3) -0,3 $\pm$ 0,9	0,75*
<b>Noćni SAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	0,6 (-1,2 – 3,5) 0,6 $\pm$ 0,7	0,8 (0,3 – 2,2) 1,0 $\pm$ 0,8	0,29*
<b>Noćni DAT SDS</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	0,8 (-1,1 – 3,9) 0,9 $\pm$ 0,9	1,4 (0,2 – 1,8) 1,2 $\pm$ 0,7	0,51*
<b>Noćni pad SAT (%)</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	8,0 (0,0-90,0) 8,2 $\pm$ 7,2	4,1 (0,0-9,4) 4,4 $\pm$ 3,9	0,11**
<b>Noćni pad DAT (%)</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	15,0 (0,0 – 35,0) 14,9 $\pm$ 6,1	12,0 (10,0 – 14,7) 12,2 $\pm$ 2,5	0,37*
<b>Jutarnji skok tlaka (mmHg)</b> medijan (raspon) SV $\pm$ SD	19,0 (3,0 – 40,0) 18,7 $\pm$ 6,4	15,0 (12,0 – 30,0) 18,0 $\pm$ 8,1	0,58**

\* Studentov t test; \*\* Mann Whitneyev test

Kratice: SAT sistolički arterijski tlak, DAT dijastolički arterijski tlak, SDS (*engl. standard deviation score*) vrijednost skora standardne devijacije

Nije bilo statistički značajne razlike između bolesnika s povišenom i normalnom vrijednošću uNGAL-a u sljedećim vrijednostima KMAT-a izraženim u obliku z-skora izračunatog metodom LMS (tablica 7): 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,631$ ;  $p=0,53$ ), 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,096$ ;  $p=0,92$ ), dnevnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=0,586$ ;  $p=0,56$ ), dnevnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,324$ ;  $p=0,75$ ), noćnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=1,059$ ;  $p=0,29$ ), noćnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=0,663$ ;  $p=0,51$ ), noćnog pada SAT-a (Mann-Whitney-ev test,  $z=-1,578$ ,  $p=0,11$ ) noćnog pada DAT-a (Studentov t-test;  $t=-0,900$ ;  $p=0,37$ ) te jutarnjeg skoka AT (Mann-Whitney-ev test,  $z=-0,547$ ,  $p=0,58$ ).

Nije bilo statistički značajne razlike niti između bolesnika s povišenim i normalnim vrijednostima uNGAL-a u varijabilnosti 24 – satnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=1,172$ ;  $p=0,24$ ), 24 – satnog DAT-a (Studentov t-test;  $t=0,384$ ;  $p=0,70$ ), dnevnog DAT-a (Mann Whitney-ev test;  $z=0,331$ ;  $p=0,74$ ), noćnog SAT-a (Studentov t-test;  $t=0,677$ ;  $p=0,50$ ) i noćnog DAT-a (Mann Whitney-ev test;  $z=-0,807$ ;  $p=0,42$ ). Bolesnici s povišenim vrijednostima uNGAL-a imali su statistički značajno višu vrijednost varijabilnosti dnevnog SAT-a od onih s normalnim vrijednostima uNGAL-a (Mann Whitney-ev test;  $z=1,975$ ;  $p=0,048$ ) (tablica 8).

Tablica 8. Varijabilnost arterijskoga tlaka u djece sa šećernom bolešću tip 1 u odnosu na vrijednost urinarnog NGAL-a

Varijable	uNGAL uredan (n=197)	uNGAL povišen (n=4)	p
<b>SD 24 h SAT</b> medijan (raspon) SV± SD	10,6 (6,4 – 22,1) 11,0 ± 2,5	12,3 (9,1 – 16,4) 12,5 ± 3,0	0,24*
<b>SD 24h DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	9,2 (5,6 – 15,0) 9,4 ± 1,8	8,4 (7,8 – 14,4) 9,7 ± 3,1	0,70*
<b>SD Dnevni SAT</b> medijan (raspon) SV± SD	9,7 (5,4 – 22,9) 10,2 ± 2,6	11,8 (10,1 – 17,0) 12,7 ± 3,0	<b>0,048**</b>
<b>SD Dnevni DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	7,7 (4,8 – 15,4) 8,1 ± 1,8	7,9 (6,6 – 15,5) 9,5 ± 4,1	0,74**
<b>SD Noćni SAT</b> medijan (raspon) SV± SD	8,9 (2,2 – 25,6) 9,5 ± 3,2	11,5 (6,5 – 12,9) 10,6 ± 2,9	0,50*
<b>SD Noćni DAT</b> medijan (raspon) SV± SD	7,4 (3,7 – 16,4) 7,7 ± 2,3	7,0 (5,1 – 8,0) 6,8 ± 1,4	0,42**

\* Studentov t test; \*\* Mann Whitneyev test

Kratice: SAT sistolički arterijski tlak, DAT dijastolički arterijski tlak, SD standardna devijacija

Nije nađena korelacija između vrijednosti uNGAL-a i sljedećih parametara KMAT-a izraženih u obliku z-skora izračunatog metodom LMS: 24- satnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,126$ ;  $p=0,08$ ), 24 – satnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,046$ ;  $p=0,52$ ), dnevnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,100$ ;  $p=0,16$ ), dnevnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,081$ ;  $p=0,26$ ), noćnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,095$ ;  $p=0,18$ ), noćnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,084$ ;  $p=0,24$ ), noćnog pada SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=0,096$ ;  $p=0,18$ ) noćnog pada DAT-a

(Spearmanova korelacija;  $r_s=0,099$ ;  $p=0,16$ ) te jutarnjeg skoka AT (Spearmanova korelacija;  $r_s=0,034$ ;  $p=0,62$ ).

Također, nije utvrđena niti korelacija između vrijednosti uNGAL-a i varijabilnosti AT tlaka u kategorijama varijabilnosti 24- satnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,112$ ;  $p=0,12$ ), varijabilnosti 24 – satnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,077$ ;  $p=0,28$ ), varijabilnosti dnevnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,116$ ;  $p=0,10$ ), varijabilnosti noćnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,112$ ;  $p=0,12$ ) i varijabilnosti noćnog DAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,104$ ;  $p=0,33$ ). Korelacija između vrijednosti uNGAL-a i varijabilnosti AT je potvrđena samo za varijabilnost dnevnog SAT-a (Spearmanova korelacija;  $r_s=-0,144$ ;  $p=0,04$ ).

### 5.6. Povezanost urinarnog NGAL-a s drugim čimbenicima

Očekivano, vrijednost uNGAL-a je bila statistički značajno viša u ženskih bolesnika (medijan=12,7, raspon: 0,0 do 204,3) nego u osoba muškoga spola (medijan=3,7, raspon: 0,0 do 155,4) (Mann Whitney-ev test,  $z=-5,929$ ,  $p<0,0001$ ). Također i u kontrolnoj skupini vrijednost uNGAL je bila statistički značajno veća u osoba ženskog spola (medijan=10,8, raspon: 0,0 do 204,3) nego u onih muškog spola (medijan=4,9, raspon: 0,0 do 155,4) (Mann Whitney-ev test,  $z=-4,618$ ,  $p<0,0001$ ).

Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL-a između bolesnika koji su imali pridružene autoimune bolesti i onih koji nisu (Mann Whitney-ev test,  $z=1,455$ ,  $p=0,15$ ), između bolesnika s urednim i onih s patološkim lipidogramom (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,541$ ,  $p=0,59$ ), kao ni između bolesnika s dobrom i zadovoljavajućom ( $HbA1c \leq 9\%$ ) u usporedbi s onima s lošom ( $HbA1c > 9\%$ ) metaboličkom kontrolom bolesti (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,127$ ,  $p=0,90$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL-a između skupina bolesnika s normalnim AT, visoko normalnim AT i hipertenzijom I. stupnja prema ordinacijskim mjerenjima AT (Kruskal-Wallis test,  $H=2,311$ ,  $p=0,31$ ). Vrijednost uNGAL-a je bila statistički značajno viša u pubertetskih bolesnika (Tanner II i viši) (medijan=9,3 ng/mL, raspon: 0 do 204,3 ug/L), nego u predpubertetskih bolesnika (Tanner I) (medijan=3,1 ng/mL, raspon: 0 do 90,9 ug/L) (Mann Whitney-ev test,  $z=-4,775$ ,  $p<0,0001$ ). Nađena je slaba korelacija između vrijednosti uNGAL-a i dobi bolesnika (Spearmanova korelacija,  $r_s=0,214$ ,  $p=0,0002$ ).

Nije nađena korelacija između vrijednosti uNGAL-a i ITM izraženog u obliku z-skora (Spearmanova korelacija,  $r_s=-0,005$ ,  $p=0,93$ ) kao niti korelacija između vrijednosti uNGAL-a i trajanja bolesti (Spearmanova korelacija,  $r_s=-0,070$ ,  $p=0,33$ ).

Vrijednost uNGAL-a iskazana kao omjer uNGAL/kreatinin (ng/mg) je bila statistički značajno viša u ženskih bolesnika (medijan=11,3, raspon: 0,0 do 265,6) nego u onih muškoga spola (medijan=3,1, raspon: 0,0 do 83,3) (Mann Whitney-ev test,  $z=-6,457$ ,  $p<0,0001$ ). Također i u kontrolnoj skupini vrijednost uNGAL/kreatinin je bila statistički značajno viša u osoba ženskog spola (medijan=8,0, raspon: 0,0 do 265,6) nego u onih muškog spola (medijan=4,4, raspon: 0,0 do 125,6) (Mann Whitney-ev test,  $z=-4,675$ ,  $p<0,0001$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL/kreatinin između bolesnika koji su imali pridružene autoimune bolesti i onih koji ih nisu imali (Mann Whitney-ev test,  $z=1,465$ ,  $p=0,14$ ); između bolesnika s urednim i onih s patološkim lipidogramom (Mann Whitney-ev test,  $z=-1,063$ ,  $p=0,29$ ); između bolesnika s dobrom i zadovoljavajućom ( $HbA1c \leq 9\%$ ) u odnosu na one s lošom ( $HbA1c > 9\%$ ) metaboličkom kontrolom bolesti (Mann Whitney-ev test,  $z=1,497$ ,  $p=0,13$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL/kreatinin između skupina bolesnika s normalnim AT, visoko normalnim AT i hipertenzijom I. stupnja prema ordinacijskim mjerenjima (Kruskal-Wallis test,  $H=2,963$ ,  $p=0,23$ ). Vrijednost uNGAL/kreatinin bila je statistički značajno viša u pubertetskih bolesnika (Tanner II i više) (medijan=7,1, raspon: 0 do 265,6), nego u predpubertetskih bolesnika (Tanner I) (medijan=3,5, raspon: 0 do 56,6) (Mann Whitney-ev test,  $z=-2,522$ ,  $p=0,01$ ).

Nisu nađene korelacije između vrijednosti NGAL/kreatinin i ITM izraženog u obliku z-skora (Spearmanova korelacija,  $r_s=-0,005$ ,  $p=0,94$ ), između vrijednosti NGAL/kreatinin i trajanja bolesti (Spearmanova korelacija,  $r_s=-0,077$ ,  $p=0,28$ ), niti između vrijednosti NGAL/kreatinin i dobi bolesnika (Spearmanova korelacija,  $r_s=0,072$ ,  $p=0,28$ ).

U multiploj linearnoj regresijskoj analizi nezavisni prediktor vrijednosti uNGAL-a bila je dob ( $\beta=1,1654$ ,  $p=0,01$ ) i spol ( $\beta=13,1589$ ,  $p=0,0002$ ).

U multiploj linearnoj regresijskoj analizi nezavisni prediktori vrijednosti uNGAL-a korigiranog prema kreatininu bili su jedino spol ( $\beta=15,8880$ ,  $p=0,0001$ ) i loša razina metaboličke kontrole bolesti ( $\beta=14,4851$ ,  $p=0,002$ ).

### **5.7. Povezanost povišenog urinarnog NGAL-a u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1 s drugim čimbenicima**

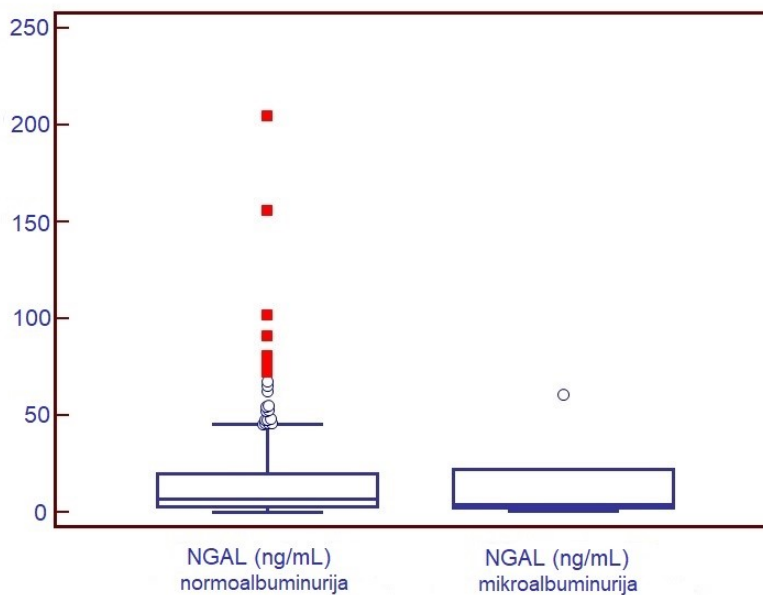
Samo je četiri bolesnika sa ŠB imalo povišen uNGAL ( tri dječaka i jedna djevojčica). Sva tri dječaka bila su normoalbuminurična, dok je djevojčica imala mikroalbuminuriju. Između bolesnika s povišenim i onih s normalnim uNGAL-om nije bilo statistički značajne razlike u dobi (Mann Whitney-ev test,  $z=0,586$ ,  $p=0,56$ ), trajanju bolesti (Studentov t test,  $t=-0,946$ ,  $p=0,35$ ), prisutnosti pridruženih

autoimunih bolesti (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,598$ ,  $p=0,06$ ), spolu (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,508$ ,  $p=0,48$ ), lipidogramu (uredan vs patološki) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,324$ ,  $p=0,57$ ), stupnju pubertetskog razvoja (Tanner I vs Tanner II i više) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,075$ ,  $p=0,78$ ), ITM (Studentov t test,  $t=0,675$ ,  $p=0,50$ ), razini metaboličke kontrole bolesti (dobra vs zadovoljavajuća vs loša) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=2,149$ ,  $p=0,34$ ), ili ordinacijskom AT (normalan AT vs visoko normalan AT vs hipertenzija I. stupnja) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=4,861$ ,  $p=0,09$ ). Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednosti eGRF između bolesnika s normalnim i bolesnika s povišenim uNGAL-om (Studentov t test,  $t=-0,076$ ,  $p=0,94$ ).

### 5.8. Povezanost urinarnog NGAL-a i kategorije albuminurije

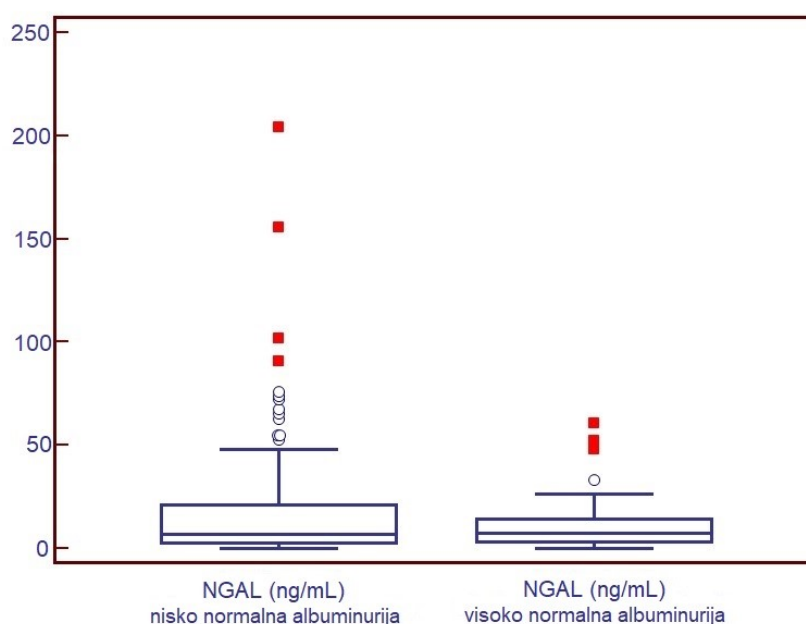
U skupini bolesnika sa ŠB njih 7 (3,5%) je imalo mikroalbuminuriju. Među 194 bolesnika bez mikroalbuminurije, njih 158 (78,6% svih bolesnika) je imalo nisko normalnu albuminuriju, a 36 (17,9% svih bolesnika) visoko normalnu albuminuriju.

Nije nađena statistički značajna razlika u vrijednosti uNGAL-a između onih s mikroalbuminurijom i onih s normoalbuminurijom (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,564$ ,  $p=0,57$ ). Razlika nije ustanovljena niti kad je uNGAL korigiran prema vrijednostima kreatinina (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,531$ ,  $p=0,59$ ) (slika 4).



Slika 4. Usporedba urinarnog NGAL-a između ispitanika s normoalbuminurijom i mikroalbuminurijom

U skupini bolesnika nije nađena statistički značajna razlika u vrijednostima uNGAL-a usporedbom onih s nisko normalnom i onih s visoko normalnom albuminurijom (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,355$ ,  $p=0,72$ ). Također, razlika nije ustanovljena niti kad je uNGAL korigiran prema vrijednostim kreatinina (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,333$ ,  $p=0,74$ ) (slika 5).



Slika 5. Usporedba urinarnog NGAL-a između ispitanika s nisko normalnom i visoko normalnom albuminurijom

### 5.9. Povezanost mikroalbuminurije s raznim čimbenicima u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1

Nije nađena statistički značajna povezanost između mikroalbuminurije i spola (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,080$ ,  $p=0,78$ ), dobi (Mann Whitney-ev test,  $z=0,962$ ,  $p=0,34$ ), ITM izraženog u obliku z-skora (Studentov t test,  $t=-0,423$ ,  $p=0,67$ ), trajanja bolesti (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,873$ ,  $p=0,38$ ), stupnja pubertetskog razvoja (Tanner I vs Tanner II i više) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,572$ ,  $p=0,45$ ), prisutnosti pridruženih autoimunih bolesti (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,001$ ,  $p=0,98$ ), lipidograma (uredan vs patološki) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=2,450$ ,  $p=0,12$ ) i ordinacijskoga AT (normalan AT vs visoko normalan AT

vs hipertenzija I. stupnja) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=2,442$ ,  $p=0,29$ ). Mikroalbuminurija je bila statistički značajno češća u bolesnika s lošom razinom metaboličke kontrole bolesti ( $HbA1c>9\%$ ) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=8,603$ ,  $p=0,003$ ). Od 41 bolesnika s lošom razinom metaboličke kontrole bolesti njih 5 (12,2%) je imalo mikroalbuminuriju, dok je među 160 bolesnika s dobrom i zadovoljavajućom razinom metaboličke kontrole bolesti ( $HbA1c\leq 9\%$ ) njih 2 (1,3%) imalo mikroalbuminuriju.

Rezultati univarijantne logističke regresijske analize povezanosti različitih varijabli s mikroalbuminurijom su prikazani u tablici 9.

U regresijskoj analizi sljedeće varijable su prikazane u dvije kategorije: stupanj pubertetskog razvoja (Tanner I / Tanner II ili više), pridružene autoimune bolesti (prisutne / odsutne), lipidogram (uredan / patološki), metabolička kontrola bolesti (loša ( $HbA1c>9\%$ ) / zadovoljavajuća ( $HbA1c\leq 9\%$ )), ordinacijski AT (normalan AT i visoko normalan AT / hipertenzija I. stupnja).

Tablica 9. Univarijantna logistička regresijska analiza povezanosti različitih varijabli s mikroalbuminurijom

Varijabla	Omjer rizika (OR)	95% CI za OR	p
Spol	1,6744	0,3649 - 7,6830	0,507
Dob (godine)	1,1566	0,9116 - 1,4674	0,230
ITM (z-skor)	0,8482	0,3974 - 1,8105	0,670
Trajanje bolesti (godine)	0,9063	0,7404 - 1,1094	0,340
Stupanj pubertetskog razvoja	0,0000	0,0000 – 0,0000	0,993
Metabolička kontrola bolesti	10,9722	2,0463 - 58,8326	<b>&lt;0,01</b>
Pridružene autoimune bolesti	0,5853	0,0686 - 4,9943	0,624
Lipidogram	4,2899	0,9260 - 19,8729	0,062
Ordinacijski tlak	4,4524	0,4705 - 42,1371	0,192
uNGAL (ng/mL)	0,9936	0,9563 - 1,0323	0,740
uNGAL/kreatinin (ng/mg)	0,9937	0,9569 - 1,0319	0,741
24 h sistola SDS	1,1097	0,3941 - 3,1248	0,843
24 h dijastola SDS	2,1333	1,0831 - 4,2020	<b>0,028</b>
Dnevna sistola SDS	0,8503	0,2853 - 2,5345	0,771
Dnevna dijastola SDS	2,2189	1,2611 - 3,9043	<b>&lt;0,01</b>
Noćna sistola SDS	1,3792	0,5191 - 3,6642	0,519
Noćna dijastola SDS	5,4797	1,9479 - 15,4151	<b>&lt;0,01</b>
Noćni pad sistole (%)	0,0001	0,0000 - 36921,8091	0,369
Noćni pad dijastole (%)	0,0001	0,0000 - 21,2139	0,134
Jutarnji skok tlaka	0,8660	0,7565 - 0,9915	<b>0,037</b>
Varijabilnost 24 h sistole (SD)	0,7563	0,5072 - 1,1277	0,170
Varijabilnost 24 h dijastole (SD)	0,6959	0,4346 - 1,1143	0,131
Varijabilnost dnevne sistole (SD)	0,7040	0,4611 - 1,0747	0,103
Varijabilnost dnevne dijastole (SD)	0,6335	0,3505 - 1,1449	0,130
Varijabilnost noćne sistole (SD)	0,8766	0,6612 - 1,1622	0,360
Varijabilnost noćne dijastole (SD)	1,0225	0,7354 - 1,4216	0,894

Kratice: SDS (*engl. standard deviation score*) vrijednost skora standardne devijacije; SD standardna devijacija

Varijable koje su se pokazale statistički značajnim prediktorima mikroalbuminurije su: 24 – satni DAT (omjer rizika: 2,1 (95% interval pouzdanosti: 1,1 – 4,2), p=0,03), dnevni DAT (omjer rizika: 2,2 (95% interval pouzdanosti: 1,3 – 3,9), p=0,006), noćni DAT (omjer rizika: 5,5 (95% interval pouzdanosti: 1,9 – 15,4), p=0,001), jutarnji skok AT (omjer rizika: 0,9 (95% interval pouzdanosti: 0,8 – 1,0), p=0,04) i



metabolička kontrola bolesti (omjer rizika: 11,0 (95% interval pouzdanosti: 2,0 – 58,8),  $p=0,005$ ).

U multiploj logističkoj regresiji jedine varijable koje su se pokazale povezane s mikroalbuminurijom su bile: noćni DAT (omjer rizika: 9,6 (95% interval pouzdanosti: 2,4 – 38,0),  $p=0,001$ ), dnevni SAT (omjer rizika: 0,2 (95% interval pouzdanosti: 0,1 – 0,9),  $p=0,049$ ) i loša metabolička kontrola bolesti (omjer rizika: 11,2 (95% interval pouzdanosti: 1,7 – 75,4),  $p=0,013$ ).

#### **5.10. Povezanost nisko normalne i visoko normalne albuminurije s raznim čimbenicima u ispitanika sa šećernom bolešću tip 1**

Nije nađena statistički značajna razlika između bolesnika s nisko normalnom i onih s visoko normalnom albuminurijom s obzirom na spol (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,029$ ,  $p=0,86$ ), dob (Mann Whitney-ev test,  $z=0,962$ ,  $p=0,34$ ), ITM izraženog u obliku z-skora (Studentov t test,  $t=-0,812$ ,  $p=0,42$ ), trajanje bolesti (Mann Whitney-ev test,  $z=-0,163$ ,  $p=0,87$ ), stupanj pubertetskog razvoja (Tanner I vs Tanner II i više) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,747$ ,  $p=0,39$ ), prisutnosti pridruženih autoimunih bolesti (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,433$ ,  $p=0,51$ ), lipidogram (uredan vs patološki) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,202$ ,  $p=0,65$ ) i ordinacijski AT (normalan vs visoko normalan vs hipertenzija I. stupnja) (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=0,545$ ,  $p=0,76$ ).

Bolesnici s visoko normalnom albuminurijom su imali statistički značajno češću lošu razinu metaboličke kontrole bolesti ( $HbA1c > 9\%$ ) od bolesnika s nisko normalnom albuminurijom (Hi-kvadrat test,  $\chi^2=5,242$ ,  $p=0,02$ ). Od ukupno 36 bolesnika s visoko normalnom albuminurijom, njih 12 (33,3%) je imalo lošu razinu metaboličke kontrole bolesti, dok je od 158 bolesnika s nisko normalnom albuminurijom njih 24 (15,2%) imalo lošu razinu metaboličke kontrole bolesti. Bolesnici s visoko normalnom albuminurijom su bili statistički značajno mlađi od bolesnika s nisko normalnom albuminurijom (medijan dobi 13,4 godine vs 15,5 godina) (Mann Whitney-ev test,  $z=-2,381$ ,  $p=0,02$ ).

Rezultati univarijantne logističke regresijske analize povezanosti različitih varijabli s visoko normalnom albuminurijom (u odnosu na nisko normalnu albuminuriju) su prikazani u tablici 10.

U regresijskoj analizi sljedeće varijable su prikazane u dvije kategorije: stupanj pubertetskog razvoja (Tanner I / Tanner II ili više), pridružene autoimune bolesti (prisutne / odsutne), lipidogram (uredan / patološki), metabolička kontrola bolesti (loša ( $HbA1c > 9\%$ ) / zadovoljavajuća ( $HbA1c \leq 9\%$ )), ordinacijski AT (normalan i visoko normalan AT/ hipertenzija I. stupnja).

Tablica 10. Univarijantna logistička regresijska analiza povezanosti različitih varijabli s visoko normalnom albuminurijom

Varijabla	Omjer rizika (OR)	95% CI za OR	p
spol	1,0057	0,4854 - 2,0838	0,987
Dob (godine)	0,8912	0,8111 - 0,9792	<b>0,016</b>
ITM (z-skor)	0,8589	0,5954 - 1,2391	0,416
Trajanje bolesti (godine)	0,9941	0,9120 - 1,0837	0,893
Stupanj pubertetskog razvoja	1,6173	0,6839 - 3,8244	0,273
Metabolička kontrola bolesti	2,7917	1,2321 - 6,3251	<b>0,013</b>
Pridružene autoimune bolesti	0,6541	0,2528 - 1,6924	0,381
Lipidogram	0,7365	0,2991 - 1,8136	0,505
Ordinacijski tlak	0,7238	0,0844 - 6,2057	0,768
uNGAL (ng/mL)	1,0106	0,9983 - 1,0231	0,091
uNGAL/kreatinin (ng/mg)	1,0161	1,0034 - 1,0291	<b>0,013</b>
24 h sistola SDS	0,9772	0,5914 - 1,6146	0,928
24 h dijastola SDS	1,0544	0,7552 - 1,4721	0,755
Dnevna sistola SDS	0,9744	0,5787 - 1,6408	0,922
Dnevna dijastola SDS	0,9732	0,6806 - 1,3917	0,881
Noćna sistola SDS	0,8911	0,5386 - 1,4744	0,653
Noćna dijastola SDS	0,9898	0,6461 - 1,5164	0,962
Noćni pad sistole (%)	0,3028	0,0006 - 164,5047	0,710
Noćni pad dijastole (%)	2,1188	0,0055 - 811,3923	0,804
Jutarnji skok tlaka	0,9545	0,8988 - 1,0137	0,129
Varijabilnost 24 h sistole (SD)	0,9707	0,8342 - 1,1296	0,700
Varijabilnost 24 h dijastole (SD)	1,0429	0,8594 to 1,2655	0,670
Varijabilnost dnevne sistole (SD)	0,9815	0,8524 - 1,1302	0,795
Varijabilnost dnevne dijastole (SD)	1,0418	0,8618 - 1,2593	0,672
Varijabilnost noćne sistole (SD)	0,9916	0,8839 to 1,1123	0,885
Varijabilnost noćne dijastole (SD)	1,1579	0,9916 to 1,3520	0,063

Kratice: SDS (*engl. standard deviation score*) vrijednost skora standardne devijacije; SD standardna devijacija

Varijable koje su se pokazale statistički značajnim prediktorima visoko normalne albuminurije su: dob (omjer rizika: 0,9 (95% interval pouzdanosti: 0,8 – 1,0),  $p=0,01$ ), metabolička kontrola bolesti (omjer rizika: 2,8 (95% interval pouzdanosti: 1,2 – 6,3),  $p=0,01$ ) i uNGAL/kreatinin (omjer rizika: 1,02 (95% interval pouzdanosti: 1,00 – 1,03),  $p=0,01$ ).

U multiploj logističkoj regresiji jedine varijable koje su se pokazale povezane s visoko normalnom albuminurijom su bile: uNGAL/kreatinin (omjer rizika: 1,02 (95% interval pouzdanosti: 1,01 – 1,04),  $p=0,003$ ), varijabilnost noćnog DAT-a (omjer rizika: 1,21 (95% interval pouzdanosti: 1,02 – 1,43),  $p=0,03$ ) i dob (omjer rizika: 0,86 (95% interval pouzdanosti: 0,77 – 0,95),  $p=0,003$ ).

### 5.11. Vrijednost glomerularne filtracije u odnosu na albuminuriju

Nije nađena razlika u vrijednostima eGFR između bolesnika s mikroalbuminurijom i onih bez mikroalbuminurije (Studentov t test,  $t=-0,018$ ,  $p=0,99$ ). Također nije nađena razlika u vrijednostima eGFR između bolesnika s nisko normalnom albuminurijom i onih s visoko normalnom albuminurijom (Studentov t test,  $t=-0,0070$ ,  $p=0,94$ ).

Tablica 11. Vrijednost glomerularne filtracije u odnosu na kategoriju albuminurije

Varijable	Svi ispitanici sa ŠB (n=201)	Nisko normalna albuminurija (n=158)	Visoko normalna albuminurija (n=36)	$p^1$	Mikro-albuminurija (n=7)	$p^2$
eGFR ml/min/1,73m <sup>2</sup> medijan (raspon)	116,0 (78,3 - 203)	116,0 (80,9 - 203)	118 (78,3 - 158)	0,94	120,9 (101,2 - 129)	0,99
SV $\pm$ SD	117,6 $\pm$ 18,4	117,6 $\pm$ 18,4	117,4 $\pm$ 20,2		117,4 $\pm$ 11,6	

$p^1$  razlika između nisko normalne i visoko normalne albuminurije;  $p^2$  razlika između

normoalbuminurije (nisko normalne + visoko normalne albuminurije) i mikroalbuminurije

Kratice: eGFR (*engl. estimated glomerular filtration rate*) procijenjena glomerularna filtracija

## 6. RASPRAVA

Dijabetička nefropatija kao mikrovaskularna komplikacija u djece sa ŠB tip 1 unazad nekoliko desetljeća dijagnosticira se znatno rjeđe (<10%) u usporedbi s podacima iz 80-ih godina prošlog stoljeća (25-40%) zahvaljujući napretku zdravstvene skrbi koja uključuje kontinuiranu procjenu rizičnih faktora i ranu terapijsku intervenciju (167).

Povišen AT jedan je od ključnih rizičnih čimbenika za razvoj DN te je njegova adekvatna regulacija, uz bolju regulaciju lipida i glikemijsku kontrolu bolesti, neophodna za očuvanje bubrežne funkcije. Teza o „tubularnoj fazi“ u razvoju DN potaknula je istraživanje tubularnih biljega koji bi mogli ukazati na bubrežno oštećenje i prije pojave albuminurije.

Stoga je predmet našega istraživanja bio ustanoviti karakteristike AT u djece sa ŠB tip 1 te analizirati ulogu tubularnog biljega uNGAL-a, njihovu međusobnu povezanost i odnos prema albuminuriji u djece sa ŠB tip 1.

Ordinacijska i kućna mjerenja AT uobičajen su način procjene AT u svakodnevnom radu, no ove metode ne mogu otkriti arterijsku hipertenziju u značajnog broja bolesnika (102). Analiza ordinacijskog AT naših ispitanika ukazala je na generalno zadovoljavajuću regulaciju AT pri čemu se vrijednosti AT izmjerene u naših ispitanika nisu bitno razlikovale od vrijednosti nađenih u općoj populaciji (113, 168). Prevalencija normalnog AT u našoj skupini ispitanika bila je praktički ista kao i u populaciji zdravih adolescenata (87,5 % vs. 86%) uz nešto nižu prevalenciju visoko normalnog AT (8,5% vs. 11,5%). Prevalencija arterijske hipertenzije u naših ispitanika bila je u prosjeku za opću europsku pedijatrijsku populaciju i slična prevalenciji kod djece sa ŠB tip 1 u velikoj američkoj studiji na 3691 ispitaniku (87, 91). S druge strane, neki autori navode vrlo visoke prevalencije arterijske hipertenzije kod djece sa ŠB tip 1 od 32,1% i 51% koje bi se vjerojatno mogle objasniti visokim udjelom hipertenzije bijele kute (102,169).

Dobiveni podaci potvrđuju spoznaju kako samo ordinacijska i/ili kućna mjerenja AT nisu dovoljno precizna za adekvatnu procjenu regulacije AT, ali i otkrivanje manjih odstupanja koja je važno dijagnosticirati u bolesnika sa ŠB s obzirom da povišen AT značajno doprinosi razvoju mikro- i makrovaskularnih komplikacija i kod bolesnika sa ŠB četiri puta povećava rizik za kardiovaskularnu bolest (82).

Metoda KMAT-a uz prednost uvida u 24- satni profil AT i procjenu cirkadijalnih varijacija AT danas je standard za postavljanje dijagnoze arterijske hipertenzije, a preporuča se i za potvrdu arterijske hipertenzije prema smjernicama ISPAD-a (19) . KMAT ima bolju reproducibilnost i bolju korelaciju s

oštećenjima ciljnih organa u usporedbi s kućnim i ordinacijskim mjerenjima AT te dobro korelira s morfološkim promjenama na bubregu (104, 105, 107).

Temeljem analize KMAT-a naših ispitanika sa ŠB tip 1, kao i temeljem ordinacijskih mjerenja AT, možemo zaključiti da je na razini čitave skupine AT zadovoljavajuće reguliran, tj. podaci o prevalenciji pojedinih kategorija AT nisu značajnije odstupali od prosjeka populacije (170). Tako je prevalencija maskirane hipertenzije od 6% u naših ispitanika nešto niža u odnosu na prevalenciju od približno 10% u općoj populaciji, ali je i niža u odnosu na rezultate drugih istraživanja kod djece sa ŠB tip 1 gdje je opisana prevalencija od 9,5% i 12,4% (102, 169). Važnost dijagnosticiranja maskirane hipertenzije, naročito u bolesnika sa ŠB, jest u činjenici kako je ona u mladim ljudi prekursor trajne arterijske hipertenzije i nosi gotovo jednak kardiovaskularni rizik kao i trajna hipertenzija (171).

Prevalencija hipertenzije bijele kute u općoj pedijatrijskoj populaciji kreće se u širokom rasponu od 1 do 44% , a u populaciji djece sa ŠB od 3,7% do 32%, (102, 169, 172). U našoj skupini bolesnika sa ŠB tip 1 prevalencija hipertenzije bijele kute bila je svega 2%. Ovaj podatak se može protumačiti činjenicom kako se radi o bolesnicima s kroničnom bolešću koji relativno često dolaze u bolnicu gdje su u poznatoj sredini zbog čega i izostaje „efekt bijele kute“. Mehanizam nastanka hipertenzije bijele kute, kao i njeni dugoročni učinci na kardiovaskularni sustav djece nisu razjašnjeni. Nema čvrstoga dokaza o povezanosti hipertenzije bijele kute i oštećenja ciljnih organa, no potreban je oprez zbog ipak mogućeg prijelaza u trajnu arterijsku hipertenziju (173).

Ambulatornu hipertenziju i hipertenziju s rizikom za oštećenje ciljnih organa imalo je ukupno 5% naših ispitanika što je sukladno s podacima populacijskog istraživanja prevedenog u Sjevernoj Americi (87). Važno je istaknuti kako je među našim ispitanicima 1,5% imalo hipertenziju s rizikom za oštećenje ciljnih organa koja uglavnom odgovara II. stupnju hipertenzije pri ordinacijskim mjerenjima, a koji ne bi bili prepoznati kao bolesnici najvišeg rizika da se je AT procjenjivao samo temeljem ordinacijskih mjerenja.

Suprotno našim podacima, u nekoliko manjih istraživanja uočena je znatno viša prevalencija arterijske hipertenzije u djece sa ŠB tip 1 u rasponu od 12% do 23,5%, odnosno čak do visokih 52 % kad su u analizu bila uključena i djeca s izoliranom dnevnom ili izoliranom noćnom arterijskom hipertenzijom (102, 174). Manji udio hipertenzivne djece u naših ispitanika mogao bi biti rezultat dobrog programa praćenja usmjerenog na rano otkrivanje komplikacija ŠB.

Naši rezultati analize pojedinih parametara KMAT-a na razini čitave skupine bolesnika sa ŠB tip 1 pokazali su više vrijednosti dnevnog SAT-a i noćnog SAT-a i DAT-a, dok su dnevne vrijednosti DAT-a bile čak niže u odnosu na zdravu populaciju. Dobiveni podaci sukladni su onima iz recentnoga multicentričnog istraživanja Dosta i sur. koji su analizirali nalaze KMAT-a 3529 djece sa ŠB tip 1 iz

Austrije i Njemačke (175). Ovi rezultati ukazuju na narušenu regulaciju AT u djece sa ŠB, iako kod velike većine još ne postoje elementi za dijagnozu trajne arterijske hipertenzije.

Analiza noćnoga pada AT u naših ispitanika ukazala je na iznenađujuće visok udio izostanka noćnoga pada tlaka (74,1%) koji premašuje rezultate drugih istraživanja u pedijatrijskog populaciji u kojima se navode vrijednosti od 36%, 41,2 %, odnosno 52% (102, 174,176). Kao i u drugim istraživanjima i u našem se dominantno radi o izostanku noćnog pada sistoličkog tlaka (174,175). U navedenim istraživanjima dob ispitanika i duljina trajanja bolesti bile su sukladne našim rezultatima. Izostanak noćnoga pada AT poznat je čimbenik rizika za nepovoljan kardiovaskularni ishod i oštećenje ciljnih organa u odraslih (177). Iako njegova prognostička vrijednost za pedijatrijsku populaciju nije još jasno definirana, djecu s izostankom noćnoga pada AT treba shvatiti kao populaciju pod povećanim rizikom koju treba sustavno pratiti.

Varijabilnost AT dobro je opisan i važan čimbenik u interpretaciji KMAT-a u odraslih. Njegova značajnost u djece nije za sada jasno definirana i predmetom je analize u znanstvenim istraživanjima. Također, ne postoje jasno definirane referentne vrijednosti za varijabilnost AT u djece. Neovisno o povišenim vrijednostima AT, varijabilnost AT kao stupanj varijacije AT između pojedinih mjerenja, nedavno je povezana s nepovoljnih ishodima uključujući kardiovaskularne incidente, progresiju bubrežne bolesti i sveukupni morbiditet i mortalitet u odraslih (178).

Rezultati varijabilnosti AT kod naših ispitanika podudarali su se s podacima sličnog istraživanja u populaciji djece sa ŠB tip 1 i kod djece s hipertenzijom (175, 179). Uočene su fluktuacije pojedinačnih vrijednosti i do 10 standardnih devijacija pri čemu je dnevna varijabilnost bila veća u odnosu na noćnu, a sistolička varijabilnost veća u odnosu na dijastoličku. Međutim, treba istaknuti kako vrijednosti varijabilnosti nisu prelazile 16 mmHg SAT-a ili 12,2 mmHg DAT-a koje se u literaturi za odraslu populaciju navode kao vrijednosti iznad kojih raste kardiovaskularni rizik (180, 181). Razlog tome moglo bi biti kraće trajanje bolesti te relativno dobar profil metaboličke kontrole naših ispitanika. Potrebno je istaknuti kako za sada ne znamo vrijede li navedene granične vrijednosti i za mlade bolesnike ili oni i uz nižu varijabilnost AT imaju povećan kardiovaskularni rizik.

Pretragom dostupne literature ne nalazi se rezultata istraživanja o ulozi jutarnjeg skoka AT kod djece. Na razini čitave skupine naših ispitanika srednja vrijednost jutarnjega skoka tlaka bila je ispod 20 mmHg što je vrijednost koja se u istraživanjima kod odraslih navodi kao najrestriktivnija granična vrijednost iznad koje raste rizik za nepovoljan kardiovaskularni ishod uz napomenu da ne postoji jasan konsenzus oko gornje granice normale (182).

Važnost poznavanja parametara KMAT-a u djece sa ŠB nije samo u mogućnosti otkrivanja arterijske hipertenzije, već i u detekciji manjih odstupanja pojedinih varijabli KMAT-a koje mogu ukazivati na razvoj dijabetičke nefropatije.

Klinički evidentna dijabetička nefropatija praćena mikroalbuminurijom rijetka je u pedijatrijskoj populaciji, što potvrđuju i naši rezultati. Međutim, poznato je kako već i porast razine albuminurije unutar normalnoga raspona može biti prediktivan za razvoj kasnije albuminurije i proteinurije (40). Također, recentni rezultati probirne faze istraživanja srčano-bubrežnih pokazatelja u djece sa ŠB tip 1 (*AdDIT – adolescent type 1 diabetes cardio-renal interventional trial*) pokazali su da adolescenti u dobi od 10 do 16 godina s ACR u gornjoj tercili normalnog raspona imaju višu glomerularnu filtraciju i povišen kardiovaskularni rizik procijenjen temeljem lipidograma, krutosti krvnih žila i znakova narušene srčane autonomne funkcije (183, 184).

Do sada je u nekoliko istraživanja potvrđena veza odstupanja u AT i razine albuminurije u inače normotenzivne djece sa ŠB tip 1 prema ordinacijskim mjerenjima. Lurbe i sur. tako su među prvima objavili kako porast noćnoga AT u djece sa ŠB prethodni pojavi mikroalbuminurije, odnosno da je u onih s normalnim obrascem noćnog pada AT manja vjerojatnost za progresiju iz normo- u mikroalbuminuriju (117).

Istražujući razlike u parametrima KMAT-a unutar skupine normoalbuminurične djece sa ŠB tip 1 Gallego i sur. su uočili kako djeca s visoko normalnim izlučivanjem albumina u urinu imaju više vrijednosti dnevnog i noćnog sistoličkog i dijastoličkog AT u usporedbi s djecom s nisko normalnim lučenjem albumina. Autori su zaključili kako porast AT nije inicirajući faktor za razvoj DN, no više vrijednosti 24- satnog AT bile su prisutne prije razvoja trajne mikroalbuminurije (55). Nadalje, u istraživanju Marcovecchio i sur. u kojem su analizirani nalazi KMAT-a 509 djece i adolescenata sa ŠB tip 1 kroz 3 godine zaključeno je kako je dnevni dijastolički AT udružen s progresijom u mikroalbuminuriju te kako porast albuminurije čak i unutar normalnih vrijednosti može biti udružen s istovremenim porastom AT (54).

Za razliku od navedenih istraživanja u kojima je dokazano kako bolesnici s visoko normalnom albuminurijom imaju više vrijednosti sistoličkog i/ili dijastoličkog AT u odnosu na one s nisko normalnom albuminurijom, mi takvu razliku nismo dokazali kod naših ispitanika. Također, razlika nije uočena niti za noćni pad AT, kao ni za jutarnji skok sistoličkog AT. Ovaj podatak mogao bi se tumačiti činjenicom kako visina AT nije jedini čimbenik koji utječe na razvoj dijabetičke nefropatije, već važnu ulogu mogu imati primjerice razina glikemije, spol, trajanje ŠB, ITM i/ili pušenje. Univarijantnom logističkom regresijom kod naših ispitanika samo su mlađa dob i loša metabolička kontrola bolesti bile varijable koje su se pokazale statistički značajnim prediktorima visoko normalne albuminurije.

Spol, ITM, trajanje bolesti, stupanj pubertetskoga razvoja, pridružene autoimune bolesti, lipidogram, ordinacijski AT, kao i parametri KMAT-a, uključujući i noćni pad AT i jutarnji skok sistoličkog AT, nisu bili statistički značajni prediktori visoko normalne albuminurije.

Podatak o lošijoj metaboličkoj kontroli u ispitanika s visoko normalnom albuminurijom ne iznenađuje s obzirom da se hiperglikemija izražena kao vrijednost HbA1c smatra dominantnim faktorom rizika za razvoj DN, a njihova povezanost uočena je i u drugim istraživanjima (54,59). Mlađa dob djece s visoko normalnom albuminurijom mogla bi se objasniti spoznajom kako ranija pojava bolesti, odnosno predpubertetsko i pubertetsko trajanje ŠB pridonosi riziku za razvoj mikroalbuminurije (45, 48).

S druge strane, usporedbom normoalbuminurične i mikroalbuminurične skupine, kod ispitanika s mikroalbuminurijom uočili smo više vrijednosti 24 - satnog, dnevnog i noćnog DAT-a što je u skladu s drugim istraživanjima. Primjerice, Guntsche i sur. kroz 2 godine pratili su skupinu 40 djece sa ŠB tip 1 koja su inicijalno imala uredan AT i normoalbuminuriju. Tijekom praćenja podijelili su ih u 3 skupine: onu s perzistentnom normoalbuminurijom, s intermitentnom mikroalbuminurijom i s trajnom mikroalbuminurijom. Na kraju studije uočili su trend višega DAT-a u obje mikroalbuminurične skupine, iako je statistički značajan porast 24 - satnog DAT-a potvrđen samo u skupini s trajnom mikroalbuminurijom (185).

Za razliku od ovih opažanja o promjenama 24 - satnog AT ovisno o vrijednostima albuminurije, neki autori uočili su odstupanja samo u noćnim vrijednostima AT (117, 118). Pregledom literature samo u jednom dostupnom radu nije nađena korelacija između AT i mikroalbuminurije objašnjavajući taj rezultat malim uzorkom i činjenicom da se nije radilo o prospektivnoj longitudinalnoj studiji (169). Razlog ovakvom rezultatu mogao bi biti i u metodološki loše postavljenoj analizi podataka. Autori, naime, nisu analizirali odstupanja u parametrima KMAT-a u odnosu na mikroalbuminuriju, već su korelirali samo nalaz hipertenzije s mikroalbuminurijom i tako propustili analizirati manja odstupanja u AT koja još ne zadovoljavaju kriterije hipertenzije, no svakako ukazuju na razvoj patološkog obrasca AT u djece sa ŠB tip 1.

Univarijantnom logističkom regresijskom analizom naših podataka o povezanosti različitih varijabli AT s mikroalbuminurijom, kao statistički značajni prediktori mikroalbuminurije izdvojili su se 24 - satni, dnevni i noćni DAT, jutarnji skok AT i metabolička kontrola bolesti. Spol, dob, ITM, trajanje bolesti, stupanj pubertetskoga razvoja, pridružene autoimune bolesti, lipidogram, ordinacijski AT, sistolički tlak u KMAT-u, noćni pad AT i varijabilnost AT nisu se pokazali statistički značajnim prediktorima mikroalbuminurije. Povezanost promjena AT i mikroalbuminurije komentirana je ranije. Zanimljiv je podatak o jutarnjem skoku AT kao prediktoru mikroalbuminurije s obzirom da njegove vrijednosti u



apsolutnim brojkama nisu prelazile granicu normale, no ipak u kombinaciji s lošijom metaboličkom kontrolom bolesti ukazuju na određeno grupiranje čimbenika rizika već u mladih ljudi s mikroalbuminurijom te potvrđuju pretpostavku kako je razvoj DN vjerojatno rezultat kumulativnog učinka više čimbenika. Lošija metabolička kontrola bolesti je dobro poznat prediktor za razvoj mikroalbuminurije čija je uloga, osim u našem istraživanju, potvrđena i u brojnim radovima (59, 174, 186).

Podatak o odstupanjima u DAT-u potvrđuje tezu kako promjene AT imaju ulogu u razvoju DN. Međutim, suprotno zaključcima nekih istraživanja temeljem naših rezultata ne može se zaključiti kako promjene AT prethode pojavi albuminurije, već se može pretpostaviti kako se oba događaja odvijaju istovremeno, odnosno kako je moguće da su albuminurija i porast AT vjerojatno manifestacija istog patofiziološkog događaja (54, 117).

Podatak o promjenama DAT-a kao prvom pokazatelju odstupanja u AT kod djece sa ŠB tip 1 potvrđen je i u analizi varijabilnosti AT između različitih kategorija albuminurije u kojoj su bolesnici s visoko normalnom albuminurijom imali statistički značajno višu varijabilnost noćnog DAT-a od bolesnika s nisko normalnom albuminurijom, a što je potvrđeno i multiplom logističkom regresijom. Pregledom literature nisu nađeni radovi u kojima je analizirana varijabilnost AT unutar normoalbuminuričnih kategorija pa se temeljem samo našeg istraživanja ne može zaključivati kako se radi o parametru koji bi mogao ukazivati na buduću mikroalbuminuriju. No, prethodni podatak o višim vrijednostima DAT-a u grupi s mikroalbuminurijom ipak daje dodatnu težinu ovom našem zapažanju ukazujući na određeni trend promjena AT koji će svakako biti potrebno testirati u budućim istraživanjima.

U analizi varijabilnosti AT između skupine normoalbuminurije i mikroalbuminurije nije utvrđena statistički značajna razlika niti za jedan promatrani parametar, usprkos značajnoj razlici u DAT-u prema KMAT-u. Ovaj podatak, iako na prvi pogled može biti zbunjujući, moguće je jednostavno objasniti činjenicom da varijabilnost AT ne opisuje apsolutne vrijednosti AT, već samo varijacije tlaka unutar određenog raspona vrijednosti i kao takav predstavlja jednu od kategorija kardiovaskularnog rizika neovisno o apsolutnim vrijednostima AT.

Arterijski tlak i ŠB povezani su ne samo patofiziološki, već je ta povezanost dokazana i klinički u brojnim istraživanjima. Iz do sada navedenog očito je da KMAT-a ima svoju ulogu u ranom otkrivanju bolesnika koji su pod povećanim rizikom za razvoj DN. Kao prvi znak odstupanja u AT već u normoalbuminuričnih ispitanika uočili smo varijabilnost noćnog DAT-a, a DAT je u svim promatranim periodima bio viši kod djece s mikroalbuminurijom potvrđujući pretpostavku o ranim promjenama AT koje progrediraju paralelno s intenziviranjem albuminurije.

Dosadašnja istraživanja podržavaju tezu kako težina i razvoj kronične bubrežne bolesti u ŠB ne ovisi samo o stupnju glomerularnih lezija manifestiranih kao albuminurija, već i o promjenama tubulointercistija. Postavljena je teza o „tubularnoj fazi“ oštećenja koja u razvoju DN moguće prethodi oštećenju glomerula (123). Od potencijalnih biljega tubularnog oštećenja lipokalin povezan s neutrofilnom želatinazom (engl. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL) pojavio se u kliničkoj i eksperimentalnoj nefrologiji kao jedan od osjetljivih ranih biljega bubrežnog oštećenja i to ne samo akutnog, već i kroničnog (133,134).

Do sada je u više istraživanja potvrđeno kako je povišen uNGAL prisutan već kod normoalbuminuričnih dijabetičara kao preteča razvoja mikroalbuminurije u ŠB tipa 1 i 2 čak i uz kraće trajanje bolesti (139, 149 - 151). Prema istim istraživanjima njegova koncentracija u urinu dobro korelira s vrijednostima ACR.

Dosadašnja istraživanja uloge uNGAL-a u pedijatrijskih bolesnika sa ŠB mogu se svrstati u dvije skupine: prvu u kojoj je jasno dokazana uloga uNGAL-a kao biljega razvoja DN već u normoalbuminuričnih bolesnika te drugu u kojoj ta poveznica nije sa sigurnošću dokazana.

Zachwieja i sur. analizirali su serumski i urinarni NGAL u 22 normoalbuminurične djece s prosječnim trajanjem ŠB od 6 godina. U odnosu na 14 zdravih kontrolnih ispitanika djeca sa ŠB imala su statistički značajno više vrijednosti serumskog i urinarnog NGAL-a i oba parametra pozitivno su korelirala s ACR unutar raspona normoalbuminurije (187). Ono što iznenađuje jest da su apsolutne vrijednosti uNGAL-a u obje skupine ispitanika bitno premašivale gornju granicu normale koja je definirana kasnije u radu Bennetta i sur. uz napomenu da je u obje studije, onoj Zachwieja i sur. kao i u radu Bennetta i sur, korištena ista analitička metoda (ELISA) (157). Vrijednosti koje su dobili Zachwieja i sur. više su od naših vrijednosti, ali važno je napomenuti da smo mi koristili drugu metodu za određivanje uNGAL-a. Stoga možemo pretpostaviti da su te razlike posljedica korištenja različitih analitičkih metoda.

Demir i sur. istraživali su vrijednosti serumskog i urinarnog NGAL-a u normoalbuminuričnih normotenzivnih adolescenata sa ŠB tip 1 i njihov odnos prema kliničkim i laboratorijskim varijablama (188). Radilo se, također o manjoj skupini od 46 ispitanika s relativno kratkim trajanjem bolesti čiji su nalazi uspoređivani s nalazima 21 zdravog djeteta. Kao i u prethodno opisanom istraživanju i ovi autori ustanovili su pozitivnu korelaciju uNGAL-a i ACR. Što se tiče vrijednosti serumskog i urinarnog NGAL one se između skupina nisu razlikovale, no razlika je ipak bila statistički značajna kad je uNGAL stavljen u odnos prema kreatininu.

U istraživanju Yildirima i sur. koje je uključivalo 76 djece sa ŠB tip 1 uNGAL i uNGAL/kreatinin bili su značajno viši u djece sa ŠB u usporedbi s kontrolnom skupinom, ali bez statistički značajne razlike u

uNGAL-a između dijabetičara s i bez mikroalbuminurije (189). Temeljem rezultata ROC analize autori predlažu vrijednost uNGAL od 36,3 ng/mL kao optimalnu gornju granicu za predikciju bubrežnog oštećenja. U nastojanju da definiraju kad započinje bubrežno oštećenje u ŠB analizirali su uNGAL u odnosu na duljinu trajanja bolesti (0-2, 2-5 i >5 godina), no iako nisu ustanovili statistički značajnu razliku uočili su kako djeca sa ŠB 2-5 i >5 godina imaju viši uNGAL u odnosu na one s kraćim trajanjem bolesti. Ovi podaci u skladu su i s rezultatima kod odraslih sa ŠB tip 1 kod kojih je dokazan porast uNGAL-a od 15% godišnje (153).

Za razliku od navedenih rezultata mi nismo dokazali statistički značajnu razliku u vrijednostima uNGAL-a između djece sa ŠB i kontrolne skupine. Vrijednost uNGAL/kreatinin bila je viša u djece sa ŠB, no razlika nije dosegla statističku značajnost. Prosječne vrijednosti uNGAL-a bile su slične onima u radu Demira i sur, iako u našem istraživanju korekcija po kreatininu nije promijenila inicijalni nalaz. Također treba istaknuti kako su vrijednosti uNGAL-a u studiji Demira i sur. i kod djece sa ŠB i kod kontrolne skupine bile unutar granica normale (15,2 ng/mL, odnosno 14,3 ng/mL pri čemu je 95.centila uNGAL-a prema radu Bennetta definirana kao 66,8 ng/mL).

Dosadašnja istraživanja uglavnom su pokazala kako bubrežna funkcija i prognoza bolje koreliraju s tubulointersticijskim nego glomerularnim promjenama što mi u našem istraživanju nismo potvrdili s obzirom da nije nađena razlika u vrijednostima eGFR između djece s normalnim i povišenim uNGAL-om, kao niti razlika u eGFR između različitih kategorija albuminurije. Razlog tome vjerojatno je relativno kratko trajanje bolesti, solidna glikemijska kontrola naših ispitanika, zadovoljavajuća regulacija AT, ali i mali broj ispitanika s mikroalbuminurijom i povišenim uNGAL-om.

Što se tiče odnosa uNGAL-a i albuminurije nismo, za razliku od ranije spomenutih autora, dokazali razliku u vrijednostima uNGAL-a između skupina s nisko i visoko normalnom albuminurijom, a razlike nije bilo niti usporedbom skupina s normoalbuminurijom i mikroalbuminurijom. Međutim, u univarijantnoj kao i multiploj logističkoj regresiji uNGAL/kreatinin istaknuo se kao varijabla povezana s visoko normalnom albuminurijom ukazujući ipak na povezanost promjena tubularnih i glomerularnih lezija u razvoju DN.

Usporedba ovih rezultata zahtijeva dodatni komentar. Ono što naše rezultate razlikuje od drugih jest da distribucija vrijednosti uNGAL nije bila normalna uz vrlo širok raspon vrijednosti u obje skupine, odnosno nekoliko vrijednosti u obje skupine bitno je odstupalo od medijana. Objašnjenje za ovu pojavu moglo bi biti u relativno velikom broju ispitanika (u odnosu na slična istraživanja) među kojim je pojedinac vjerojatno bio u početnoj, klinički i laboratorijski još neprepoznatoj bakterijskoj infekciji s obzirom na činjenicu kako se NGAL može dokazati u sklopu upalnih procesa koji uključuju primjerice epitel kože, dišnih puteva ili crijeva.

Spomenuto je i kako postoje istraživanja koja, kao i naše, nisu nedvojbeno potvrdila ulogu uNGAL-a kao ranog biljega DN koji prethodi pojavi albuminurije. Tako Hafez i sur. nisu našli razliku u uNGAL-u između normoalbuminurične djece sa ŠB i kontrola usprkos trajanju bolesti od >5 godina, iako je razlika između djece sa ŠB i kontrola bila značajna (190). Potrebno je, međutim, istaknuti kako je u ovom istraživanju od 50 djece sa ŠB njih čak 12 (24%) imalo mikroalbuminuriju, tj. jasan pokazatelj DN i pitanje je bi li se dokazala razlika između djece sa ŠB i kontrola da je udio onih s mikroalbuminurijom bio bitno manji kao što je bio u našoj ispitivanoj skupini. Slično rezultatima Hafez i sur. i rezultati jedne od studija kod odraslih sa ŠB tip 2 nisu ustanovili razliku u uNGAL-u između dijabetičara s normoalbuminurijom i kontrola, kao niti između bolesnika s normo- i mikroalbuminurijom, iako je razlika između bolesnika sa ŠB kao skupine i kontrola bila statistički značajna (191). Svakako je potrebno spomenuti i studiju Sueuda i sur. u kojoj se zaključuje kako je ACR precizniji individualni biljeg DN u usporedbi s uNGAL-om zbog znatno boljeg odnosa senzitivnosti i specifičnosti za ACR u odnosu na uNGAL (senzitivnost 94,67% i specifičnost 26,6% uNGAL-a vs. senzitivnost 80% i specifičnost 100% za ACR) (156). Naime, uočen je izrazito visok udio lažno negativnih nalaza uNGAL među bolesnicima s DN.

Pretragom literature nađene su samo dvije razmjerno recentne studije u kojima je uNGAL uspoređivan s parametrima KMAT-a (188, 192). U obje studije, kao i u našem istraživanju, nije nađena povezanost uNGAL-a sa standardnim parametrima KMAT-a. Novost u našem istraživanju je analiza odnosa varijabilnosti AT i uNGAL-a koja je pokazala višu vrijednost varijabilnosti dnevnog SAT-a kod bolesnika s povišenim uNGAL-a u odnosu na one kod kojih vrijednost uNGAL-a nije prelazila 95. centilu za dob. Ipak, interpretaciji ovog nalaza treba pristupiti kritički s obzirom na vrlo mali broj ispitanika kod kojih je ustanovljen povišen uNGAL te s obzirom na nepostojanje standardiziranih kitova, a time i opće prihvaćenih referentnih vrijednosti za uNGAL.

Istražujući povezanost uNGAL-a s drugim čimbenicima karakterističnim za ŠB nismo ustanovili korelaciju uNGAL-a s ITM ili trajanjem bolesti iako je u istraživanjima u odraslih bolesnika sa ŠB tip 2 dokazana povezanost uNGAL-a s dužinom trajanja bolesti i razinom glikemijske kontrole bolesti (148, 151). U sličnom istraživanju provedenom u djece sa ŠB tip 1 također nije nađena povezanost uNGAL-a s trajanjem bolesti i ITM što bi se moglo objasniti relativno malim uzorkom od 60-ak ispitanika i kratkim trajanjem bolesti u odnosu na istraživanja u odraslih (192). Niti ostali analizirani čimbenici karakteristični za ŠB kao što su pridružene autoimune bolesti, lipidogram, razina metaboličke kontrole bolesti izražena kao HbA1c, kao niti vrijednost ordinacijskog AT nisu utjecali na vrijednost uNGAL-a u našem istraživanju. Izostanak korelacije vrijednosti uNGAL-a s razinom metaboličke kontrole bolesti, lipidogramom i eGFR potvrdili su i drugi autori, dok se sličnih podataka za

pridružene autoimune bolesti i vrijednost ordinacijskoga tlaka pretragom dostupne literature ne nalazi (187, 188, 192).

Iako nije bilo statistički značajne razlike u vrijednostima uNGAL-a ovisno o koncentraciji HbA1c, u multiploj linearnoj regresijskoj analizi loša metabolička kontrola bolesti pokazala se kao nezavisni prediktor za vrijednost uNGAL/kreatinin.

Uloga uNGAL-a kao tubularnog biljega DN zahtijeva dodatni završni osvrt. Naime, iako je u više radova potvrđena njegova korelacija s razinom albuminurije i dokazane više vrijednosti kod bolesnika sa ŠB u odnosu na zdravu populaciju, podaci o tome kako su u nekim istraživanjima pojedini ispitanici s mikroalbuminurijom, kao i u našem istraživanju, imali uredan uNGAL navodi na zaključak kako su mikroalbuminurija i uNGAL biljezi različitih sijela bubrežnog oštećenja u sklopu DN promjene kojih se ne moraju nužno odvijati istim intenzitetom (193). Isto tako moguće je da ŠB u određenih ispitanika prvo dovodi do promjena glomerula, a u drugih promjene počinju u tubulima.

Naše istraživanje vezano je uz nekoliko nedostataka. U prvom redu radi se o presječnom istraživanju bez mogućnosti procjene vremenskoga slijeda pojedinih događaja. Širok dobni raspon, različite razine metaboličke kontrole bolesti kao i širok raspon trajanja bolesti također su potencijalni nedostaci studije. S obzirom da u skupini djece bez ŠB nije rađen KMAT, ne možemo sa sigurnošću tvrditi da nitko među njima nije imao maskiranu hipertenziju. Nedostaci istraživanja također su i mali broj ispitanika s povišenim uNGAL-om, kao i mali broj djece s mikroalbuminurijom. Djeca sa ŠB bila su starija u odnosu na kontrolnu skupinu djece bez ŠB.

Prednost našeg istraživanja je definiranje kategorije albuminurije temeljem tri uzorka urina kao i analiza nalaza KMAT-a korištenjem LMS metode koja omogućava prilagodbu podataka iz KMAT-a prema spolu i dobi, odnosno spolu i TV dopuštajući usporedbu vrijednosti arterijskoga tlaka između djece različite dobi, spola i TV.

Zaključno se može reći da rezultati našeg istraživanja nisu potvrdili hipotezu o oštećenju tubula kao najranijem znaku DN u djece sa ŠB tip 1. Dokazali smo kako su manja odstupanja u AT, prvenstveno promjene varijabilnosti AT, prisutne i prije pojave mikroalbuminurije podržavajući tezu kako se promjene AT i progresija albuminurije odvijaju paralelno. Potvrdu ovakvom razmišljanju daju i naši podaci o promjenama dijastoličkoga AT koje su jasno etablirane s pojavom mikroalbuminurije. Također, povećana varijabilnost AT i loša metabolička kontrola bolesti potvrđene su kao prediktori i glomerularnog i tubularnog oštećenja.

Mali broj bolesnika s mikroalbuminurijom, dominantan broj djece s nisko normalnom albuminurijom, generalno zadovoljavajući profil AT, solidna metabolička kontrola i relativno kratko trajanje bolesti mogući su razlozi izostanka sigurne potvrde tubularne lezije kod naših ispitanika.

Iako podjela nefrona u svrhu znanstvene analize i traganje za biljezima oštećenja neke od njegovih sastavnica može biti opravdana, vjerojatno je ipak interakcija glomerula, tubula i intersticija uz danu razinu glikemije i AT ključ razumijevanja kompleksnog poremećaja kao što je DN. Stoga je vjerojatno važnije od vremenskoga slijeda ustanoviti ima li bolesnik odstupanja u KMAT-u, kakav mu je ACR i kolika je vrijednost biljega tubularnog oštećenja, jer svaki od tih parametara mogu, prema današnjim spoznajama, ukazivati na razvoj DN.

## 7. ZAKLJUČAK

Našim istraživanjem nije potvrđena hipoteza o oštećenju tubula kao ranom znaku DN u djece sa ŠB tip 1 niti je potvrđena povezanost parametara KMAT-a s biljegom tubularnoga oštećenja NGAL-om.

Glavni cilj istraživanja bio je odrediti obilježja AT u djece i adolescenata sa ŠB tip 1 izmjenjenog pomoću uređaja za 24-satno mjerenje AT. Rezultati istraživanja pokazali su kako je AT u djece sa ŠB tip 1 na razini čitave skupine zadovoljavajuće reguliran prema kriterijima ordinacijskoga AT i klasifikaciji hipertenzije prema KMAT-u, tj. udjelu normotenzije, hipertenzije bijele kute, maskirane hipertenzije, predhipertenzije i trajne hipertenzije. Usporedbom vrijednosti AT naših ispitanika sa ŠB tip 1 s referentnim vrijednostima zdrave populacije utvrdili smo da naši bolesnici imaju više vrijednosti dnevnog SAT-a te noćnog SAT-a i DAT-a u odnosu na zdravu djecu. Kod djece sa ŠB tip 1 registriran je i visok udio izostanka noćnog pada AT (74,1%) uz uredne vrijednosti jutarnjega skoka AT. Varijabilnost AT kod naših ispitanika nije premašivala vrijednosti iznad kojih raste kardiovaskularni rizik definiran prema referentim podacima za odraslu populaciju.

Drugi glavni cilj istraživanja bio je utvrditi imaju li djeca i adolescenti sa ŠB tip 1 povišene vrijednosti biljega tubularnoga oštećenja u urinu (uNGAL) u usporedbi s kontrolnom skupinom zdravih ispitanika. U našem istraživanju nismo dokazali statistički značajnu razliku u vrijednostima uNGAL-a između ispitanika sa ŠB tip 1 i kontrolne skupine. Vrijednosti uNGAL/kreatinin bile su više u djece sa ŠB, no razlika nije dosegla statističku značajnost.

Kao prvi specifični cilj istraživanja postavili smo definiranje odnosa između promjena vrijednosti AT i drugih parametara KMAT-a te biljega tubularnog oštećenja i albuminurije. Analizom naših rezultata nije nađena povezanost tubularnog biljega uNGAL-a sa standardnim parametrima KMAT-a, no bolesnici s povišenim uNGAL-om imali su veću varijabilnost dnevnog SAT-a u odnosu na one kod kojih vrijednost uNGAL-a nije prelazila gornju granicu normale za dob. Jedina razlika u parametrima KMAT-a između ispitanika s nisko i visoko normalnom albuminurijom bila je varijabilnost noćnog DAT-a. Statistički značajni prediktori mikroalbuminurije bili su 24 - satni , dnevni i noćni DAT, jutarnji skok AT i metabolička kontrola bolesti.

Drugi specifični cilj bio je odrediti povezanost biljega tubularnog oštećenja i albuminurije te analizirati čimbenike koji utječu na oba biljega. Razlika u vrijednostima uNGAL-a nije dokazana niti između ispitanika s nisko i visoko normalnom albuminurijom, kao niti između skupine s normoalbuminurijom i mikroalbuminurijom, iako je uNGAL/kreatinin pokazao slabu povezanost s visoko normalnom albuminurijom. Analizom čimbenika koji utječu na tubularni biljeg uNGAL i na albuminuriju ustanovili

smo da su mlađa dob i loša metabolička kontrola bolesti prediktori visoko normalne albuminurije, dok je loša metabolička kontrola bolesti bila nezavisni prediktor vrijednosti uNGAL/kreatinina.

Čimbenici karakteristični za ŠB (pridružene autoimune bolesti, lipidogram, HbA1c, ordinacijski AT, ITM i trajanje bolesti) nisu utjecali na vrijednost uNGAL-a. Također, spol, dob, ITM, trajanje bolesti, stupanj pubertetskog razvoja, pridružene autoimune bolesti, lipidogram i ordinacijski AT nisu utjecali na vrijednost albuminurije.

Varijabilnost AT i loša metabolička kontrola bolesti izdvojili su se kao zajednički čimbenici koji su imali utjecaja i na razinu albuminurije i na vrijednost uNGAL-a.



## 8. SAŽETAK

**Uvod.** Dijabetička nefropatija (DN) definirana je kao mikrovaskularna komplikacija u bolesnika sa ŠB koja bitno povećava rizik kardiovaskularnog morbiditeta i mortaliteta. Iako se unazad nekoliko desetljeća kod djece dijagnosticira znatno rjeđe, važno ju je otkriti što ranije s ciljem dugoročnog očuvanja bubrežne funkcije. Osim albuminurije kao opće prihvaćenoga biljega DN, ustanovljeno je da bi i rane promjene arterijskoga tlaka (AT) te biljezi tubularnoga oštećenja također mogli biti pokazatelji razvoja DN, čak i prije pojave trajne albuminurije. Stoga su ciljevi našega istraživanja bili odrediti karakteristike kontinuiranog mjerenja arterijskoga tlaka (KMAT) u djece sa šećernom bolešću (ŠB) tipa 1 te utvrditi njihov odnos s biljegom tubularnog oštećenja *neutrophil gelatinase-associated lipocalin-a* (NGAL) i albuminurijom te ustanoviti čimbenike karakteristične za ŠB koji su povezani s albuminurijom i biljegom tubularnog oštećenja NGAL-om.

**Ispitanici i metode.** U istraživanje je uključeno 201 dijete i adolescent sa ŠB tip 1 u dobi 5 – 20 godina s trajanjem bolesti od najmanje godinu dana. Svi ispitanici bili su pacijenti endokrinološkog odjela Klinike za pedijatriju KBC Sestre milosrdnice. Određivane su serumske vrijednosti HbA1c, kreatinin i lipidogram, kao i 3 uzorka prvog jutarnjeg urina za omjer albumin/kreatinin (ACR) u razmaku od tri mjeseca. Svakom ispitaniku sa ŠB izmjeren je ordinacijski AT i učinjen je KMAT. Kontrolnu skupinu činilo je 100 somatski zdrave djece.

**Rezultati.** Dokazali smo više dnevne vrijednosti SAT-a (sistolički arterijski tlak) te noćnog SAT-a i DAT-a (dijastolički arterijski tlak) u djece sa ŠB u odnosu na zdravu populaciju uz visok udio izostanka noćnog pada AT i urednu varijabilnost AT. S obzirom na razinu albuminurije varijabilnost noćnog DAT-a, mlađa dob i loša metabolička kontrola bolesti bile su prediktori visoko normalne albuminurije, dok su statistički značajni prediktori mikroalbuminurije bili 24 - satni, dnevni i noćni DAT, jutarnji skok AT i metabolička kontrola bolesti. Nije bilo razlike u uNGAL-u između djece sa ŠB i kontrola. Također, razlika u uNGAL- u nije bilo niti između djece s normoalbuminurijom i mikroalbuminurijom, kao niti između djece s nisko normalnom i visoko normalnom albuminurijom. Iako nije nađena povezanost uNGAL-a sa standardnim parametrima KMAT-a, bolesnici s povišenim uNGAL-om imali su višu varijabilnost dnevnog SAT-a. Varijabilnost AT i loša metabolička kontrola bolesti izdvojili su se kao zajednički čimbenici koji su imali utjecaja i na ACR i na uNGAL.

**Zaključak.** Analizom dobivenih podataka nije potvrđena hipoteza o oštećenju tubula kao najranijem znaku DN u djece sa ŠB tip 1, niti je potvrđena povezanost parametara KMAT-a s biljegom tubularnog oštećenja uNGAL-om. Međutim, dokazali smo kako su manja odstupanja u AT, prvenstveno promjene

varijabilnosti AT, prisutne i bez mikroalbuminurije. Povećana varijabilnost AT i loša metabolička kontrola bolesti prediktori su glomerularnog i tubularnog oštećenja.

Ključne riječi: kontinuirano mjerenje arterijskoga tlaka, dijabetička nefropatija, NGAL, djeca

## 9. SUMMARY

**Introduction.** Diabetic nephropathy (DN) is one of the microvascular complications in diabetic patients which significantly increases the risk of cardiovascular morbidity and mortality. Although recent reports demonstrate a lower frequency of DN in children for several decades, the early recognition remains important in order to preserve renal function. Microalbuminuria has been established as a standard marker of kidney disease in diabetes, but early changes in blood pressure as well as signs of tubular damage could be present even before development of sustained microalbuminuria. The aims of our study were to analyse the characteristics of ambulatory blood pressure monitoring (ABPM) in children with type 1 diabetes and to determine the relationship between ABPM, urinary *neutrophil gelatinase-associated lipocalin* (uNGAL) as a marker of tubular damage and albuminuria. Our aim was also to establish the diabetic indices related to albuminuria and tubular marker NGAL.

**Patients and methods.** The study group consisted of 201 children and adolescents aged 5 to 20 years with diabetes duration of at least one year. All patients were regularly followed at Department of Pediatrics, Sestre milosrdnice University Hospital Center in Zagreb. Serum concentrations of HbA1c, creatinine and lipids were determined along with 3 consecutive samples of first morning urine for albumin/creatinine ratio (ACR) over a 6 – month period. In all children with diabetes an office blood pressure was measured and ABPM performed. The control group consisted of 100 healthy children.

**Results:** Diabetic children had elevated daytime systolic and nighttime systolic and diastolic blood pressure compared to reference values of the healthy population along with high percentage of non-dippers but normal blood pressure variability. Nighttime diastolic blood pressure variability, younger age and poor glycaemic control were found as predictors of high – normal albuminuria. The predictors of microalbuminuria were 24 – hour, daytime and nighttime diastolic blood pressure, morning blood pressure surge and glycaemic control. No difference in uNGAL between diabetic and control group was observed. Also, there was no difference in uNGAL between the normoalbuminuric and microalbuminuric children as well as between those with low normal and high normal albuminuria. Although there was no correlation of uNGAL with standard parameters of ABPM, the subjects with elevated uNGAL had higher daytime blood pressure variability. Blood pressure variability and poor glycaemic control were common predictors of both ACR and uNGAL.

**Conclusion:** The results of our research didn't confirm neither the hypothesis on tubular damage as the earliest sign of DN in children with type 1 diabetes nor the correlation between ABPM variables and tubular damage marker NGAL. However, we have demonstrated that minor elevations in blood

pressure, particularly in blood pressure variability, are already present without established microalbuminuria. Furthermore, an elevated blood pressure variability and poor glycaemic control were found as the predictors of both glomerular and tubular damage.

Key words: ambulatory blood pressure monitoring, diabetic nephropathy, NGAL, children

Ambulatory blood pressure monitoring and biomarkers of renal damage in early detection of diabetic nephropathy in children. Bernardica Valent Morić, 2020.

## 10. LITERATURA

1. Sperling MA, Tamborlane WV, Battelino T, Weinzimer SA, Phillip M. Diabetes mellitus. U: Sperling MA, ur. *Pediatric Endocrinology*. Philadelphia: Elsevier Saunders;2014, str. 849-93.
2. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. Sec. 2. U *Standards of Medical Care in Diabetes 2017*. *Diabetes Care* 2017;40Suppl 1:11–24.
3. World Health Organisation. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycaemia: Report of a WHO/IDF Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organisation, 2006.
4. Couper JJ, Haller MJ, Ziegler AG, Knip M, Ludvigsson J, Craig ME; International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Phases of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 2014;15Suppl 20:18-25.
5. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014;15Suppl 20:4-17.
6. International Diabetes F. *IDF Diabetes Atlas*. 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes F, 2013.
7. Haarjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop PH. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA* 2013;310:427-28.
8. Berhan Y, Waernbaum I, Lind T, Mollsten A, Dahlquist G, Swedish Childhood Diabetes Study Group. Thirty years of prospective nationwide incidence of childhood type 1 diabetes: the accelerating increase by time trends to level off in Sweden. *Diabetes* 2011;60:577-81.
9. Skrivarhaug T, Stene LC, Drivvoll AK, Strom H, Joner G, Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Incidence of type 1 diabetes in Norway among children aged 0-14 years between 1989 and 2012: has the incidence stopped rising? Results from the Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia* 2014;57:57-62.
10. Newhook, LA, Penney S, Fiander J, Dowden J. Recent incidence of type 1 diabetes mellitus in children 0-14 years in Newfoundland and Labrador, Canada climbs to over 45/100,000: a retrospective time trend study. *BMC Res Notes* 2012;5:628.
11. Stipančić G, La Grasta Sabolić L, Malenica M, Radica A, Škrabic V, Tiljak MK. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes in Croatia from 1995 to 2003. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80(1):122-27.
12. Rojnić Putarek N, Ille J, Špehar Uroić A i sur. Incidence of type 1 diabetes mellitus in 0 to 14-year-old children in Croatia--2004 to 2012 study. *Pediatr Diabetes*. 2015;16:448-53.
13. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. *Lancet* 2014;383(9911):69-82.

14. Knip M, Veijola R, Virtanen SM. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54:125-36.
15. La Marca V, Giancchetti E, Fierabracci A. Type 1 Diabetes and Its Multi-Factorial Pathogenesis: The Putative Role of NK Cells. *Int J Mol Sci* 2018;19:794.
16. Ziegler AG, Rewers M, Simell O i sur. Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *JAMA* 2013;309:2473-79.
17. Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LMB, Peters AL. Type 1 diabetes through the life span: a position statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2014;37:2034-54.
18. Kirmizibekmez H, Güven A, Yıldız M, Dursun F, Cebeci N, Hancili S. Detection of vascular risk markers in children and adolescents with type 1 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2014;27:87-92.
19. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA i sur. Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014: 15Suppl 20:257-69.
20. Osterby R. Morphometric studies of the peripheral glomerular basement membrane in early juvenile diabetes. Development of initial basement membrane thickening. *Diabetologia* 1972;8:84-92.
21. De Boer IH, Sun W, Cleary PA; DCCT/EDIC Research Group. Intensive diabetes therapy and glomerular filtration rate in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2011;365:2366-76.
22. Warncke K, Frohlich-Reiterer EE, Thon A, Hofer SE, Wiemann D, Holl RW. Polyendocrinopathy in children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: a multicenter analysis of 28,671 patients from the German/Austrian DPV-Wiss database. *Diabetes Care* 2010; 33: 2010–12.
23. Kordonouri O, Klingensmith G, Knip M i sur. Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014: 15Suppl 20:270–78.
24. Shun CB, Donaghue KC, Phelan H, Twigg SM, Craig ME. Thyroid autoimmunity in type 1 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Diabet Med* 2014;31:126–35.
25. Kiess W, Gorski T, Penke M, Klamt S, Kapellen TM. Diabetes mellitus in children and adolescence – a global epidemic which has become neglected. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015;28:247-50.
26. Groop PH, Thomas MC, Moran JL, FinnDiane Study Group. The presence and severity of chronic kidney disease predicts all-cause mortality in type 1 diabetes. *Diabetes* 2009;58:1651-58.
27. Kramer A, Pippias M, Noordzij M, Stel VS, Afentakis N, Ambuhl PM. The European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) Registry Annual Report 2015: a summary. *Clin Kidney J* 2018; 11:108–22.

28. Rossing P, Persson F, Frimodt-Moller M. Prognosis and treatment of diabetic nephropathy: Recent advances and perspectives. *Nephrol Ther* 2018; 14Suppl 1:31-7.
29. Umanath K, Lewis JB. Update on Diabetic Nephropathy: Core Curriculum 2018. *Am J Kidney Dis* 2018;71:884-95.
30. Kussman MJ, Goldstein H, Gleason RE. The clinical course of diabetic nephropathy. *JAMA* 1976;236:1861-63.
31. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Mauer M. Sequential renal biopsies in insulin-dependent diabetic patients: structural factors associated with clinical progression. *Kidney Int* 1995;48:1929-35.
32. Mogensen CE, Christensen CK, Vittinghus E. The stages in diabetes renal disease with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 1983;32:64-78.
33. Haneda M, Utsunomiya K, Koya D, Babazono T, Moriya T, Joint Committee on Diabetic Nephropathy. A new Classification of Diabetic Nephropathy 2014: a report from Joint Committee on Diabetic Nephropathy. *J Diabetes Investig* 2015;6:242–46.
34. Diabetes Control and Complication Trial Research group. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Control and Complications Trial Research Group. J Pediatr* 1994;125:177-88.
35. Rewers MJ, Pillay K, de Beaufort C i sur. Assessment and monitoring of glycemic control in children and adolescents with diabetes. *Pediatric Diabetes* 2014: 15Suppl 20: 102-14.
36. American Diabetes Association. Children and adolescents. Sec.12. U Standards of Medical care in Diabetes-2017. *Diabetes Care* 2017;40Suppl:105-13.
37. DiMeglio LA, Acerini CL, Codner E 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;19Suppl 27:105-14.
38. Holl RW, Grabert M, Thon A, Heinze E. Urinary excretion of albumin in adolescents with type 1 diabetes: persistent versus intermittent microalbuminuria and relationship to duration of diabetes, sex, and metabolic control. *Diabetes Care* 1999; 22:1555–60.
39. Daniels M, DuBose SN, Maahs DM 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; 36:2639–45.
40. Olsen BS, Sjolie A, Hougaard P i sur. A 6-year nationwide cohort study of glycaemic control in young people with type 1 diabetes. Risk markers for the development of retinopathy,

- nephropathy and neuropathy. Danish Study Group of Diabetes in Childhood. *J Diabetes Complications* 2000;14:295–300.
41. Jenkins AJ, Lyons TJ, Zheng D, Otvos JD, Lackland DT, McGee D, DCCT/EDIC Research Group. Lipoproteins in the DCCT/EDIC cohort: associations with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2003;64:817–28.
  42. 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; 29:2072–7.
  43. Rossing P, Hougaard P, Parving HH. Risk factors for development of incipient and overt diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients: a 10-year prospective observational study. *Diabetes Care* 2002;25:859–64.
  44. Kostraba JN, Dorman JS, Orchard TJ i sur. Contribution of diabetes duration before puberty to development of microvascular complications in IDDM subjects. *Diabetes Care* 1989;12:686-93.
  45. Schultz CJ, Konopelska-Bahu T, Dalton RN i sur. Microalbuminuria prevalence varies with age, sex, and puberty in children with type 1 diabetes followed from diagnosis in a longitudinal study. Oxford Regional Prospective Study Group. *Diabetes Care* 1999; 22:495–502.
  46. Cho YH, Craig ME, Donaghue KC. Puberty as an accelerator for diabetes complications. *Pediatr Diabetes* 2014;15:18-26.
  47. Barkai L, Vamosi I, Lukacs K. Enhanced progression of urinary albumin excretion in IDDM during puberty. *Diabetes Care* 1998;21:1019-23.
  48. Harvey JN, Allagoa B. The long-term renal and retinal outcome of childhood-onset type 1 diabetes. *Diabet Med* 2004;21:26-31.
  49. Drummond KN, Kramer MS, Suissa S i sur. International Diabetic Nephropathy Study Group. Effects of duration and age at onset of type 1 diabetes on preclinical manifestations of nephropathy. *Diabetes* 2003;52:1818–24.
  50. Hovind P, Tarnow L, Rossing P i sur. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ* 2004; 328:1105-9.
  51. Microalbuminuria Collaborative Study Group. Predictors of the development of microalbuminuria in patients with type I diabetes mellitus: a seven-year prospective study. *Diabet Med* 1999;16:918-25.
  52. Barzilay J, Warram JH, Laffel LM, Canessa M, Krolewski AS. Predisposition to hypertension: risk factor for nephropathy and hypertension in IDDM. *Kidney Int* 1992; 41:723-30.



53. Mortensen HB, Marinelli K, Norgaard K i sur. A nation-wide cross-sectional study of urinary albumin excretion rate, arterial blood pressure and blood glucose control in Danish children with type 1 diabetes mellitus. Danish Study Group on Diabetes in Childhood. *Diabet Med* 1990;7:887-97.
54. Marcovecchio ML, Dalton RN, Schwarze i sur. Ambulatory blood pressure measurement are related to albumin excretion and are predictive for risk of microalbuminuria in young people with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2009;52:1173-81.
55. Gallego PH, Gilbey AJ, Grant MT i sur. Early changes in 24-hour ambulatory blood pressure are associated with high normal albumin excretion rate in children with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2005;18:879-85.
56. 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* 2017;Suppl 7:1–59.
57. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA i sur. Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014;15Suppl 20: 257-69.
58. American Diabetes Association. Microvascular complications and foot care. Sec.10. U: Standards of Medical Care in Diabetes-2017. *Diabetes Care* 2017;40Suppl 1:88-98.
59. Amin R, Widmer B, Prevost AT i sur. Risk of microalbuminuria and progression to macroalbuminuria in a cohort with childhood onset type 1 diabetes: prospective observational study. *BMJ* 2008;336:697-701.
60. Ritz E, Schmieder RE, Pollock CA. Renal protection in diabetes: lessons from ONTARGET. *Cardiovasc Diabetol* 2010;9:60.
61. Colhoun HM, Marcovecchio ML. Biomarkers of diabetic kidney disease. *Diabetologia* 2018;61:996-1011.
62. Macisaac RJ, Jerums G. Diabetic kidney disease with and without albuminuria. *Curr Opin Nephrol Hypertension* 2011;20:246-57.
63. Krolewski AS. Progressive renal decline: the new paradigm of diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2015;38:954-62.
64. Perkins BA, Ficociello LH, Silva KH, Finkelstein DM, Warram JH, Krolewski AS. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348:2285-93.
65. Salardi S, Balsamo C, Zucchini S i sur. High rate of regression from microalbuminuria to normoalbuminuria in children and adolescents with type 1 diabetes treated or not with enalapril: the influence of HDL cholesterol. *Diabetes Care* 2011;34:424-9.

66. Afkarian M. Diabetic kidney disease in children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 2015;30:65-74.
67. Molitch ME, Steffes M, Sun W, Rutledge B, Cleary P, de Boer IH; Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Study Group. Development and progression of renal insufficiency with and without albuminuria in adults with type 1 diabetes in the diabetes control and complication trial and the epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care* 2010; 33:1536-43.
68. Robles NR, Villa J, Gallego RH. Non-proteinuric Diabetic Nephropathy. *J Clin Med* 2015;4:1761-73.
69. Krolewski AS, Niewczas MA, Skupien J i sur. Early progressive renal decline precedes the onset of microalbuminuria and its progression to macroalbuminuria. *Diabetes Care* 2014; 37:226–34.
70. Perkins BA, Ficociello LH, Ostrander BE i sur. Microalbuminuria and the risk for early progressive renal function decline in type 1 diabetes. *JASN* 2007; 18:1353–61.
71. Jerums g, Panagiotopoulos S, Premaratne E, MacIsaac RJ. Integrating albuminuria and GFR in the assesment of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2009;5:397-406.
72. Schultz CJ, Neil HA, Dalton RN, Dunger DB; Oxford Regional Prospective Study Group. Risk of nephropathy can be detected before the onset of microalbuminuria during the early years after diagnosis of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:1811–5.
73. Steinke JM, Sinaikko AR, Kramer MS, Suissa S, Chavers BM, Mauer M; International Diabetic Nephropathy Study Group. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54:2164–71.
74. 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. *Diabetes Care* 2006; 29:2072–7.
75. Dahlquist G, Stattin EL, Rudberg S. Urinary albumin excretion rate in the prediction of diabetic nephropathy; a longterm follow-up study of childhood onset type-1 diabetic patients. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:1382–6.
76. Berg UB, Torbjørnsdotter TB, Jaremko G, Thalme B. Kidney morphological changes in relation to long-term renal function and metabolic control in adolescents with IDDM. *Diabetologia* 1998; 41:1047–56.
77. Hovind P, Tarnow L, Rossing P i sur. Predictors for the development of microalbuminuria and macroalbuminuria in patients with type 1 diabetes: inception cohort study. *BMJ* 2004; 328:1105–9.

78. Royal College of Physicians of Edinburgh Diabetes Register Group. Near-normal urinary albumin concentrations predict progression to diabetic nephropathy in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2002;17:782–91.
79. Dunger DB, Schwarze CP, Cooper JD i sur. Can we identify adolescents at high risk for nephropathy before the development of microalbuminuria? *Diabet Med* 2007;24:131-6.
80. Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD i sur. Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia* 2003;46:760-5.
81. Sowers JR. Diabetes mellitus and vascular disease. *Hypertension* 2013; 61:943-7.
82. Hu G, Jousilahti P, Tuomilehto J. Joint effects of history of hypertension at baseline and Type 2 diabetes at baseline and during follow-up on the risk of coronary heart disease. *Eur Heart J* 2007;28:3059–66.
83. Sarwar N, Gao P, Seshasai SR i sur. Emerging Risk Factors Collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet* 2010;375:2215–22.
84. Fox CS. Cardiovascular disease risk factors, type 2 diabetes mellitus, and the Framingham Heart Study. *Trends Cardiovasc Med* 2010;20:90–5.
85. Chen G, McAlister FA, Walker RL i sur. Cardiovascular outcomes in Framingham participants with diabetes: the importance of blood pressure. *Hypertension* 2011;57:891–7.
86. Downie ML, Ulrich EH, Noone DG. An Update on Hypertension in Children with Type 1 Diabetes. *Can J Diabetes* 2018; 42:199-204.
87. Rodriguez BL, Dabelea D, Liese AD, Fujimoto W, Waitzfelder B, Liu L, SEARCH Study Group. Prevalence and correlates of elevated blood pressure in youth with diabetes mellitus: the SEARCH for diabetes in youth study. *J Pediatr* 2010;157:245-51.
88. Margeirsdottir HD, Larsen JR, Brunborg C. High prevalence of cardiovascular risk factors in children and adolescents with type 1 diabetes: a population-based study. *Diabetologia* 2008 ;51:554-61.
89. Schwab KO, Doerfer J, Hecker W. Spectrum and prevalence of atherogenic risk factors in 27,358 children, adolescents, and young adults with type 1 diabetes: cross-sectional data from the German diabetes documentation and quality management system (DPV). *Diabetes Care* 2006;29:218-25.
90. Steigleder-Schweiger C, Rami-Merhar B, Waldhor T. Prevalence of cardiovascular risk factors in children and adolescents with type 1 diabetes in Austria. *Eur J Pediatr* 2012;171:1193-202.

91. Lurbe E, Agabiti-Rosei E, Kennedy Cruickshank J i sur. 2016 European Society of Hypertension guidelines for the management of high blood pressure in children and adolescents. *J Hypertens* 2016;34:1887-920.
92. Flynn JT, Kaelber DC, Baker-Smith CM, Blowey D, Carroll AE, Daniels SR. Clinical Practice Guideline for Screening and Management of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatrics* 2017;140(3):e20171904
93. Roberts AC, Porter KE. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction in diabetes. *Diabetes & vascular disease research: official journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease*. 2013;10:472-82.
94. Deckert T, Feldt-Rasmussen B, Borch-Johnsen K, Jensen T, Kofoed-Enevoldsen A. Albuminuria reflects widespread vascular damage. The Steno hypothesis. *Diabetologia* 1989 ;32:219-26.
95. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care* 2003;26:1589-96.
96. de Boer IH, Kestenbaum B, Rue TC i sur. Insulin therapy, hyperglycemia, and hypertension in type 1 diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 2008;168:1867-73.
97. Son SM. Reactive oxygen and nitrogen species in pathogenesis of vascular complications of diabetes. *Diabetes Metab J* 2012;36:190-8.
98. Bagi Z, Feher A, Cassuto J i sur. Increased availability of angiotensin AT 1 receptors leads to sustained arterial constriction to angiotensin II in diabetes - role for Rho-kinase activation. *Br J Pharmacol* 2011 ;163:1059-68.
99. Gordin D, Forsblom C, Ronnback M. Acute hyperglycaemia induces an inflammatory response in young patients with type 1 diabetes. *Ann Med* 2008;40:627-33.
100. Rosa JS, Flores RL, Oliver SR, Pontello AM, Zaldivar FP, Galassetti PR. Sustained IL-1alpha, IL-4, and IL-6 elevations following correction of hyperglycemia in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2008;9:9-16.
101. Sulakova T, Janda J. Ambulatory blood pressure in children with diabetes 1. *Pediatr Nephrol* 2008;23:2285-6.
102. Sulakova T, Janda J, Cerna J, Janstova V, Sulakova A, Slany J. Arterial HTN in children with T1DM – frequent and not easy to diagnose. *Pediatric Diabetes* 2009;10:441-8.
103. Flynn J, Daniels SR, Hayman LL i sur. Update: Ambulatory blood pressure monitoring in children and adolescents: A scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2014;63:1116-35.

104. Stergiou GS, Alamara CV, Salgami EV, Vaindirilis IN, Dacou-Voutetekis C, Mountokalakis TD. Reproducibility of home and ambulatory blood pressure in children and adolescents. *Blood Press Monit* 2005;10:143-7.
105. O'Brien E, Parati G, Stergiou G i sur. European Society of Hypertension Working Group on Blood Pressure Monitoring. European Society of Hypertension position paper on ambulatory blood pressure monitoring. *J Hypertens* 2013;31:1731-68.
106. Flynn JT. Ambulatory blood pressure monitoring in children: imperfect yet essential. *Pediatr Nephrol* 2011;26:2089-94.
107. Perrin NE, Torbjörnsdotter TB, Jaremko GA, Berg UB. The course of diabetic glomerulopathy in patients with type I diabetes: a 6-year follow-up with serial biopsies. *Kidney Int* 2006;69:699-705.
108. Macumber I. Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Children and Adolescents: a Review of Recent Literature and New Guidelines. *Curr Hypertens Rep* 2017;19:96.
109. Ohkubo T, Hozawa A, Yamaguchi J i sur. Prognostic significance of the nocturnal decline in blood pressure in individuals with and without high 24-h blood pressure: the Ohasama study. *J Hypertens* 2002;20:2183-9.
110. Waugh JJ, Halligan AW, Shennan AH. Ambulatory monitoring and self-monitoring of blood pressure during pregnancy. *Blood Press Monit* 2000;5:3-10.
111. Fioretto P, Steffes MW, Mauer M. Glomerular structure in nonpreproteinuric IDDM patients with various levels of albuminuria. *Diabetes* 1994;43:1358-64.
112. Drummond K, Mauer M, International Diabetic Nephropathy Study Group. The early natural history of nephropathy in type 1 diabetes: II. Early renal structural changes in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002 ;51:1580-7.
113. Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, hypertension and cardiovascular disease: an update. *Hypertension* 2001;37:1053-9.
114. Hansen HP, Rossing P, Tarnow L, Neilsen FS, Jensen BR, Parving HH. Circadian rhythm of arterial pressure and albuminuria in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1996;50:579-85.
115. Voros P, Lengyel Z, Nagy V, Nemeth C, Rosivall L, Kammerer L. Diurnal blood pressure variation and albuminuria in normotensive patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:2257-60.
116. Lafferty AR, Werther GA, Clarke CF. Ambulatory blood pressure, microalbuminuria, and autonomic neuropathy in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2000;23:533-8.

117. Lurbe E, Redon J, Kesani A, Pascual JM, Tacons J, Alvarez V, Batlle D.  
Increase in nocturnal blood pressure and progression to microalbuminuria in type 1 diabetes.  
N Engl J Med 2002;347:797-805.
118. Dost A, Klinkert C, Kapellen T i sur. Arterial hypertension determined by ambulatory blood pressure profiles. Diabetes Care 2008;31:720-5.
119. Schultz CJ, Neil HA, Dalton RN, Konopelska Bahu T, Dunger DB; Oxford Regional Prospective Study Group. Blood pressure does not rise before the onset of microalbuminuria in children followed from diagnosis of type 1 diabetes. Oxford Regional Prospective Study Group. Diabetes Care 2001;24:555-60.
120. Poulsen PL, Hansen KW, Mogensen CE. Ambulatory blood pressure in the transition from normo- to microalbuminuria. A longitudinal study in IDDM patients. Diabetes 1994; 43:1248-53.
121. Thomas MC, Burns WC, Cooper ME. Tubular changes in early diabetic nephropathy. Adv Chronic Kidney Dis 2005;12:177-86.
122. Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? J Am Soc Nephrol 2006;17:2974-84.
123. Tang SC, Leung JC, Lai KN. Diabetic tubulopathy: an emerging entity. Contrib Nephrol 2011;170:124-34.
124. Brito PL, Fioretto P, Drummond K. Proximal tubular basement membrane width in insulin-dependent diabetes mellitus. Kidney Int 1998;53:754-61.
125. Fioretto P, Mauer M, Brocco E. Patterns of renal injury in NIDDM patients with microalbuminuria. Diabetologia 1996;39:1569-76.
126. Ziyadeh FN, Snipes ER, Watanabe M, Alvarez RJ, Goldfarb S, Haverty TP.  
High glucose induces cell hypertrophy and stimulates collagen gene transcription in proximal tubule. Am J Physiol 1990;259:704-14.
127. Tang SC, Lai KN. The pathogenic role of the renal proximal tubular cell in diabetic nephropathy. Nephrol Dial Transplant 2012;27:3049-56.
128. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL i sur. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. Nature 2000; 404(6779):787-90.
129. Dalla Vestra M, Saller A, Bortoloso E. Structural involvement in type 1 and type 2 diabetic nephropathy. Diabetes Metab 2000;26:8-14.
130. Lee SY, Choi ME. Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy:beyond albuminuria. Pediatr Nephrol 2015;30:1063-75.

131. Goknar N, Oktem F, Ozgen IT i sur. Determination of early urinary renal injury markers in obese children. *Pediatr Nephrol* 2015;30:139-44.
132. Hojs R, Ekart R, Bevc S, Hojs N. Biomarkers of renal disease and progression in patients with diabetes. *J Clin Med* 2015;4:1010-24.
133. Bolignano D, Donato V, Coppolino G, Beumi A, Lacquantini A, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. *Am J Kidney Dis* 2008;52:595-605.
134. Holzscheiter L, Beck C, Rutz S i sur. NGAL, L-FABP and KIM-1 in comparison to established markers of renal dysfunction. *Clin Chem Lab Med* 2014;52:537-46.
135. Mishra J, Dent C, Tarabishi R. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365:1231-8.
136. Hirsch R, Dent C, Pfriem H. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 2007;22:2089-95.
137. Fiseha T. Urinary biomarkers for early diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Biomark Res* 2015;3:16.
138. Nielsen SE, Schjoedt KJ, Astrup AS i sur. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Kidney Injury Molecule 1 (KIM 1) in patients with diabetic nephropathy: a cross-sectional study and the effects of lisinopril. *Diabet Med* 2010;27:1144-50.
139. Lacquaniti A, Donato V, Pintaudi B i sur. "Normoalbuminuric" diabetic nephropathy: tubular damage and NGAL. *Acta Diabetol* 2013;50:935-42.
140. Fiseha T, Tamir Z. Urinary Markers of Tubular Injury in Early Diabetic Nephropathy. *Int J Nephrol* 2016;2016:4647685.
141. Yang J, Goetz D, Li JY. An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell* 2002;10:1045-56.
142. Gwira JA, Wei F, Ishibe S, Ueland JM, Barasch J, Cantley LG. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin regulates epithelial morphogenesis in vitro. *J Biol Chem* 2005; 280:7875-82.
143. Cowland JB, Sorensen OE, Sehested M, Borregaard N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 beta, but not by TNF-alpha. *J Immunol* 2003;171:6630-9.
144. Bolignano D, Coppolino G, Campo S i sur. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in patients with autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Am J Nephrol*. 2007;27:373-8.

145. Brunner HI, Mueller M, Rutherford C i sur. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:2577-84.
146. Ding H, He Y, Li K i sur. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. *Clin Immunol* 2007;123:227-34.
147. Nauta FL, Boertien WE, Bakker SLJ. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes. *Diabetes Care* 2011;34:975–81.
148. Kim SS, Song SH, Kim IJ i sur. Clinical implication of urinary tubular markers in the early stage of nephropathy with type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Prac* 2012;97:251–7.
149. de Carvalho JA, Tatsch E, Hausen BS i sur. Urinary kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin as indicators of tubular damage in normoalbuminuric patients with type 2 diabetes. *Clin Biochem* 2016;49:232–6.
150. Fu WJ, Xiong SL, Fang YG i sur. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. *Endocrine* 2012;41:82–8.
151. Al-Refai AA, Tayel SI, Ragheb A, Dala AG, Zahran A. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin as a marker of tubular damage in type 2 diabetic patients with and without albuminuria. *Open Journal of Nephrology* 2014;4:37–46.
152. Wu J, Ding Y, Zhu C i sur. Urinary TNF- $\alpha$  and NGAL are correlated with the progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Exp Ther Med* 2013;6:1482–8.
153. Nielsen SE, Hansen HP, Jensen BR, Parving HH, Rossing P. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and progression of diabetic nephropathy in type 1 diabetic patients in a four-year follow-up study. *Nephron Clin Pract* 2011;118:130-5.
154. Garg V, Kumar M, Mahapatra H. S, Chitkara A, Gadpayle A. K, Sekhar V. Novel urinary biomarkers in pre-diabetic nephropathy. *Clin Exp Nephrol* 2015;19:895–900.
155. Kaul A, Behera MR, Rai MK i sur. Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin: As a Predictor of Early Diabetic Nephropathy in Type 2 Diabetes Mellitus. *Indian J Nephrol* 2018;28:53-60.
156. Sueud T, Hadi NR, AAbdulameer R, Jamil DA, Al-Aubaidy HA. Assessing urinary levels of IL-18, NGAL and albumin creatinine ratio in patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Syndr* 2019;13:564-8.
157. Bennett MR, Nehus E, Haffner C, Ma Q, Devarajan P. Pediatric reference ranges for acute kidney injury biomarkers. *Pediatr Nephrol* 2015; 30:677-85.
158. Cullen MR, Murray PT, Fitzgibbon MC. Establishment of a reference interval for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Ann Clin Biochem* 2012;49:190-3.



159. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children and adolescents. *Pediatr Clin N Am* 1987;34:571-90.
160. Flynn J, Daniels SR, Hayman LL i sur. Update: Ambulatory blood pressure monitoring in children and adolescents: A scientific statement from the American Heart Association. *Hypertension* 2014;63:1116-35.
161. Soergel M, Kirschstein M, Buch C i sur. Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: A multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 1997;130:178-84.
162. Wuhl E, Witte K, Soergel M, Mehls O, Schaefer F for the German Working Group on Pediatric Hypertension. Distribution of 24-h ambulatory blood pressure in children: normalized reference values and role of body dimensions. *J Hypertens* 2002;20:1995-2007.
163. Kairo K, Pickering TG, Umeda Y i sur. Morning surge in blood pressure as a predictor of silent and clinical cerebrovascular disease in elderly hypertensives. A prospective study. *Circulation* 2003;107:1401-6.
164. Centers for Disease Control and Prevention. National Center for Health Statistics. Available at: <http://www.cdc.gov/growthcharts/>.
165. Dumić M, Mardešić D. Rast i razvoj. U: Mardešić D, ur. *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga;2000, str. 25-45.
166. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The Fourth report on the diagnosis, evaluation and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114:555-76.
167. Raile K, Galler A, Hofer S, Herbst A, Dunstheimer D. Diabetic nephropathy in 27,805 children, adolescents and adults with type 1 diabetes: effects of diabetes duration, A1C, hypertension, dyslipidemia, diabetes onset, and sex. *Diabetes Care* 2007;30:2523-8.
168. Acosta AA, Samuels JA, Portman RJ, Redwine KM. Prevalence of persistent prehypertension in adolescents. *J Pediatr* 2012;160:757-61.
169. Basiratnia M, Abadi SF, Amirhakimi GH, Karamizadeh Z, Karamifar H. Ambulatory blood pressure monitoring in children and adolescents with type-1 diabetes mellitus and its relation to diabetic control and microalbuminuria. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2012;23:311-5.
170. Matsuoka S, Awazu M. Masked hypertension in children and young adults. *Pediatr Nephrol* 2004;19: 651-4.

171. Lurbe E, Thijs L, Torro MI, Alvarez J, Staessen JA, Redon J. Sexual dimorphism in the transition from masked to sustained hypertension in healthy youths. *Hypertension* 2013;62:410-4.
172. Lurbe E, Torro MI, Alvarez J. Ambulatory blood pressure monitoring in children and adolescents: coming of age? *Curr Hypertens Rep* 2013;15:143-9.
173. Hanevold CD. White coat hypertension in children and adolescents. *Hypertension* 2019;73:24-30.
174. Darkan S, Goksen D, Mir S. Alterations of blood pressure in type 1 diabetic children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 2006;21:672-6.
175. Dost A, Bechtold-Dalla Pozza S, Bollow E, Kovacic R, Vogel P, Feldhahn L, Initiative DPV. Blood pressure regulation determined by ambulatory blood pressure profiles in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: Impact on diabetic complications. *Pediatr Diabetes* 2017;18:874-82.
176. Delaney A, Speise PW, Pellizzari M, Frank GR. Pitfalls in the measurement of the nocturnal blood pressure dip in adolescents with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32:165-8.
177. Hansen TW, Li Y, Boggia J, Thijs L, Richart T, Staessen JA. Predictive role of the nighttime blood pressure. *Hypertension* 2011;57:3-10.
178. Mallamaci F, Minutolo R, Zoccali C i sur. Long-term visit-to-visit office blood pressure variability increases the risk of adverse cardiovascular outcomes in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2013;84:381-9.
179. Leisman D, Meyers M, Schnall J i sur. Blood pressure variability in children with primary vs secondary hypertension. *J Clin Hypertens* 2014;16:437-41.
180. Mancia G. Short- and Long-Term Blood Pressure variability. Present and future. *Hypertension* 2012; 60:512-7.
181. Feber J, Litwin M. Blood pressure (BP) assessment – from BP level to BP variability. *Pediatr Nephrol* 2016;31:1071-9.
182. Li Y, Hansen TW. Prognostic value of the morning blood pressure surge in 5645 subjects from 8 populations. *Hypertension* 2010;55:1040-8.
183. Marcovecchio ML, Jones T, Daneman D i sur. Adolescent type 1 diabetes cardio-renal intervention trial (AddIT): urinary screening and baseline biochemical and cardiovascular assessments. *Diabetes Care*. 2014;37:805-13.
184. Cho YH, Craig ME, Davis EA i sur. Cardiac autonomic dysfunction is associated with high-risk albumin-to-creatinine ratio in young adolescents with type 1 diabetes in AddIT (adolescent type 1 diabetes cardio-renal interventional trial). *Diabetes Care* 2015;38:676-81.

185. Guntche Z, Saravi FD, Reynals EA, Rauek B, Rauek M, Guntsche EM. Parental hypertension and 24 h-blood pressure in children prior to diabetic nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2002;17:157-64.
186. Huang CY, Ting WH, Lo FS i sur. Factors associated with diabetic nephropathy in children, adolescents, and adults with type 1 diabetes. *J Formos Med Assoc* 2017;116:924-32.
187. Zachwieja J, Soltysiak J, Fichna P i sur. Normal-range albuminuria does not exclude nephropathy in diabetic children. *Pediatr Nephrol* 2010;25:1445-51.
188. Demir K, Abaci A, Kume T, Altincik A, Catli G, Bober E. Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in normoalbuminuric normotensive type 1 diabetic adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2012;25:517-23.
189. Yürük Yıldırım Z, Nayır A, Yılmaz A, Gedikbaşı A, Bundak R. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin as an Early Sign of Diabetic Kidney Injury in Children. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2015;7:274-9.
190. Hafez MH, El-Mougy FAF, Makar SH, Abd El Shaheed SS. Detection of an earlier tubulopathy in diabetic nephropathy among children with normoalbuminuria. *Iran J Kidney Dis* 2015;9:126–31.
191. Wu J, Shao X, Lu K i sur. Urinary RBP and NGAL levels are associated with nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Cell Physiol Biochem* 2017;42:594-602.
192. Ucakturk A, Avci B, Genc G, Ozkaya O, Aydin M. Kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase associated lipocalin in normoalbuminuric diabetic children. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2015; 29:145-51.
193. Papadopoulou-Marketou N, Margeli A, Papassotiriou I, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C, Wahlberg J. NGAL as an early predictive marker of diabetic nephropathy in children and young adults with type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes Res* 2017;2017:7526919.

## 11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 1969.g. u Zagrebu. Osnovnu i srednju školu završila sam u Zaboku.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 1988.g. i diplomirala 1994.g. stekavši zvanje doktora medicine.

Od 1994. do 1995.g. obavljala sam pripravnički staž u KBC Sestre milosrdnice te iste godine nakon položenog stručnog ispita započela specijalizaciju iz pedijatrije u Klinici za pedijatriju KBC Sestre milosrdnice.

Nakon položenog specijalističkog ispita 1999.g. nastavila sam raditi u Klinici za pedijatriju KBS Sestre milosrdnice na odjelu nefrologije.

Od 1997. do 2001.g. radila sam kao mlađi naslovni asistent pri Katedri za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Tijekom 2006.g. pohađala sam Tečaj iz ultrazvuka abdomena u organizaciji Hrvatskog društva za ultrazvuk u medicini i biologiji te stekla licencu za samostalno obavljanje pretrage.

Od 2006. do 2008.g. subspecijalistički sam se usavršavala iz pedijatrijske nefrologije te nakon položenog ispita stekla stručno zvanje subspecijaliste pedijatrijske nefrologije.

Naziv primarijus stekla sam 2015.g.

Tijekom 2016.g. pohađala sam tečaj iz ultrazvučne mikcijske urosonografije pojačane kontrastom u Kliničkom bolničkom centru Klinike za pedijatriju u Ljubljani te stekla licencu za samostalno obavljanje pretrage.

Doktorski studij "Biomedicina i zdravstvo" završila sam na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu 2018. godine.

Od 2015.g. obavljam dužnost Voditeljice odjela za kardiologiju i nefrologiju Klinike za pedijatriju KBC Sestre milosrdnice gdje i danas radim.