

Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (NGAL) kao biološki biljeg oštećenja bubrega u bolesnika sa šećernom bolesti

Domazet, Tina

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka / Sveučilište u Rijeci**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:193:174542>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-19**

Repository / Repozitorij:



[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Biotechnology and Drug Development - BIOTECHRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
Biotehnologija u medicini

Tina Domazet

**Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom
(NGAL) kao biološki biljeg oštećenja bubrega u
bolesnika sa šećernom bolesti**

Diplomski rad

Rijeka, 2023. godine

Mentor rada: doc. dr. sc. Daniela Šupe - Domić

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
Biotehnologija u medicini

Tina Domazet

**Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom
(NGAL) kao biološki biljeg oštećenja bubrega u
bolesnika sa šećernom bolesti**

Diplomski rad

Rijeka, 2023. godine

Mentor rada: doc. dr. sc. Daniela Šupe - Domić

SVEUČILIŠTE U RIJECI
ODJEL ZA BIOTEHNOLOGIJU
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
Biotehnologija u medicini

Tina Domazet

**Neutrophil gelatinase – associated lipocalin (NGAL)
as a biological marker of kidney damage in patients
with diabetes**

Master's thesis

Rijeka, 2023. godine

Mentor rada: Doc. dr. sc. Daniela Šupe – Domić

Komentor rada: izv. prof. dr. sc. Igor Jurak

Rad je obranjen dana 07.09.2023. pred povjerenstvom:

1. doc. dr. sc. Ivan Gudelj – predsjednik povjerenstva
2. izv. prof. dr. sc. Ivana Ratkaj - članica
3. izv. prof. dr. sc. Igor Jurak
4. izv. prof. Petra Karanikić – zamjenski član

Rad ima 59 stranica, 12 slika, 2 tablice i 30 literaturnih navoda.

SAŽETAK

Cilj istraživanja: Lipokalin povezan s neutrofilnom gelatinazom (NGAL) protein je od 25 kDa, dio je superporodice lipokalina i prvotno je pronađen u aktiviranim neutrofilima. Usporediti koncentracije markera NGAL-a kod bolesnika s teškom i bolesnika s umjerenom neproliferativnom dijabetičkom retinopatijom. Usporediti koncentracije vitamina D kod bolesnika s teškim i s umjerenim NPDR-om. Utvrditi korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i omjera neutrofila i limfocita (NLR-a) kao i korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i monocita i limfocita (MRL-a).

Ispitanici i metode: Ovo istraživanje uključilo je 40 ispitanika koji boluju od diabetes melitus tipa 2, neproliferativne dijabetičke retinopatije (NPDR) i oticanja mrežnice (DME) koji su liječeni na Klinici za očne bolesti KBC-a Split u razdoblju od prosinca 2022. do ožujka 2023. godine. Uzorci su obrađeni i analizirani na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC Split. Prikupljeni su klinički podaci o dijagnozi ispitanika te su napravljena različita mjerenja i biokemijska ispitivanja.

Rezultati: Skupina bolesnika s teškim oblikom NPDR nije se razlikovala u temeljnim karakteristikama u odnosu na skupinu s umjerenim oblikom NPDR osim u vidnoj oštini (0,46 (0,11-0,75) LogMAR vs. 0,65 (0,21-0,89) LogMAR, $p = 0,032$) i CST-u (354 (281-401) μm vs. 394 (324-470) μm , $p = 0,003$). Značajne razlike uočene su kod koncentracije NGAL-a u bolesnika s teškim oblikom NPDR-a u odnosu na bolesnike s umjerenim oblikom NPDR-a (62,5 (10,0-841,0) ng/mL vs. 377,0 (180,8-1000,3) ng/mL, $p = 0,020$). Koncentracije vitamina D bile su značajno veće u bolesnika s umjerenim NPDR-om u odnosu na bolesnike s teškim oblikom NPDR-a (57,0 (39,8-71,3) nmol/L vs. 42,4 (25,4-69,9) nmol/L, $p = 0,006$). Nije utvrđena korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i NLR-a ($r = -0,105$, $p =$

0,588) kao ni korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i MLR-a ($r = -0,135$, $p = 0,486$).

Zaključak: Usprkos nedvojbenim rezultatima dosadašnjih istraživanja, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se NGAL potvrdio kao pouzdan i relevantan biomarker za bubrežna oboljenja.

Ključne riječi: lipokalin povezan s neutrofilnom gelatinazom, dijabetes, dijabetička retinopatija, vitamin D, omjer monocita i limfocita, omjer neutrofila i limfocita

SUMMARY

Objectives: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a 25-kDa protein, part of the lipocalin superfamily, and was originally found in activated neutrophils. To compare NGAL marker concentrations in patients with severe and patients with moderate non-proliferative diabetic retinopathy. To compare vitamin D concentrations in patients with severe and moderate NPDR. To determine the correlation between the concentration of NGAL in urine and the ratio of neutrophils and lymphocytes (NRL), as well as the correlation between the concentration of NGAL in urine and monocytes and lymphocytes (MRL).

Patients and methods: This study included 40 subjects suffering from type 2 diabetes mellitus, non-proliferative diabetic retinopathy (NPDR) and retinal edema (DME) who were treated at the KBC Split Eye Disease Clinic in the period from December 2022 to March 2023. The samples were processed and analyzed at the Department of Medical Laboratory Diagnostics, KBC Split. Clinical data on the subject's diagnosis were collected, and various measurements and biochemical tests were performed.

Results: The group of patients with a severe form of NPDR did not differ in basic characteristics compared to the group with a moderate form of NPDR except for visual acuity (0.46 (0.11-0.75) LogMAR vs. 0.65 (0.21-0.89) LogMAR, $p = 0.032$) and CST (354 (281-401) μm vs. 394 (324-470) μm , $p = 0.003$). Significant differences were observed in the concentration of NGAL in patients with a severe form of NPDR compared to patients with a moderate form of NPDR (62.5 (10.0-841.0) ng/mL vs. 377.0 (180.8-1000.3) ng/mL, $p = 0.020$). Vitamin D concentrations were significantly higher in patients with moderate NPDR compared to patients with severe NPDR (57.0 (39.8-71.3) nmol/L vs. 42.4 (25.4-69.9) nmol/L, $p = 0.006$).

No correlation was found between urinary NGAL concentrations and NLR ($r = -0.105$, $p = 0.588$) and no correlation between urinary NGAL concentrations and MLR ($r = -0.135$, $p = 0.486$).

Conclusion: Regardless of laboratory findings, further research is needed to confirm NGAL as a reliable and relevant biomarker for kidney disease.

Keywords: neutrophil gelatinase-related lipocalin, diabetes, diabetic retinopathy, vitamin D, monocyte-to-lymphocyte ratio, neutrophil-to-lymphocyte ratio

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Akutna ozljeda bubrega	1
1.2 Kronična bolest bubrega	3
1.3 Šećerna bolest tipa 1	5
1.4 Šećerna bolest tipa 2	7
1.5 Dijabetička bolest bubrega	9
1.6 Dijabetička retinopatija	11
1.6.1 Patologija dijabetičke retinopatije	13
1.6.2 Dijagnoza dijabetičke retinopatije	14
1.6.3 Klasifikacija neproliferativne dijabetičke retinopatije	15
1.6.4 Faze NPDR	16
1.6.5 Proliferativna dijabetička retinopatija	19
1.7 Vitamin D	21
1.7.1 Ultraljubičasto svjetlo	22
1.7.2 Nedostatak vitamina D	23
1.7.3 Toksičnost vitamina D	24
1.8 Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (NGAL)	24
1.9 NGAL i akutna ozljeda bubrega	25
1.10 NGAL i kronična bolest bubrega	26
2. CILJ RADA	27
3. ISPITANICI I METODE	28
3.1 Ispitanici	28
3.2 Anamneza i klinički pregled	28
3.3 Laboratorijske analize	29
4. REZULTATI	32
5. RASPRAVA	38
6. ZAKLJUČAK	42
7. LITERATURA	43

1. UVOD

Rani prediktivni biomarkeri važni su kod akutnih ozljeda bubrega (AKI), kod kroničnih bolesti bubrega (CKD), dijabetičke bolesti bubrega i dijabetičke retinopatije kako bi se bolest na vrijeme otkrila, a samim time i poboljšala prognoza i provela učinkovita terapija. Dosad dostupni biomarkeri, primjerice kreatinin u serumu, prilično su neprecizni i usporavaju postavljanje dijagnoze bolesti, zbog čega su se provodila mnoga istraživanja koja su omogućila otkriće biomarkera NGAL-a kao potencijalnog prediktivnog biomarkera. (1)

1.1 Akutna ozljeda bubrega

Akutna ozljeda bubrega (AKI) označava iznenadno i često reverzibilno smanjenje funkcije bubrega, mjereno brzinom glomerularne filtracije (GFR). Iako, odmah nakon bubrežnog inzulta, razine ureje ili kreatinina u krvi mogu biti unutar normalnog raspona. Jedini znak akutne ozljede bubrega može biti smanjenje izlučivanja urina. AKI može dovesti do nakupljanja vode, natrija i drugih metaboličkih proizvoda. Također može dovesti do poremećaja i ostalih elektrolita. To je vrlo često stanje, osobito među hospitaliziranim pacijentima. (3)

Ozljeda je vidljiva u promjeni kreatinina u serumu i izlučivanju urina:

- Porast kreatinina u serumu do 180 $\mu\text{mol/L}$ (2 mg/ dan)
- Porast kreatinina u serumu $\geq 1,5$ puta od početne vrijednosti, za koji se zna ili se pretpostavlja da se dogodio u prethodnih sedam dana
- Izlučivanje urina $< 0,5 \text{ mL/kg/sat}$ tijekom šest sati

Bolesti i stanja koja mogu usporiti protok krvi u bubrege i dovesti do oštećenja bubrega uključuju: gubitak krvi ili tekućine, lijekovi za krvni tlak, srčani udar, srčana bolest, infekcija, zatajenje jetre, upotreba aspirina,

ibuprofena, naproksen natrija (Aleve) ili srodnih lijekova, teška alergijska reakcija (anafilaksija), teške opekline te teška dehidracija. (4)

Moguće komplikacije akutnog oboljenja bubrega može biti nakupljanje tekućine u plućima što dovodi do kratkog daha, također može se pojaviti bol u prsim i slabost u mišićima. Ponekad, akutna ozljeda bubrega uzrokuje trajni gubitak funkcije bubrega ili završni stadij bubrežne bolesti. Osobe u završnom stadiju bubrežne bolesti zahtijevaju ili trajnu dijalizu - proces mehaničke filtracije koji se koristi za uklanjanje toksina i otpada iz tijela ili transplantaciju bubrega kako bi preživjeli. U najgorim slučajevima može doći do smrtnog ishoda. (4)

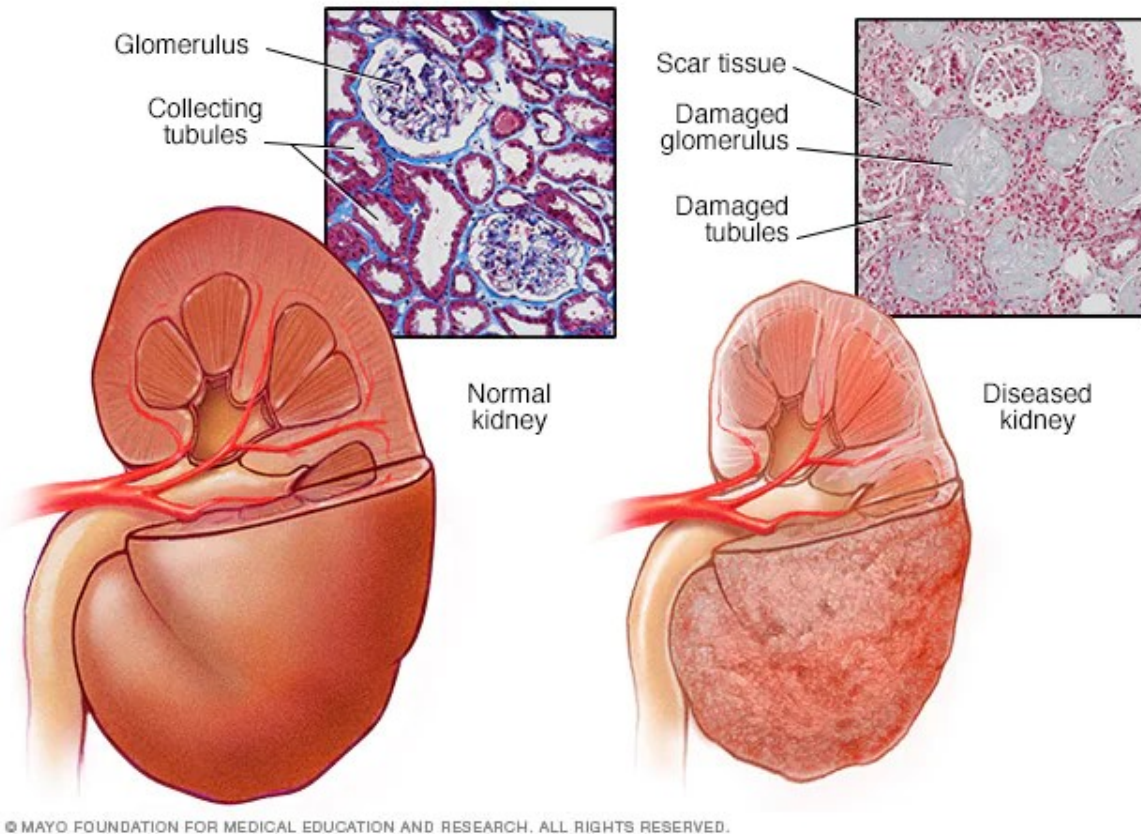
Dijagnoza akutne ozljede bubrega postavlja se na temelju laboratorijske analize krvi pomoću biomarkera koji ukazuju na bolest, ali kod određenih pacijenata ovisno o stupnju oštećenja bubrega, mogu se pojaviti i simptomi kao što su hipertenzija, smanjeno izlučivanje urina, anoreksija, otežano disanje, mučnina, poremećaj spavanja, oticanje nogu. (5)

Za liječenje AKI bitno je održavanje homeostaze volumena i korekcija biokemijskih abnormalnosti, korekcija teške acidoze primjenom lužina, korekcija hematoloških abnormalnosti (anemija, uremična disfunkcija trombocita) što se postiže transfuzijom crvenih krvnih zrnaca, eritrocita ili trombocita i primjenom dezmopresina ili estrogena. Može se primijeniti i hemodijaliza u bolesnika s refraktornom acidozom, hipervolemijom s plućnim edemom, kod bolesnika s po život opasnom hiperkalemijom i kod onih sa znakovima uremije. Važan aspekt liječenja je promjena u prehrani i kontroliranje razina natrija i kalija. (5)

1.2 Kronična bolest bubrega

Kronična bubrežna bolest, koja se naziva i kronično zatajenje bubrega, uključuje postupni gubitak funkcije bubrega. Zdravi bubrezi filtriraju otpad i višak tekućine iz krvi, koji se zatim uklanjaju putem urina. Uznapredovala kronična bubrežna bolest može uzrokovati nakupljanje opasnih razina tekućine, elektrolita i metaboličkih produkata u tijelu. (9)

Znakovi i simptomi kronične bubrežne bolesti razvijaju se tijekom vremena kako oštećenje bubrega sporo napreduje. Ovisno o tome koliko je težak, gubitak funkcije bubrega može uzrokovati mučninu, povraćanje, gubitak apetita, povećanu učestalost pojave infekcija, niske razine kalcija, visoke razine kalija i fosfora u krvi, umor i slabost, probleme sa spavanjem, grčeve u mišićima, oticanje stopala i gležnjeva, suhu kožu, visoki krvni tlak, kratkoću daha, bol u prsima. Znakovi i simptomi bolesti bubrega često su nespecifični što znači da mogu biti uzrokovani i drugim bolestima. Budući da bubrezi mogu nadoknaditi izgubljenu funkciju, nekad se simptomi ne jave rano ili se ne prepoznaju na vrijeme što može dovesti do nepopravljivog oštećenja. (9)



Slika 1.1 Zdrav bubreg i bubreg s oboljenjem

Izvor: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/chronic-kidney-disease/symptoms-causes/syc-20354521#dialogId22480715>

Najčešće bolesti i stanja koja uzrokuju kroničnu bolest bubrega uključuju dijabetes tipa 1 ili tipa 2 i visoki krvni tlak. Tipičan bubreg ima oko milijun jedinica za filtriranje. Svaka jedinica, koja se naziva glomerul, povezuje se s tubulom koji skuplja urin. Stanja poput visokog krvnog tlaka i dijabetesa utječu na rad bubrega oštećujući jedinice za filtriranje te uzrokujući ožiljke. (Slika 1.1)

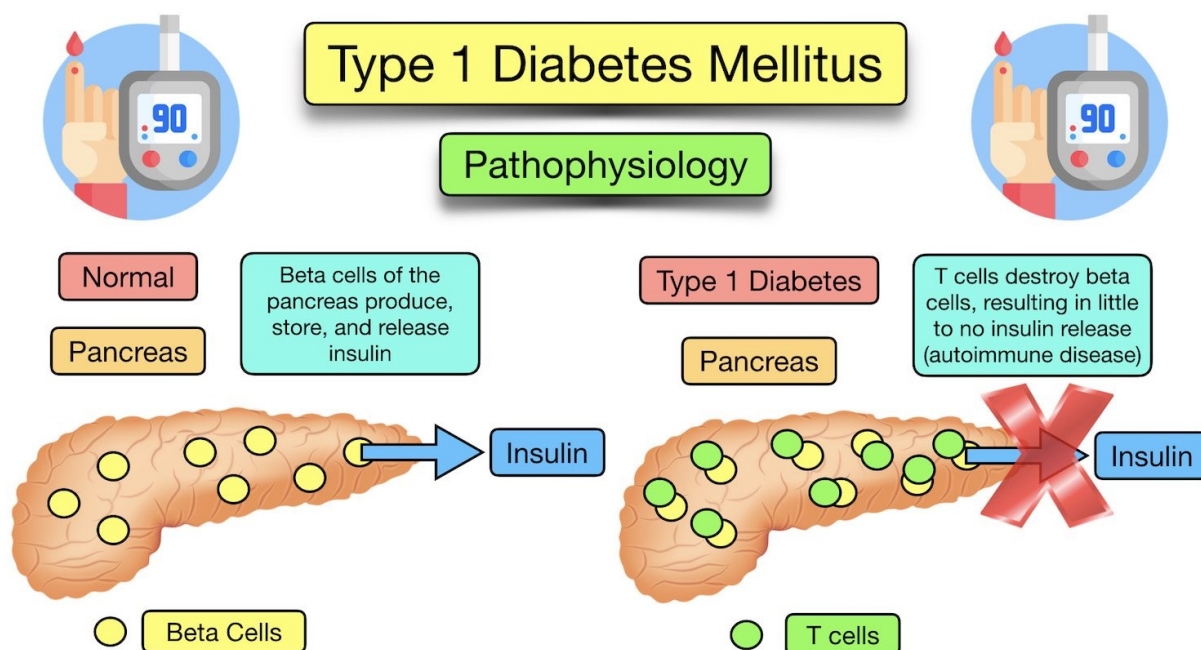
Na bubrežnu bolest također mogu utjecati i glomerulonefritis (upala filterskih jedinica bubrega (glomerula)), intersticijski nefritis (upala bubrežnih tubula i okolnih struktura), policistična bolest bubrega ili druge nasljedne bolesti bubrega, dugotrajna opstrukcija urinarnog trakta,

uzrokovana stanjima kao što su povećana prostata, bubrežni kamenci i neki oblici raka, vezikoureteralni refluks (stanje koje uzrokuje povratak urina u bubrege), rekurentna infekcija bubrega, koja se naziva i pijelonefritis. Velik utjecaj mogu imati i pretilost i obiteljska povijest kroničnog bubrežnog oboljenja. (9)

1.3 Šećerna bolest tipa 1

Dijabetes tipa 1, nekoć poznat kao juvenilni dijabetes ili dijabetes ovisan o inzulinu, kronično je stanje u kojem propadaju beta stanice gušterače stoga se proizvodi ili malo ili nimalo inzulina. Inzulin je hormon koji tijelo koristi kako bi omogućio ulazak glukoze u stanice za proizvodnju energije, a bez inzulina razina šećera u krvi postaje prekomjerna i nastaje hiperglikemija. (Slika 1.2) (12)

Proces u kojem T stanice imunog sustava uništavaju beta stanice gušterače naziva se inzulitis i prethodi šećernoj bolesti tipa 1. To je faza bez ikakvih simptoma, a na nju mogu utjecati genetika i okolišni čimbenici. (13)



Slika 1.2 Patofiziologija dijabetesa tipa 1.

Izvor: <https://www.ezmedlearning.com/blog/type-1-diabetes-mellitus-symptoms-treatment>

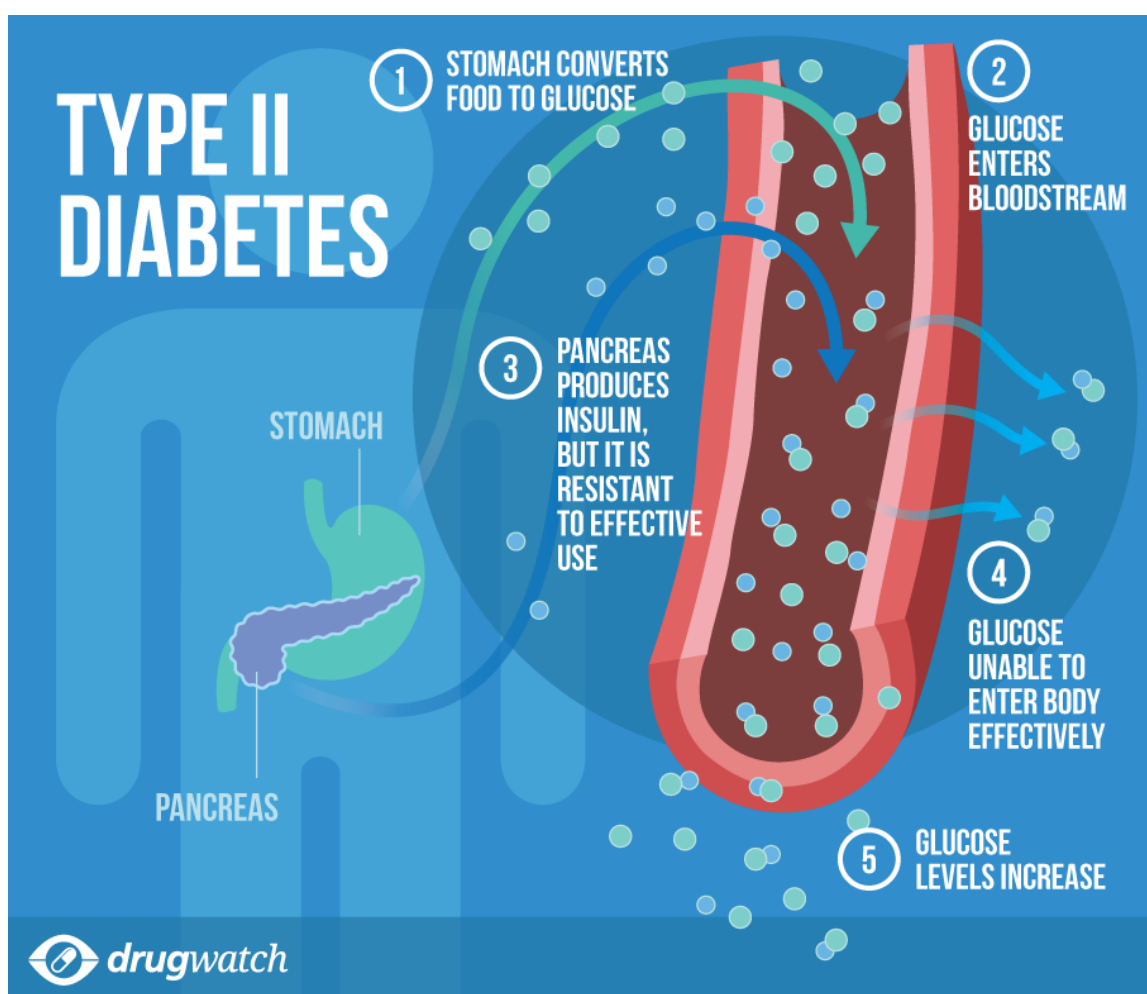
Najčešći znakovi koji se mogu pojaviti iznenada su osjećaj žeđi veći nego inače, učestalo mokrenje, osjećaj velike gladi, nagli gubitak težine, osjećaj razdražljivosti ili druge promjene raspoloženja, osjećaj umora i slabosti, zamagljen vid. (12)

Dijabetes tipa 1 može uzrokovati i razne komplikacije primjerice bolesti srca, visok krvni tlak, bolest bubrega, oralne zdravstvene probleme, neuropatiju povezanu s dijabetesom (oštećenje živaca), različita stanja kože, kao što je suha koža, bakterijske i gljivične infekcije i dermatopatija, moždani udar. (13)

Čak i nakon brojnih istraživanja, dijabetes tipa 1 nema lijeka. Liječenje je usmjereno na kontrolu koncentracije glukoze u krvi terapijom inzulinom, dijetetskom prehranom i načinom života kako bi se spriječile potencijalne komplikacije. (12)

1.4 Šećerna bolest tipa 2

Dijabetes tipa 2 je kronična bolest koju karakterizira visoka koncentracija glukoze u krvi. Mnogo je češći od dijabetesa tipa 1, a slični su po visokoj razini šećera u krvi. Dijabetes tipa 2 nastaje kada izostaje normalan učinak inzulina, a to je prijenos glukoze iz krvi u unutrašnjost stanica. Ovo se stanje naziva inzulinska rezistencija. U tom stanju gušterača reagira na porast razina glukoze u krvi sintezom i otpuštanjem dodatnog inzulina u krvi. S vremenom se otpornost tijela na inzulin pogoršava i gušterača proizvodi sve više inzulina. Kao rezultat toga u prvoj fazi bolesti imamo prisutnu i hiperglikemiju i hiperinzulinemiju u krvi. (Slika 1.3) (14)



Slika 1.3 Porast koncentracija glukoze uzrokovan dijabetesom tipa 2

Izvor: <https://www.drugwatch.com/health/diabetes/>

Simptomi dijabetesa 2 uključuju pretjerano mokrenje, žeđ i glad, gubitak težine, povećanu osjetljivost na infekcije, umor, zamagljen vid. Ekstremno visoke razine šećera u krvi također mogu dovesti do opasne komplikacije zvane hiperosmolarni sindrom, po život opasan oblik dehidracije. Nekontrolirano liječenje dijabetesa tipa 2 također može uzrokovati simptome. Previše lijekova za snižavanje glukoze, u odnosu na unos hranom, može dovesti do komplikacije niske razine šećera u krvi zvane hipoglikemija čiji su simptomi znojenje, drhtanje, vrtoglavica, glad, zbunjenost, napadaji i gubitak svijesti. (14)

Dijabetes tipa 2 utječe na brojne organske sustave tijela. Može uzrokovati ozbiljne, potencijalno po život opasne komplikacije kao što su ateroskleroza (nakupljanje masti u stijenkama arterija), retinopatija (zahvaća stražnji dio oka mrežnicu i retinu), neuropatija (oštećenje živaca), problemi sa stopalima na kojima nastaju rane i mjehuri, nefropatija (oštećenje bubrega). (14)

Najčešći način otkrivanja šećerne bolesti tipa 2 je rutinskim pregledom krvi kada nalazi pokažu povišene vrijednosti glukoze u krvi i urinu i prije pojave simptoma.

Laboratorijski testovi također se rutinski koriste kako za dijagnozu tako i za procjenu dijabetesa, a uključuju: test glukoze u plazmi (FPG) natašte, oralni test tolerancije glukoze (OGTT), slučajni test glukoze u krvi neovisno o obroku, hemoglobin A1C (glikirani hemoglobin), kreatinin u krvi i mikroalbumin u urinu te lipidni profil. (14)

U većini slučajeva liječenje dijabetesa tipa 2 započinje smanjenjem tjelesne težine putem promjene režima prehrane i provođenjem tjelovježbe. Zdrava prehrana za osobu s dijabetesom znači nizak udio zasićenih masti i kolesterola, hranu bez ikakvih trans masti, nizak udio ukupnih kalorija. Kod

bolesnika kojima su potrebni lijekovi, najčešće se koriste sulfonilureja i metformin koji povećavaju produkciju rezidualnog inzulina ili osjetljivost na inzulin. (14)

1.5 Dijabetička bolest bubrega

Dijabetička bolest bubrega (DKD) razvija se u otprilike 40% bolesnika s dijabetesom i vodeći je uzrok kronične bubrežne bolesti u svijetu. (15)

Čimbenici rizika za dijabetičku bolest bubrega konceptualno se mogu klasificirati kao čimbenici osjetljivosti (npr. dob, spol, rasa/etnička pripadnost i obiteljska povijest), čimbenici inicijacije (npr. hiperglikemija i AKI) i čimbenici progresije (npr. hipertenzija, prehrambeni čimbenici i pretilost). Dva najistaknutija utvrđena čimbenika rizika su hiperglikemija i hipertenzija. Hiperglikemija je primarni etiološki čimbenik odgovoran za razvoj dijabetičke bolesti bubrega. Prisutna hiperglikemija uzrokuje, višestruke patofiziološke poremećaje koji uključuju hipertenziju, promijenjenu tubuloglomerularnu povratnu spregu, bubrežnu hipoksiju, lipotoksičnost, ozljedu podocita, upalu, disfunkciju mitohondrija, poremećenu autofagiju i povećanu aktivnost izmjenjivača natrij-vodik koji posljedično pridonose progresivnoj glomerularnoj sklerozi i padu brzina glomerularne filtracije. (Tablica 1.1) (15, 16)

Tablica 1.1 Utjecaj faktora rizika na dijabetičku bolest bubrega

Faktor rizika	Osjetljivost	Inicijacija	Progresija
Demografski			
Starija dob	+		
spol (muškarci)	+		
Rasa/etnička pripadnost (crnci, američki Indijanci, hispanoamerikanci, stanovnici azijskih/pacifičkih otoka)	+		+
Nasljedno			
Obiteljska povijest dijabetičke bolesti bubrega	+		
Genetska bolest bubrega		+	
Sistemska stanja			
Hiperglikemija	+	+	+
Pretilost	+	+	+
Hipertenzija	+		+
Ozljede bubrega			
AKI		+	+
Toksini		+	+
Pušenje	+		+
Čimbenici prehrane			
Visoki unos proteina	+		+

Klinička dijagnoza dijabetičke bolesti bubrega temelji se na mjerenju eGFR-a i albuminurije zajedno s kliničkim značajkama, poput trajanja dijabetesa i prisutnosti dijabetičke retinopatije. DKD se klinički identificira trajno visokim omjerom albumina i kreatinina u mokraći ≥ 30 mg/g i/ili održivim smanjenjem eGFR ispod 60 ml/min po 1,73 m². (15) eGFR (procijenjena brzina glomerularne filtracije) mjera je koja pokazuje funkcioniraju li bubrezi i koliko dobro i ispravno filtriraju. eGFR se procjenjuje na temelju koncentracije kreatinina u krvi, dobi, spola. Kreatinin je otpadni proizvod metabolizma u krvi, filtrira se putem bubrega kako bi se izlučio urinom iz

organizma. Ukoliko su bubrezi zahvaćeni određenom patologijom, kreatinin se nakuplja u krvi. (30)

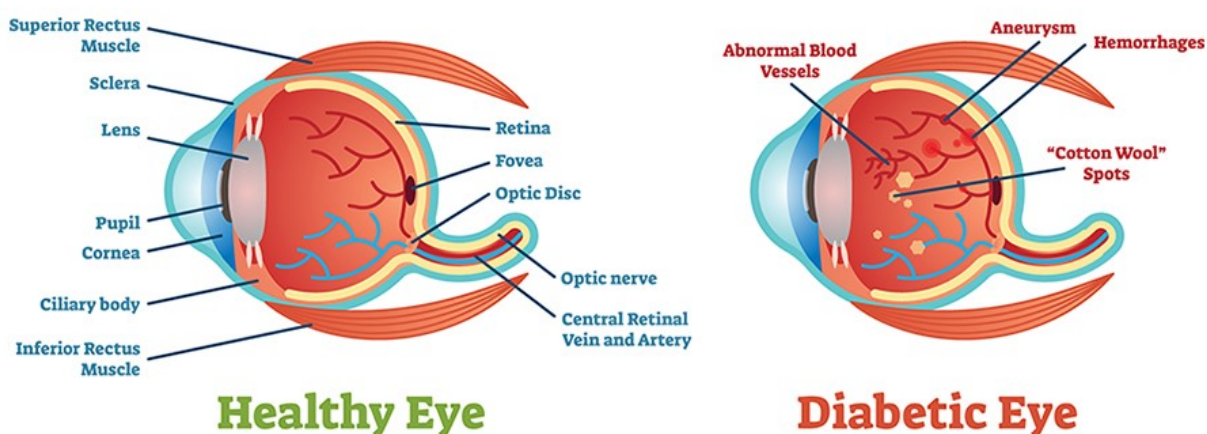
1.6 Dijabetička retinopatija

Dijabetička retinopatija (DR) ozbiljna je komplikacija dijabetesa koja ugrožava vid i uzrokuje progresivno oštećenje mrežnice, ovojnice na stražnjem dijelu oka osjetljive na svjetlost. Tijekom vremena, dijabetes oštećuje male krvne žile u cijelom tijelu, uključujući mrežnicu. Dijabetička retinopatija se javlja kada ove sićušne krvne žile propuštaju krv i druge tekućine, to uzrokuje oticanje retinalnog tkiva, što rezultira mutnim ili zamućenim vidom. Bolest mrežnice krajnja je organska manifestacija dijabetesa. (17)

Među pacijentima u dobi od 25 do 74 godine, dijabetička retinopatija je vodeći uzrok gubitka vida u cijelom svijetu. Do 2030. procjenjuje se da će 191,0 milijun ljudi u svijetu imati dijabetičku retinopatiju, a otprilike 56,3 milijuna imat će dijabetičku retinopatiju opasnu po vid. Kohorta Wisconsinske epidemiološke studije dijabetičke retinopatije (WESDR) pokazala je da nakon 20 godina dijabetes melitusa 99% pacijenata s tipom 1 i 60% pacijenata s tipom 2 pokazuje određeni stupanj retinopatije. Postoji i nekoliko drugih ključnih čimbenika rizika za razvoj dijabetičke retinopatije osim godina od postavljanja dijagnoze i tipa dijabetesa. Uz to, povišene razine hemoglobina A1c (HbA1c) i krvni tlak povezani su s povećanim rizikom od dijabetičke retinopatije. (18)

Dijabetička retinopatija obično zahvaća oba oka. Što dulje osoba ima dijabetes, veća je vjerojatnost da će razviti dijabetičku retinopatiju. Ako se ne liječi, dijabetička retinopatija može uzrokovati sljepoću. Kada ljudi s dijabetesom imaju duga razdoblja visokog šećera u krvi, tekućina se može

nakupiti u leći unutar oka koja kontrolira fokusiranje. To mijenja zakrivljenost leće, što dovodi do promjena u vidu. Međutim, nakon što se razina šećera u krvi kontrolira, obično se leća vraća u svoj izvorni oblik i vid se poboljšava. Bolesnici s kontroliranim dijabetesom u smislu kraćih epizoda hiperglikemije usporit će pojavu i napredovanje dijabetičke retinopatije. (17)



Slika 1.4 Usporedba oka zdrave osobe i osobe s dijabetičkom retinopatijom

Izvor: <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-vision-conditions/diabetic-retinopathy?sso=y>

Prilikom oštećenja krvnih žila može doći do gubitka vida na 2 načina:

- Tekućina može iscuriti u makulu, područje mrežnice odgovorno za jasan središnji vid. Iako mala, makula je dio mrežnice koji nam omogućuje da vidimo boje i fine detalje. Tekućina uzrokuje oticanje makule, što rezultira zamagljenim vidom.
- U pokušaju poboljšanja cirkulacije krvi u mrežnici, na njezinoj površini mogu se stvoriti nove krvne žile. Ove krhke, abnormalne krvne žile mogu propuštati krv u stražnji dio oka i blokirati vid. (17)

Druge komplikacije dijabetičke retinopatije uključuju odvajanje mrežnice zbog stvaranja ožiljnog tkiva i razvoja glaukoma. Glaukom je bolest oka kod koje dolazi do progresivnog oštećenja vidnog živca. Kod DR, nove krvne žile rastu u područje oka koje odvodi tekućinu iz oka. To jako povišuje očni tlak, što oštećuje vidni živac. (Slika 1.4) (17)

1.6.1 Patologija dijabetičke retinopatije

Primarna briga su čimbenici koji dovode do oštećenja vida u ovoj populaciji pacijenata. Tri navedene stavke temelj su ovog procesa bolesti, a njihova prisutnost može se povezati s težinom bolesti.

1. Kapilarno propuštanje
2. Okluzija kapilara
3. Retinalna ishemija (retinalna neovaskularizacija, krvarenje u staklastom tijelu, trakcijska ablacija retine, neovaskularni glaukom)

Različiti čimbenici mogu utjecati na pojavu dijabetičke retinopatije. Osobe s dijabetesom tipa 1 ili tipa 2 izložene su riziku od razvoja dijabetičke retinopatije. Što dulje osoba ima dijabetes, veća je vjerojatnost da će razviti bolest, osobito ako je dijabetes loše kontroliran. Također, i geografski položaj ima veliki utjecaj- Hispanoamerikanci i Afroamerikanci izloženi su većem riziku od razvoja bolesti. Nadalje, osobe s drugim zdravstvenim stanjima, poput visokog krvnog tlaka i visokog kolesterola, izložene su većem riziku, kao i oni s obiteljskom povijesti bolesti. Također, trudnice su izložene većem riziku od razvoja dijabetesa i dijabetičke retinopatije. Ako žena razvije gestacijski dijabetes, ona ima veći rizik od razvoja dijabetesa tijekom života. (17)

1.6.2 Dijagnoza dijabetičke retinopatije

Simptomi smanjenog vida ili fluktuirajućeg vida (edem leće ili makule), pričinjavanje mrlja (krvarenje u staklastom tijelu) ili defekti vidnog polja (trakcijsko odvajanje) ukazuju na dijabetičku retinopatiju. (18)

Dijabetička retinopatija može se dijagnosticirati sveobuhvatnim očnim pregledom. Potrebno je obaviti pregled procjepnom svjetiljkom i pregled proširenog fundusa. Treba pažljivo provjeriti prisutnost abnormalnih krvnih žila na šarenici [neovaskularizacija šarenice (NVI) ili rubeoza], katarakta (povezana s dijabetesom) i stanice staklastog tijela (krv u staklastom tijelu ili pigmentirane stanice ako postoji ablacija retine s stvaranje rupa). Intraokularni tlak (IOP) treba provjeriti posebno kada se vidi NVI. Pregled proširenog fundusa trebao bi uključivati pregled makule (kontaktne leće ili beskontaktne leće) kako bi se potražile mikroaneurizme, krvarenja, tvrdi eksudati, mrlje od vate i oticanje mrežnice (DME). Optički disk i područje koje ga okružuje (za jedan promjer diska) treba ispitati na prisutnost abnormalnih novih krvnih žila (neovaskularizacija diska, NVD), bljedilo glave optičkog živca ili glaukomske promjene. (18)

Fluoresceinska angiografija (FA) može se koristiti za određivanje stupnja ishemije ili prisutnosti retinalnih vaskularnih abnormalnosti. Područja mikroaneurizmi pojavljuju se kao hiperfluorescentne mrlje. Područja NVD također pokazuju curenje na FA. Područja ispadanja kapilara i neperfuzije izgledat će hipofluorescentno. (18)

Optička koherentna tomografija (OCT) korisna je za određivanje prisutnosti i lokacije intraretinalne i/ili subretinalne tekućine kao i za mjerenje debljine retine. OCT se može provoditi sekvencijalno kako bi se utvrdilo reagira li makularni edem na terapiju. (18)

Dijabetička retinopatija se dijeli na dvije vrste: neproliferativna i proliferativna dijabetička retinopatija. Značajka koja razlikuje ove dvije kategorije je prisutnost (proliferativno) ili odsutnost (neproliferativno) abnormalnih novih krvnih žila (mrežnica, optički disk ili neovaskularizacija šarenice/kuta). (17,18)

1.6.3 Klasifikacija neproliferativne dijabetičke retinopatije

Neproliferativna dijabetička retinopatija (NPDR) je rani stadij bolesti u kojem će simptomi biti blagi ili nepostojeći. Kod NPDR-a, krvne žile u retini su oslabljene. Sićušna izbočenja u krvnim žilama, koja se nazivaju mikroaneurizme, mogu ispuštati tekućinu u mrežnicu. Ovo curenje može dovesti do oticanja makule. (17)

Neproliferativna dijabetička retinopatija može se klasificirati u blage, umjerene ili teške stupnjeve na temelju prisutnosti ili odsutnosti retinalnog krvarenja, abnormalnog nabora venske stijenke (venskog nabora) ili abnormalnog vaskularnog nalaza (intraretinalne mikrovaskularne anomalije ili IRMA).

Blagi : nekoliko mikroaneurizmi

Umjereno : povećan broj mikroaneurizmi i mrlja krvarenja. Mogu biti prisutni tvrdi eksudati (tekućina koja se izlijeva iz krvnih žila).

Teška : "pravilo 4-2-1" -- 4 kvadranta difuznih retinalnih krvarenja i mikroaneurizmi, 2 ili više kvadranta venskih zrnaca ili 1 ili više kvadranta IRMA

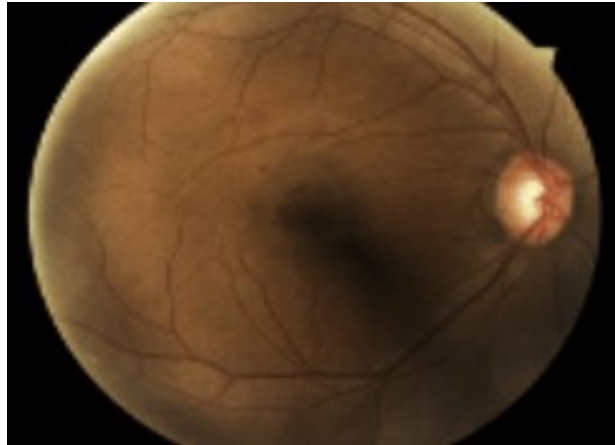
U fazi NPDR-a obično se ne provodi liječenje iako postoje dokazi da injekcije antivaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) mogu pomoći u smanjenju ozbiljnosti retinopatije i smanjiti rizik od komplikacija s vidom.

1.6.4 Faze NPDR

1. Blaga NPDR

Prvi od stadija dijabetičke retinopatije karakterizira oteklina poput balona u određenim područjima krvnih žila mrežnice koja se nazivaju mikroaneurizme. Ova faza rijetko utječe na vid ili zahtijeva liječenje, ali signalizira da je došlo do oštećenja oka i povećanog rizika od progresije bolesti. (Slika 1.5)

U ovoj fazi, pacijent se mora educirati o mogućim posljedicama dijabetesa, istodobno poduzimajući korake za bolju kontrolu šećera u krvi i promjenu prehrane te smanjujući rizik od progresije dijabetičke retinopatije i gubitka vida. Subjekti kao što su zdravstveni sustavi, tvrtke za procjenu zdravstvenih rizika i obveznici osiguranja trebali bi osigurati da se pacijenti redovito testiraju na prisutnost dijabetičke retinopatije kako bi je otkrili što je prije moguće. Preventivni pregledi koje obavljaju zdravstveni djelatnici tijekom kućnih zdravstvenih procjena ili tijekom posjeta primarnoj zdravstvenoj zaštiti izvrsni su načini da se dijabetička retinopatija otkrije što je ranije moguće. (19)



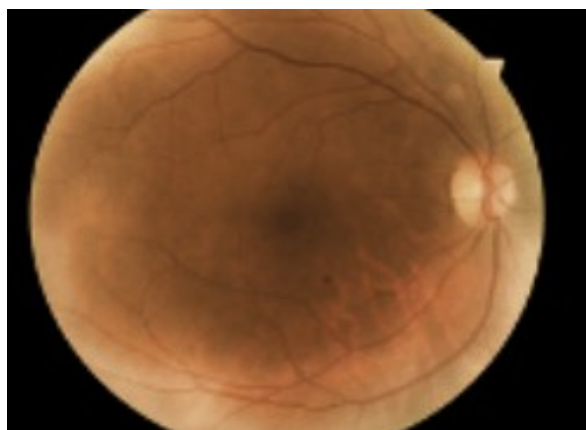
Slika 1.5 Oko u fazi blage NPDR

Izvor: <https://retinalscreenings.com/blog/diabetic-retinopathy-stages/>

2. Umjerena NPDR

Sljedeći stadij dijabetičke retinopatije karakterizira oštećenje nekih krvnih žila u mrežnici, što rezultira istjecanjem krvi i tekućine u tkivo mrežnice. Ova tekućina može uzrokovati gubitak vida. (Slika 1.6)

Korištenje fotografije očne pozadine (fundusa) tijekom probira retine, može omogućiti pacijentima brzu i točnu procjenu. Kada je potrebno preporuča se upućivanje stručnjaku na daljnju procjenu i moguće liječenje. Bolja kontrola šećera u krvi i daljnja procjena ključni su za potencijalno poboljšanje i u konačnici očuvanje vida pacijenta. (19)



Slika 1.6 Oko u fazi umjerene NPDR

Izvor: <https://retinalscreenings.com/blog/diabetic-retinopathy-stages/>

3. Teški NPDR

Ako se nastavi neadekvatna kontrola dijabetesa, više krvnih žila se oštećuje i blokira s još većim istjecanjem krvi i tekućine u mrežnicu, što rezultira mnogo većim utjecajem na vid. U ovoj fazi gotovo je uvijek neophodno pravovremeno upućivanje oftalmologu. Dobrim terapijskim pristupom izgubljeni vid se može popraviti. (Slika 1.7) (19)



Slika 1.7 Oko u fazi teške NPDR

Izvor: <https://retinalscreenings.com/blog/diabetic-retinopathy-stages/>

1.6.5 Proliferativna dijabetička retinopatija

Proliferativna dijabetička retinopatija (PDR) je napredniji oblik bolesti. U ovoj fazi problemi s cirkulacijom lišavaju mrežnicu kisika. Kao rezultat toga, nove, krhke krvne žile mogu početi rasti u mrežnici i u staklastom tijelu, tekućini nalik gelu koja ispunjava stražnji dio oka. Nove krvne žile mogu ispuštati krv u staklasto tijelo, što zamagľuje vid. (Slika 1.8) (17)

Obilježja visokog rizika

NVD > 1/4 do 1/3 površine diska

Svaki NVD povezan s krvarenjem u staklastom tijelu ili preretinalnim krvarenjem

Svaki NVE povezan s krvarenjem u staklastom tijelu ili preretinalnim krvarenjem

To je progresivno i često zahtijeva liječenje kako bi se spriječilo krvarenje i stvaranje ožiljnog tkiva, osobito kod pacijenata koji imaju karakteristike visokog rizika. (18)



Slika 1.8 Oko u fazi proliferativne dijabetičke retinopatije

Izvor: <https://retinalscreenings.com/blog/diabetic-retinopathy-stages/>

Liječenje dijabetičke retinopatije varira ovisno o proširenosti bolesti. Osobama s dijabetičkom retinopatijom najčešće je potrebna laserska operacija kako bi se spriječilo curenje drugih krvnih žila. Liječnik, specijalista oftalmologije i optometrije može ubrizgati lijekove u oko kako bi smanjio upalu ili zaustavio stvaranje novih krvnih žila. Osobama s uznapredovalim slučajevima dijabetičke retinopatije može biti potreban kirurški postupak za uklanjanje i zamjenu tekućine nalik gelu u stražnjem dijelu oka, koja se naziva staklasto tijelo. (17)

Osobama oboljelima od dijabetesa, savjetuje se uzimanje propisanih lijekova, kontrola šećera u krvi (kontrola glikemije), pridržavanja dijete i redovitog vježbanja, kontrole visokog krvnog tlaka i izbjegavanje alkohola i pušenja kako bi se spriječio ili usporio razvoj dijabetičke retinopatije. (17)

Laserski tretman (fotokoagulacija) koristi se za zaustavljanje istjecanja krvi i tekućine u mrežnicu. Laserska zraka svjetlosti može se koristiti za stvaranje malih opeklin u područjima mrežnice s abnormalnim krvnim žilama kako bi se pokušalo zatvoriti curenje. Liječenje dijabetičke retinopatije ovisi i o stadiju bolesti. Cilj svakog liječenja je usporiti ili zaustaviti napredovanje bolesti. U ranim stadijima neproliferativne dijabetičke retinopatije, redovito praćenje može biti jedino liječenje. Pridržavanje savjeta liječnika o prehrani i tjelovježbi te kontrola razine šećera u krvi može pomoći u kontroli napredovanja bolesti. (17)

Injekcije lijekova u oko imaju za cilj zaustaviti stvaranje abnormalnih krvnih žila i mogu pomoći u usporavanju štetnih učinaka dijabetičke retinopatije. Ako bolest napreduje, abnormalne krvne žile mogu propuštati krv i tekućinu u mrežnicu, što dovodi do edema makule. Rašireni rast krvnih žila u mrežnici, koji se javlja kod proliferativne dijabetičke retinopatije, može se liječiti stvaranjem uzorka raspršenih laserskih opeklin po mrežnici. To uzrokuje smanjenje i nestanak abnormalnih krvnih žila. Ovim postupkom može doći do gubitka dijela bočnog vida kako bi se sačuvao središnji vid. (17)

1.7 Vitamin D

Vitamin D, prvi put identificiran kao vitamin topiv u mastima i pomaže tijelu da apsorbira i zadrži kalcij i fosfor, sada je prepoznat kao prohormon. Također, laboratorijske studije pokazuju da vitamin D može smanjiti rast stanica raka, pomoći u kontroli infekcija i smanjiti upalu. Jedinstveni aspekt vitamina D kao hranjive tvari je da ga ljudsko tijelo može sintetizirati djelovanjem sunčeve svjetlosti. (20,21)

Vitamin D, također poznat kao kolekalciferol, sastoji se od skupine sekosterola topivih u mastima. Dva glavna oblika su vitamin D 2 i vitamin D 3 . Vitamin D 2 (ergokalciferol) uglavnom sintetiziraju ljudi i dodaje se hrani, dok se vitamin D 3 (kolekalciferol) sintetizira u ljudskoj koži iz 7-dehidrokolesterola, a također se konzumira prehranom putem unosa hrane životinjskog podrijetla. I vitamin D 3 i vitamin D 2 sintetizirani su komercijalno i nalaze se u dodacima prehrani ili obogaćenoj hrani. D 2 i D 3 oblici se razlikuju samo po strukturi bočnog lanca. Razlike ne utječu na metabolizam (tj. aktivaciju), a oba oblika djeluju kao prohormoni. Zabilježeno je da kada se aktiviraju, oblici D 2 i D 3 pokazuju identične reakcije u tijelu, a snaga povezana sa sposobnošću liječenja rahitisa uzrokovanog nedostatkom vitamina D je ista (Fieser i Fieser, 1959 .; Jones et al., 1998 ; Jurutka i sur., 2001). Eksperimentalne studije na životinjama pokazale su da je vitamin D 2 manje toksičan od vitamina D 3, ali to nije dokazano kod ljudi. Meta-analiza randomiziranih kontroliranih ispitivanja koja su uspoređivala učinke dodataka vitamina D 2 i D 3 na razine u krvi otkrila je da suplementi D 3 više podižu koncentraciju vitamina u krvi i održavaju te razine dulje nego suplementacija s D 2. Neki stručnjaci navode vitamin D 3 kao preferirani oblik jer se proizvodi u tijelu i nalazi se u većini namirnica koje prirodno sadrže vitamin. (20,21)

Dostatnost zaliha vitamina D određuje se mjerenjem koncentracije 25-hidroksivitamina D u serumu. Razgraničenja između manjka (< 20 ng/ml),

insuficijencije (20-30 ng/ml) i optimalne (30-80 ng/ml) koncentracije u serumu su kontroverzna. Vitamin D u dozama od 800-5000 IU/dan poboljšava zdravlje mišićno-koštanog sustava (npr. smanjuje stopu prijeloma i padova u starijih odraslih osoba (u dobi ≥ 65 godina). U bolesnika s dokumentiranim nedostatkom vitamina D, kumulativna doza od najmanje 600 000 IU davanja tijekom nekoliko tjedana čini se nužnim za popunjavanje zaliha vitamina D. Pojedinačne velike doze od 300 000-500 000 IU treba izbjegavati. Dodatak vitamina D ne treba se ordinirati rutinski drugim populacijama pacijenata.

Malo je namirnica koje su prirodno bogate vitaminom D 3. Najbolji izvori su meso, masne ribe i ulja riblje jetre. Manje količine nalaze se u žumanjcima, siru i goveđoj jetri. Mnoge namirnice i dodaci prehrani obogaćeni su vitaminom D poput mliječnih proizvoda i žitarica, ulje jetre bakalara, losos, sabljarka, tuna, sok od naranče obogaćen vitaminom D, mlijeko i biljno mlijeko obogaćeno vitaminom D, sardine, goveđa jetra. (21)

1.7.1 Ultraljubičasto svjetlo

Vitamin D 3 može nastati kada se steroid nazvan 7-dehidrokolesterol razgrađuje sunčevim UVB svjetlom. Količina apsorbiranog vitamina može uvelike varirati. Ono što smanjuje izloženost UVB svjetlu i stoga smanjuje apsorpciju vitamina D korištenje je kreme za sunčanje, nošenje odjeće koja prekriva kožu, tamniji tonovi kože zbog veće količine pigmenta melanina, koji djeluje kao vrsta prirodne zaštite od sunca. Nadalje, i starija dob kada dolazi do smanjenja razine 7-dehidrokolesterola i promjena na koži, te populacija koja će vjerojatno više vremena provoditi u zatvorenom prostoru. Također i određena godišnja doba i život na sjevernim geografskim širinama iznad ekvatora gdje je UVB svjetlo slabije. (21)

1.7.2 Nedostatak vitamina D

Nedostatak vitamina D može nastati zbog nedostatka u prehrani, slabe apsorpcije ili metaboličke potrebe za većim količinama. Ljudi koji ne podnose ili ne jedu mlijeko, jaja i ribu, poput onih s intolerancijom na laktozu ili koji slijede vegansku prehranu, izloženi su većem riziku od nedostatka. Epidemiološki dokazi povezuju nedostatak vitamina D s autoimunim bolestima, rakom, kardiovaskularnim bolestima, depresijom, demencijom, zaraznim bolestima, slabljenjem mišićno-koštanog sustava itd. Osobe s upalnom bolešću crijeva (ulcerozni kolitis, Crohnova bolest) ili drugim stanjima koja ometaju normalnu probavu masti imaju povećan rizik od nedostatka jer je vitamin D topiv u mastima i ovisi o sposobnosti crijeva da apsorbiraju masnoće iz hrane.

Ljudi koji su pretili obično imaju nižu razinu vitamina D u krvi. Vitamin D se nakuplja u višku masnog tkiva, ali nije lako dostupan za korištenje tijelu kada je to potrebno. Za postizanje željene razine u krvi mogu biti potrebne veće doze suplementacije vitaminom D. Suprotno tome, razine vitamina D u krvi rastu kada pretile osobe izgube težinu.

Osobe koje su bile podvrgnute operaciji želučane premosnice, kojom se obično uklanja gornji dio tankog crijeva gdje se vitamin D apsorbira također mogu imati problem nedostatka vitamina D. (21)

Dugotrajni nedostatak vitamina D može dovesti do različitih komplikacija kao što je rahitis, odnosno stanje u dojenčadi i djece s mekim kostima i deformacijama kostura uzrokovano nesposobnošću koštanog tkiva da očvrstne. Također, nerijetko se pojavi i osteomalacija, bolest koju karakterizira „omekšavanje“ kostiju zbog reducirane apsorpcija kalcija u probavnom sustavu. (21)

1.7.3 Toksičnost vitamina D

Toksičnost vitamina D najčešće se javlja zbog prekomjernog uzimanja dodataka prehrani. Male količine vitamina koje se nalaze u hrani vjerojatno neće doseći toksičnu razinu, a velika količina izloženosti suncu ne dovodi do toksičnosti jer višak topline na koži sprječava stvaranje vitamina D. Ne savjetuje se dnevno uzimanje dodataka vitamina D koji sadrže više od 4000 IU osim ako se ne prati pod nadzorom liječnika.

Simptomi toksičnosti su anoreksija, gubitak težine, nepravilan rad srca, otvrdnuće krvnih žila i tkiva zbog povećane razine kalcija u krvi, što potencijalno dovodi do oštećenja srca i bubrega. (21)

1.8 Lipokalin udružen s neutrofilnom gelatinazom (NGAL)

Lipokalin povezan s neutrofilnom gelatinazom (NGAL) protein je od 25 kDa, dio je superporodice lipokalina i prvotno je pronađen u aktiviranim neutrofilima. Kasnija istraživanja pokazala su da ga sadržavaju i stanice bubrežnih tubula gdje se NGAL sintetizira kao odgovor na bubrežna oboljenja. (2) Razine NGAL su povišene u različitim patološkim stanjima, uključujući akutnu ili kroničnu ozljedu bubrega, neoplaziju, kronične upalne procese, aterosklerozu i sl. (29)

NGAL je polipeptid koji je otporan na proteazu i stoga se može lako otkriti u urinu. U stanju dinamičke ravnoteže koncentracije NGAL u plazmi i urinu su zanemarive. U zdravih osoba NGAL se eksprimira u niskim razinama u različitim tkivima, filtrira u glomerulu i reapsorbira u proksimalnim tubulima. (29)

1.9 NGAL i akutna ozljeda bubrega

Različita istraživanja identificirala su NGAL kao osjetljiv marker za postavljanje dijagnoze akutnog oboljenja bubrega kod ljudi. Primjer za to je studija Mishra J. i sur. koji su testirali djecu podvrgnutu kardiopulmonalnoj prenosnici. Akutna bubrežna ozljeda (definirana kao 50%-tno povećanje kreatinina u serumu) javila se u 28% ispitanika, ali dijagnoza korištenjem serumskog kreatinina bila je moguća tek 1-3 dana nakon operativnog zahvata. Nasuprot tome, koncentracije NGAL u urinu porasle su s prosjeka od 1,6 µg/L na početku do 147 µg/L 2 sata nakon kardiopulmonalne prenosnice, a količina u serumu porasla je s prosjeka od 3,2 µg/L na početku do 61 µg/L 2 sata nakon postupka. Univarijatna analiza pokazala je značajnu korelaciju između akutne bubrežne ozljede koncentracije NGAL-a u urinu i serumu nakon 2 sata i vremena kardiopulmonalne prenosnice. Koncentracija NGAL-a u urinu 2 sata nakon kardiopulmonalne prenosnice bila je najjači neovisni prediktor akutne bubrežne ozljede. (6)

Rezultati navedene studije sukladni su sa studijom Wagener G. i sur. koja je istraživala odrasle bolesnike koji su razvili akutno bubrežno zatajenje nakon kardiokirurškog zahvata. Srednje koncentracije NGAL-a u urinu kod pacijenata koji su razvili zatajenje bile su značajno više rano nakon operacije u usporedbi s pacijentima koji bolest nisu razvili. Srednje koncentracije NGAL u urinu nastavile su rasti i ostale su značajno više 3 i 18 sati nakon operacije srca u bolesnika s AKI. Nasuprot tome, NGAL u mokraći u bolesnika bez bubrežnog oboljenja brzo se smanjio nakon operacije srca. Rezultati navedene studije ukazuju da urinarni NGAL može biti koristan rani biomarker AKI-a nakon operacije srca. Ovi nalazi mogu olakšati rano otkrivanje akutne bubrežne ozljede i potencijalno spriječiti napredovanje do akutnog zatajenja bubrega. (7)

Također i rezultati studije autora Quing M. i sur. potvrđuju važnost NGAL-a kao prediktivnog biomarkera nefrotoksičnosti. U studiji djece koja su

podvrgnuta elektivnoj kateterizaciji srca s primjenom kontrasta, NGAL u urinu i plazmi predvidio je nefropatiju (definirana kao 50%-tno povećanje serumskog kreatinina u odnosu na početnu koncentraciju) unutar 2 sata nakon primjene kontrasta. Utvrđeno je da su 2-satne koncentracije NGAL u urinu i plazmi snažni neovisni prediktori kontrastne nefropatije. (8)

1.10 NGAL i kronična bolest bubrega

Različite studije dokazale su kako se NGAL pokazao kao izrazito precizan biomarker u dijagnozi i prepoznavanju kroničnog bubrežnog oboljenja.

Mitsneces M. i sur. su u istraživanju pretpostavili da NGAL u serumu također može predstavljati biomarker za kvantitativno određivanje kronične bolesti bubrega. Kod 45 ispitanika sa sekundarnom bubrežnom displazijom, opstruktivnom uropatijom te glomerularnim i cističnim bolestima mjerio se serumski NGAL, serumski cistatin C, brzina glomerularne filtracije (GFR) klirensom Ioversola i procijenjeni GFR-a (eGFR) Schwartzovom formulom. Koncentracije NGAL u plazmi bile su obrnuto povezane s GFR. Rezultati studije su pokazali da su i NGAL i cistatin C u serumu korisni u dijagnozi CKD. (10)

Studija Bolignana D. i sur. koja se bavila pacijentima s kroničnim bubrežnim oboljenjem pokazala je da su srednje koncentracije NGAL u urinu bile više kod pacijenata oboljelih od CKD naspram koncentracija u kontrolnih ispitanika. Nadalje, koncentracije NGAL u urinu bile su u značajnoj korelaciji s koncentracijama kreatinina u serumu, GFR i proteinurijom. (11)

2. CILJ RADA

Glavni cilj ovog istraživanja jest usporediti koncentracije markera NGAL-a kod bolesnika s teškom i bolesnika s umjerenom neproliferativnom dijabetičkom retinopatijom

Sekundarni ciljevi istraživanja su:

1. usporediti koncentracije vitamina D kod bolesnika s teškim i s umjerenim NPDR-om
2. utvrditi korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i omjera neutrofila i limfocita (NRL-a)
3. utvrditi korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i omjeru monocita i limfocita (MRL-a)

3. ISPITANICI I METODE

U razdoblju od prosinca 2022. do ožujka 2023. godine na Klinici za očne bolesti KBC-a Split provedena je presječna studija koja je uključivala 40 ispitanika.

Etičko povjerenstvo KBC-a Split dalo je odobrenje za ispitivanje, kao i svi uključeni bolesnici od kojih je uzet potpisani informirani pristanak u skladu s Helsinškom deklaracijom.

3.1 Ispitanici

Istraživanje je uključivalo ispitanike oba spola u dobi od 18 i više godina koji boluju od dijabetes melitus tipa 2, neproliferativne dijabetičke retinopatije (NPDR) i oticanja mrežnice (DME), kod kojih je bila potrebna intravitrealna anti-VEGF terapija. Kriteriji za isključenje bili su zamućenja staklastog tijela i katarakta koje smanjuju vidljivost očnog fundusa, operacija oka unutar 6 mjeseci, prethodna vitreoretinalna operacija i terapija laserskom fotokoagulacijom, proliferativna dijabetička retinopatija, akutni konjuktivitis, glaukom, sistolički krvni tlak > 180 mmHg ili dijastolički krvni tlak > 110 mmHg, infarkt miokarda, bolesnici s nestabilnom ili uznapređovalom bubrežnom disfunkcijom.

3.2 Anamneza i klinički pregled

Svim ispitanicima uzeta je obiteljska anamneza uz ispunjavanje upitnika o korištenju lijekova, a posebno antihipertenziva, lijekova za snižavanje koncentracije lipida i hipoglikemika. Potrebni su bili podaci o trenutnom statusu pušenja, trajanju dijabetesa kao i o težini i visini kako bi se izračunao izmjerio indeks tjelesne mase (ITM, engl. BMI-Body Mass Index)

prema formuli = [tjelesna masa (kg)] / [visina na kvadrat (m²)]. Prema smjernicama NHLBI (engl. National Heart, Lung and Blood Institute), BMI < 18,50 kg/m² predstavlja pothranjenost, BMI 18,5-24,9 kg/m² normalnu tjelesnu masu, BMI 25,00-29,99 kg/m² prekomjernu tjelesnu masu, a BMI ≥ 30 kg/m² pretilost. Ukoliko nije bilo kriterija za isključivanje, ispitanici su pristupili istraživanju.

Obavljen je kompletan pregled oka, uključujući dilatirani pregled fundusa, s lećom Volk 90D biomikroskopijom na procjepnoj lampi. Korištenjem Međunarodnih kliničkih ocjena težine bolesti dijabetičke retinopatije i dijabetičkog makularnog edema klasificirana je ozbiljnost dijabetičke retinopatije. Vidna oštrina (VA) mjerena je na temelju Snellenove karte. Optička koherentna tomografija (OCT) provedena je pomoću CIRRUS 6000 OCT, kako bi se potvrdila prisutnost dijabetičkog makularnog edema i izmjerila osnovna središnja debljina makule (CMT) prije primjene prve intravitrealne injekcije bevacizumaba. Sva navedena mjerenja izvršena su na Klinici za očne bolesti KBC Split od strane doktora medicine, specijalista oftalmologije i optometrije.

3.3 Laboratorijske analize

Pacijentima su venepunkcijom nakon noćnog gladovanja uzeti uzorci venske krvi (jedna standardna biokemijska epruveta bez antikoagulansa te dvije epruvete za kompletnu krvnu sliku i koncentraciju HbA1c sa K3 etilendiamintetraoctena kiselinom - K3EDTA antikoagulansom) koji su se dalje obrađivali na Zavodu za medicinsko laboratorijsku dijagnostiku KBC Split u skladu s Nacionalnim preporukama za uzorkovanje venske krvi (Hrvatsko društvo za medicinsku biokemiju i laboratorijsku medicinu (HDMBLM) iz ožujka 2014. godine). Odmah po venepunkciji, uzorci su centrifugirani za biokemijske analize dok su uzorci kompletne krvne slike i uzorci za određivanje koncentracije HbA1c odmah analizirani. Iz centrifugiranih uzoraka izdvojen je serum u kojem su određene

koncentracije vitamina D. Koncentracije vitamina D analizirane su imunokemijskom elektrokemoluminiscentnom metodom proizvođača Roche na analizatoru Cobas e801.

Na platformi proizvođača Siemens, multiparametarskom hematološkom analizatoru Advia 2120i rutinski su određeni sljedeći parametri kompletne krvne slike metodama optičke protočne citometrije, ukupan broj krvnih stanica (eritrociti, leukociti i trombociti), retikulociti, hematokrit, koncentracija hemoglobina, eritrocitne konstante (MCH, MCHC, MCV) te diferencijalna krvna slika. Diferencijalna krvna slika služi za diferencijaciju leukocita koje se proizvode u koštanoj srži ili limfnim tkivima i organima. Dije se na limfocite, granulocite i monocite. Granulociti se sastoje od podskupina eozinofila, bazofila i neutrofila.

Na analizatoru Tosoh G8, odredila se koncentracija HbA1C u uzorku pune krvi. Koristila se HPLC metoda (tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti) ionsko izmjenjivačka kromatografija gdje dolazi do razdvajanja neglikiranog i glikiranog hemoglobina na temelju različitih električnih naboja.

Prikupljeni su i uzorci urina kako bi se odredile koncentracije lipokalina povezanog s neutrofilnom želatinazom (NGAL). Analizator Abbott Alinity i koristio se za određivanje koncentracije NGAL-a kemiluminiscentnom metodom. Alinity test i set reagensa za NGAL u urinu koristi mikročestice obložene monoklonskim antitijelima za detekciju NGAL-a. Radi se o imunotestu u dva koraka za kvantitativno otkrivanje NGAL-a u ljudskom urinu korištenjem tehnologije imunološkog testa kemiluminiscentnih mikročestica. Uzorak i pufer za ispiranje se kombiniraju kako bi se dobilo razrjeđenje uzorka 1:10. Alikvot prethodno razrijeđenog uzorka, pufera za ispiranje i anti-NGAL obloženih paramagnetskih mikročestica se kombinira i inkubira. NGAL prisutan u uzorku veže se na mikročestice obložene anti NGAL. Smjesa se ispere. Dodaje se konjugat obilježen anti NGAL akridinijem kako bi se stvorila reakcijska smjesa koja se potom inkubira.

Nakon ciklusa pranja koje slijedi nakon inkubacije dodaju se otopine za prethodno aktiviranje (Pre-Trigger i Trigger Solutions). Rezultirajuća kemiluminiscentna reakcija mjeri se kao relativne svjetlosne jedinice (RLUs). Postoji odnos između količine NGAL u uzorku i RLUs-ova koje je izmjerila optika sustava, koja se očita iz kalibracijske krivulje napravljene tijekom postupka umjeravanja reagensa.

Interval mjerenja definiran je kao raspon vrijednosti u ng/mL, koji zadovoljava granice prihvatljive izvedbe za linearnost, nepreciznost i pristranost. Interval mjerenja testa Alinity i NGAL u urinu je 10,0 do 1500,0 ng/mL.

4. REZULTATI

Prosječna dob ispitivane populacije bila je $66,8 \pm 9,4$ godina. Skupina bolesnika s teškim oblikom NPDR nije se razlikovala u temeljnim karakteristikama u odnosu na skupinu s umjerenim oblikom NPDR osim u vidnoj oštini ($0,46$ ($0,11$ - $0,75$) LogMAR vs. $0,65$ ($0,21$ - $0,89$) LogMAR, $p = 0,032$) i CST-u (354 (281 - 401) μm vs. 394 (324 - 470) μm , $p = 0,003$).

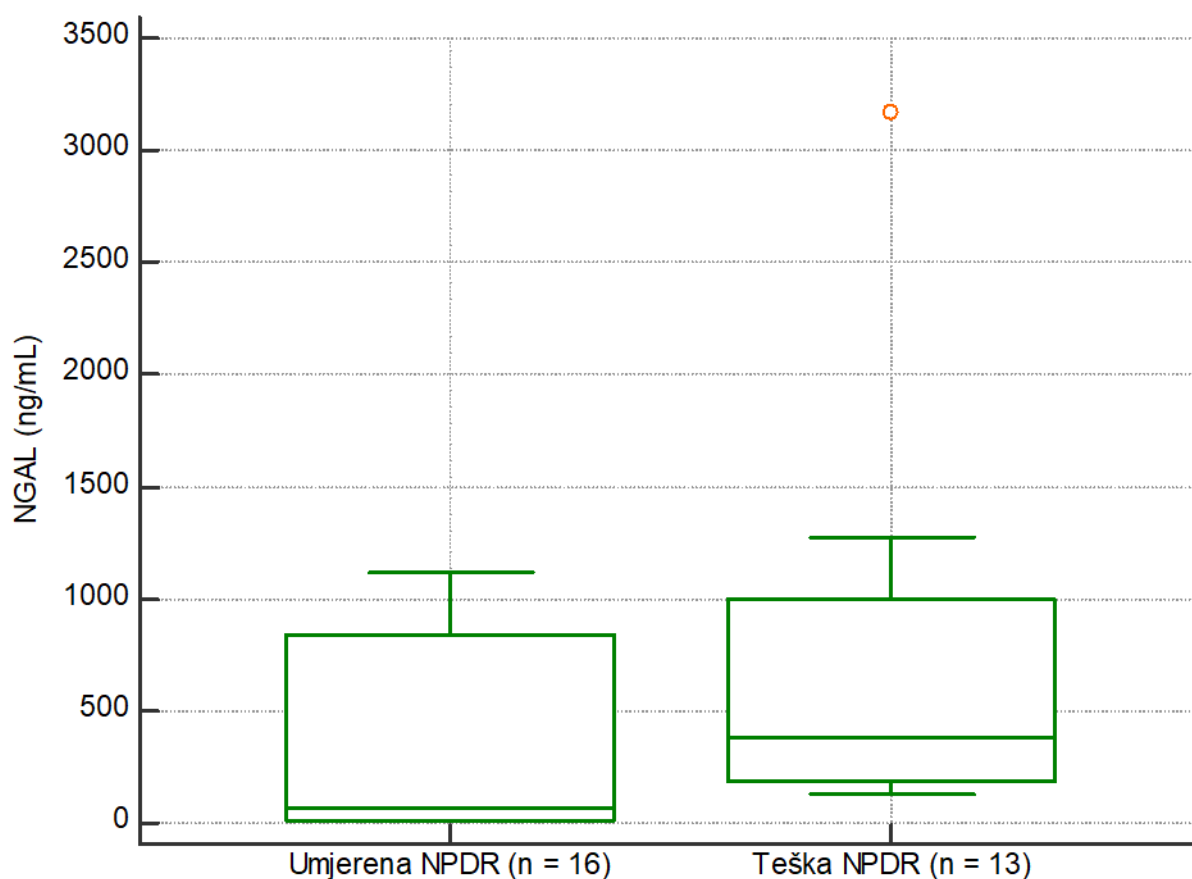
Tablica 2. Temeljne karakteristike ispitivane populacije.

Parametar	Ukupna populacija (n = 29)	Umjerena NPDR (n = 16)	Teška NPDR (n = 13)	p^*
Dob (godine)	$66,8 \pm 9,4$	$67,2 \pm 8,1$	$67,1 \pm 9,9$	0,745
Ženski spol, n (%)	12 (41,4)	8 (50,0)	4 (30,8)	0,304
Pušenje, n (%)	20 (25,6)	4 (25,0)	5 (38,5)	0,444
Duljina trajanja šećerne bolesti (godine)	$17,5 \pm 11,2$	$17,6 \pm 10,1$	$17,3 \pm 10,3$	0,758
Hipertenzija, n (%)	12 (41,4)	8 (50,0)	4 (30,8)	0,304
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	$68,4 \pm 24,4$	$67,4 \pm 22,4$	$67,9 \pm 24,6$	0,832
Indeks tjelesne mase (kg/m ²)	27,1 (24,5-29,7)	26,6 (24,1-30,2)	27,3 (24,9-30,2)	0,223
HbA1c (%)	7,5 (6,5-8,8)	7,6 (6,5-8,7)	7,5 (6,3-8,2)	0,455
Neutrofili (x 10 ⁹ /L)	$4,7 \pm 1,3$	$4,3 \pm 1,1$	$4,5 \pm 1,3$	0,554
Limfociti (x 10 ⁹ /L)	$2,2 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,9$	$2,1 \pm 0,5$	0,395
Monociti (x 10 ⁹ /L)	$0,45 \pm 0,21$	$0,49 \pm 0,10$	$0,52 \pm 0,21$	0,466
NLR	2,0 (1,7-2,8)	2,0 (1,6-2,3)	2,1 (1,7-2,9)	0,524
MLR	0,23 (0,18-0,30)	0,24 (0,17-0,29)	0,26 (0,19-0,39)	0,334
Terapija, n (%)				
Statini	16 (55,2)	11 (68,7)	5 (38,5)	0,109
Oralni antidiijabetici	22 (75,9)	12 (75,0)	10 (76,9)	0,906
Inzulin	14 (52,6)	7 (43,7)	7 (53,8)	0,595
SGLT2 inhibitori	7 (24,1)	3 (18,8)	4 (30,8)	0,460
BCVA (logMAR)	0,52 (0,20-0,70)	0,46 (0,11-0,75)	0,65 (0,21-0,89)	0,032

CST (μm)	374 (293-440)	354 (281-401)	394 (324-470)	0,003
----------	---------------	---------------	---------------	-------

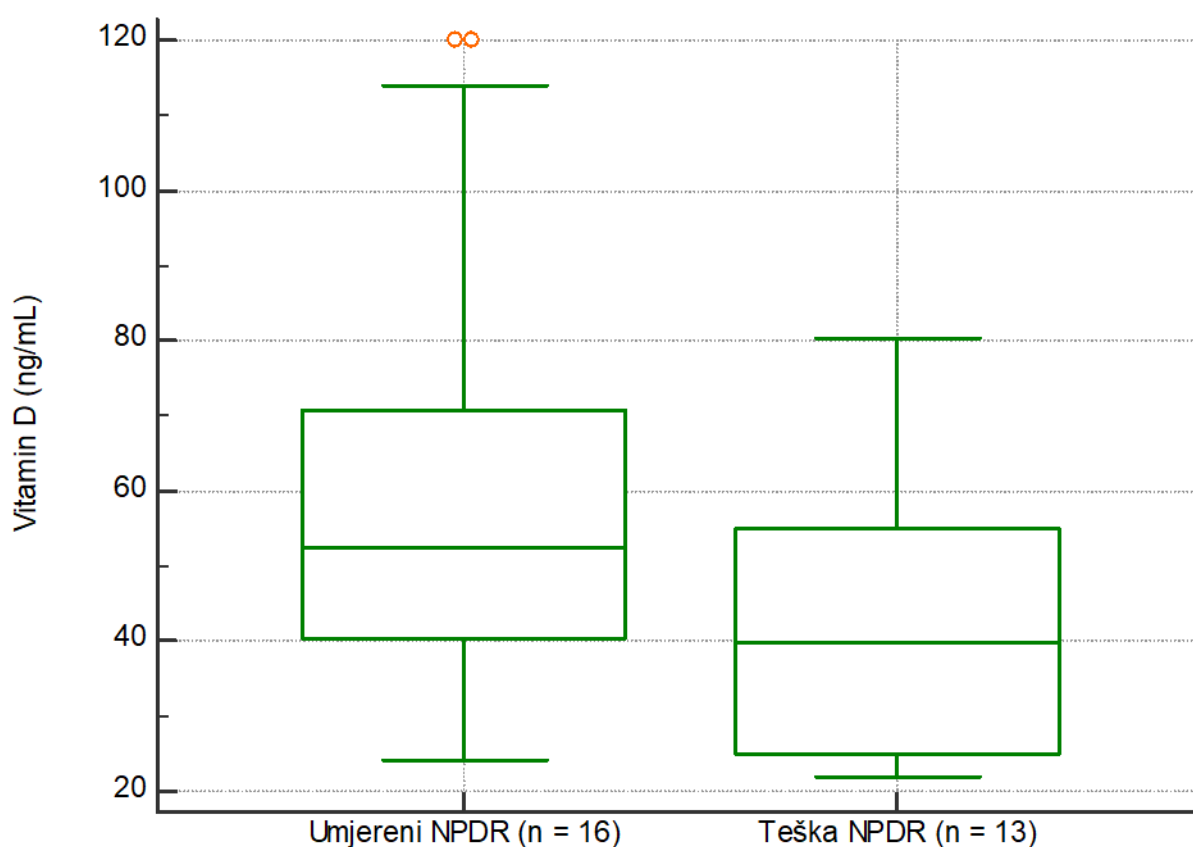
Podaci su prikazani kao n (%), medijan (intervartilni raspon) ili srednja vrijednost ± standardna devijacija *Hi kvadrat test, Studentov t-test ili Mann-Whitney U test. Kratice: HbA1c: hemoglobin A1c; NPDR: neproliferativna dijabetička retinopatija; NLR: omjer neutrofila i limfocita (engl. neutrophil to lymphocyte ratio); MLR: omjer monocita i limfocita (engl. monocyte to lymphocyte ratio); SGLT2: natrij-glukoza kotransporter 2 (engl. sodium glucose cotransporter 2); BCVA: oštrina vida (engl. best corrected visual acuity); CST: prosječna debljina makule (engl. central subfield thickness).

Koncentracije NGAL-a bile su značajno veće u bolesnika s teškim oblikom NPDR-a u odnosu na bolesnike s umjerenim oblikom NPDR-a (62,5 (10,0-841,0) ng/mL vs. 377,0 (180,8-1000,3) ng/mL, $p = 0,020$) (Slika 2).



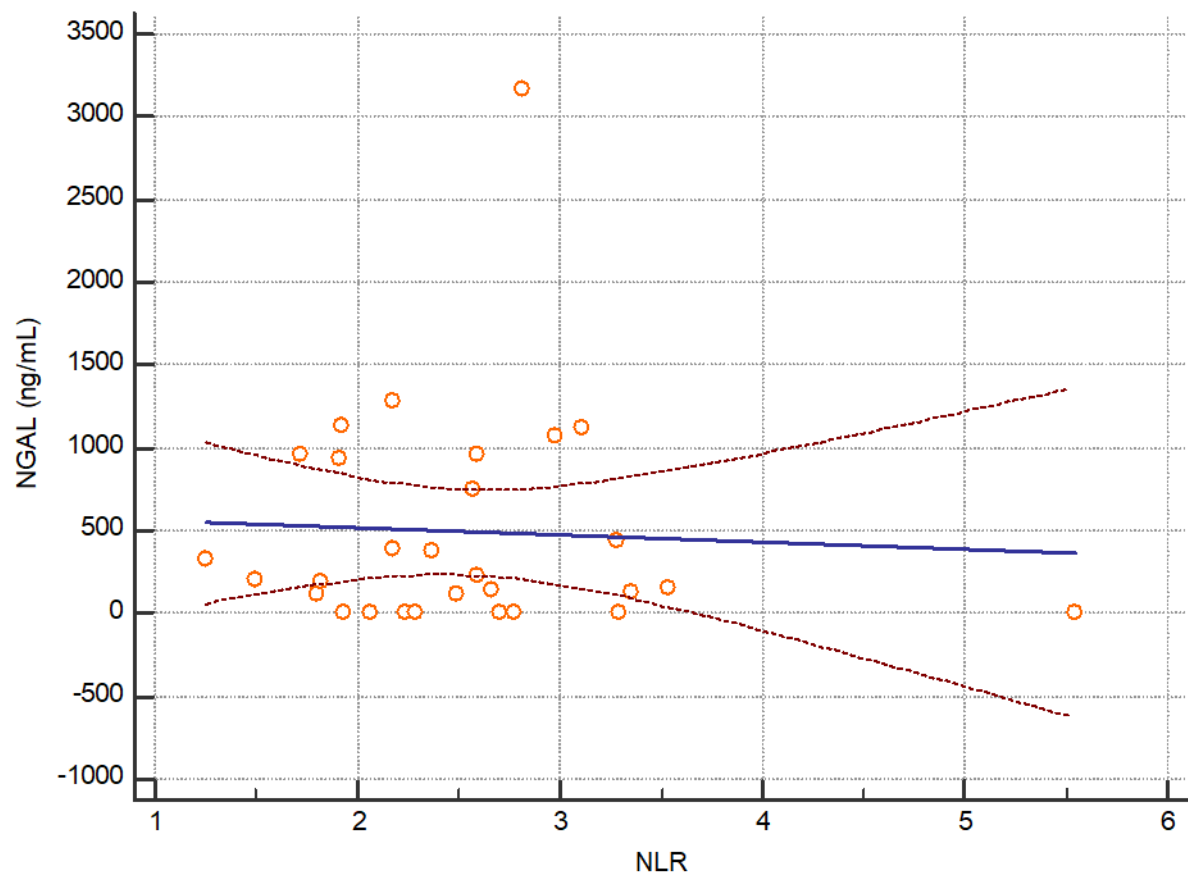
Slika 2. Usporedba koncentracija NGAL-a u urinu između bolesnika s umjerenom i teškom NPDR. Kratice: NPDR: neproliferativna dijabetička retinopatija. * Mann-Whitneyev U test

Koncentracije vitamina D bile su značajno veće u bolesnika s umjerenim NPDR-om u odnosu na bolesnike s teškim oblikom NPDR-a (57,0 (39,8-71,3) nmol/L vs. 42,4 (25,4-69,9) nmol/L, $p = 0,006$) (Slika 3).



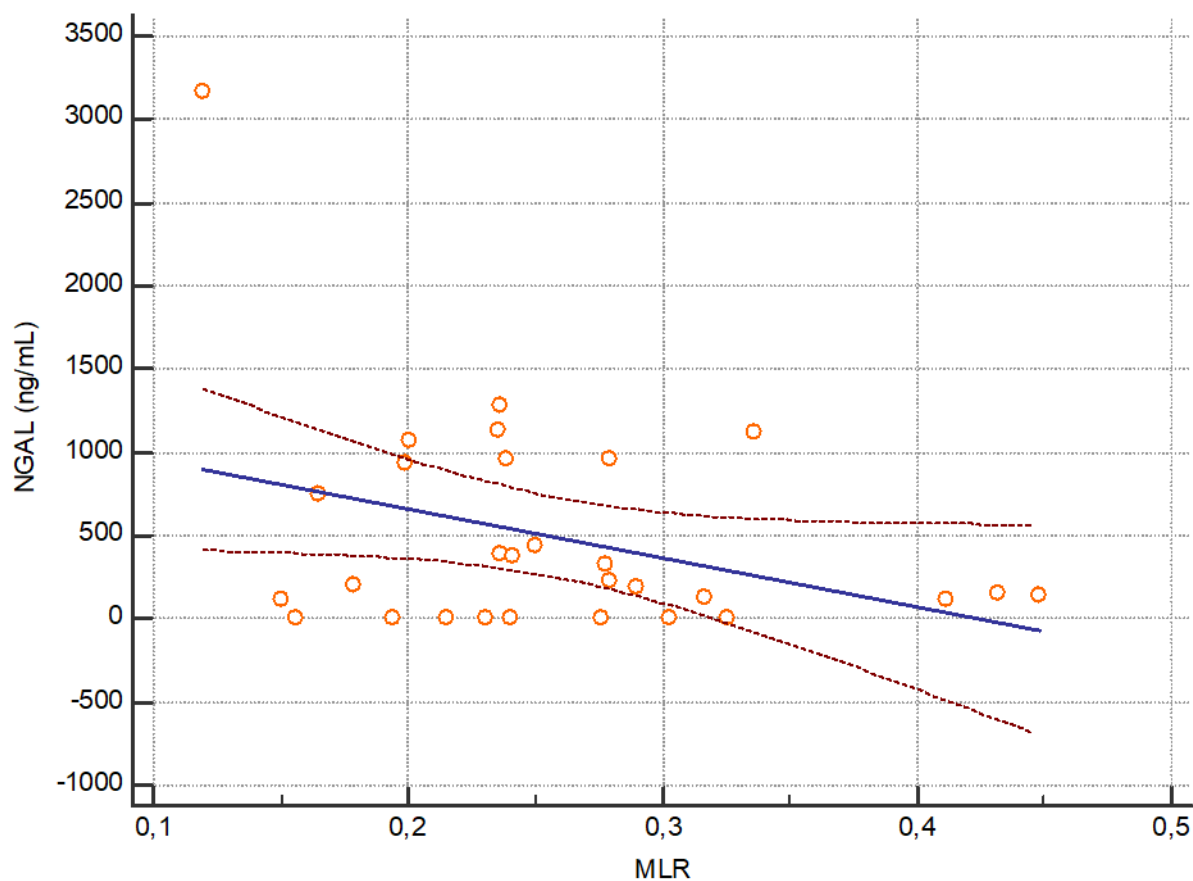
Slika 3. Usporedba koncentracija vitamina D između bolesnika s umjerenom i teškom NPDR. Kratice: NPDR: neproliferativna dijabetička retinopatija. * Mann-Whitneyev U test

Nije utvrđena korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i NLR-a ($r = -0,105$, $p = 0,588$) (Slika 4).



Slika 4. Korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i NLR-a. NLR: omjer neutrofila i limfocita (engl. neutrophil to lymphocyte ratio). * Spearmanov korelacijski koeficijent

Nije utvrđena korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i MLR-a ($r = -0,135$, $p = 0,486$) (Slika 5).



Slika 5. Korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i MLR-a. MLR: omjer monocita i limfocita (engl. monocyte to lymphocyte ratio). * Spearmanov korelacijski koeficijent

5. RASPRAVA

Različita istraživanja identificirala su NGAL kao osjetljiv marker za uspostavljanje dijagnoze dijabetičke nefropatije i retinopatije.

U našem istraživanju ispitanicima je uzet uzorak urina kako bi utvrdili koncentracije NGAL-a. Rezultati su pokazali kako su koncentracije NGAL-a bile značajno veće u bolesnika s teškim oblikom NPDR-a u odnosu na bolesnike s umjerenim oblikom NPDR-a (62,5 (10,0-841,0) ng/mL vs. 377,0 (180,8-1000,3) ng/mL, $p = 0,020$).

Studija Chung J. i sur. za cilj je imala procijeniti odnos između razina NGAL-a i dijabetičke retinopatije u bolesnika s dijabetesom tipa 2. Srednje razine NGAL-a u plazmi značajno su se razlikovale prema težini dijabetičke retinopatije (bez dijabetičke retinopatije, 120,8 ng/ml; NPDR, 217,8 ng/ml; PDR, 372,4 ng/ml) što je sukladno i s rezultatima našeg istraživanja. (28)

Nadalje, rezultati ovog istraživanja ukazali su da su koncentracije vitamina D bile značajno veće u bolesnika s umjerenim NPDR-om u odnosu na bolesnike s teškim oblikom NPDR-a (57,0 (39,8-71,3) nmol/L vs. 42,4 (25,4-69,9) nmol/L, $p = 0,006$).

Luo BA. i sur. proučavali su povezanost između nedostatka vitamina D i dijabetičke retinopatije kod pacijenata s dijabetesom tipa 2 meta-analizom opservacijskih studija. Provedeno je sustavno pretraživanje literature na Pubmedu, Medlineu i EMBASE-u. Uključeno je petnaest opservacijskih studija koje su uključivale 17 664 ispitanika. U ovoj meta-analizi, pacijenti s dijabetesom tipa 2 s nedostatkom vitamina D (serumske razine 25(OH)D <20 ng/mL) imali su značajno povećan rizik od DR (omjer izgleda (OR) = 2,03, 95% intervali pouzdanosti (CI): 1,07, 3,86) i očito smanjenje od 1,7 ng/mL (95% CI: -2,72, -0,66) u vitaminu D u serumu. Zaključno, dokazi iz

ove meta-analize ukazuju na povezanost između nedostatka vitamina D i povećanog rizika od dijabetičke retinopatije u bolesnika s dijabetesom tipa 2. (22)

Istraživanje Nadri G. i sur. ispitivalo je korelaciju između razine vitamina D u serumu i težine dijabetičke retinopatije u bolesnika sa šećernom bolešću tipa 2 te su također zaključili da niske razine vitamina D u serumu koreliraju s povećanom težinom dijabetičke retinopatije. (23)

Oba istraživanja sa svojim rezultatima podudaraju se s rezultatima našeg istraživanja.

Omjer monocita i limfocita (MLR) je apsolutni broj monocita podijeljen s apsolutnim brojem limfocita, a omjer neutrofila i limfocita (NLR) je apsolutni broj neutrofila podijeljen s apsolutnim brojem limfocita.

Novi dokazi upućuju na to da su MLR i NLR novi potencijalni markeri upalnih odgovora.

Cilj istraživanja El Tawab SS i sur. bio je ispitati NLR kao biomarkera za otkrivanje pretkliničke retinopatije u bolesnika s dijabetesom tipa 2. Došli su do zaključka da je omjer neutrofila i limfocita pouzdan marker za otkrivanje predkliničke dijabetičke retinopatije s dobrom osjetljivošću (89,29%) i specifičnošću (84,37%). Pronalaženje pouzdanog dostupnog laboratorijskog testa za predviđanje PDR moglo bi pomoći u prevenciji dijabetičara od ozbiljnih očnih komplikacija. (26)

S rezultatima prethodno navedenog istraživanja sukladni su i rezultati studije Abdullah M. koja je provedena kako bi se usporedio omjer neutrofila i limfocita (NLR) među pacijentima sa dijabetes melitusom tipa 2 sa i bez dijabetičke retinopatije. Utvrđeno je da je broj bijelih krvnih stanica te broj neutrofila i limfocita kao i omjer neutrofila i limfocita (NLR) statistički značajno različit između skupina bolesnika s dijabetičkom retinopatijom i bolesnika s dijabetesom. Zaključeno je da je NLR učinkovit i stabilan marker

upale te može poslužiti kao važan prediktor u procjeni dijabetičkih retinopatija među slučajevima bolesnika s dijabetesom melitusom tipa 2. (27)

S druge strane, u našem istraživanju nismo utvrdili korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i NLR-a ($r = -0,105$, $p = 0,588$).

Cilj studije Yue S. i sur. bio je procijeniti povezanost između dijabetičke retinopatije i MLR i NLR. Proveli su ispitivanje koje je uključivalo 247 pacijenata s dijabetesom tipa 2 (T2DM). Rezultati su pokazali da je prosječni NLR bio značajno viši u bolesnika s DR u usporedbi s pacijentima bez DR. Prosječna vrijednost MLR u skupini NPDR bila je viša nego kod pacijenata bez DR, ali nije bilo značajnih razlika između tri skupine. Logistička regresija pokazala je da je MLR neovisni čimbenik rizika za DR. Zaključili su da je NLR značajno povećan kod bolesnika s DR. Također, utvrđeno je da je MLR faktor rizika za DR. Iako MLR može biti patofiziološki i klinički relevantan u DR, njegova sposobnost predviđanja bila je ograničena. (24)

Nadalje, Wang H. i sur. za cilj su imali istražiti povezanost između MLR i PDR u američkoj populaciji s dijabetesom tipa 2 na temelju DR. Uključeno je ukupno 367 sudionika, među kojima je PDR prevalencija bila 7%. Multivarijantni regresijski modeli otkrili su da je PDR značajno povezan s povećanjem MLR od 0,1 jedinice (prilagođeni OR = 1,46, 95% CI: 1,08-1,96) nakon što su sve kovarijable bile prilagođene. Zaključak je da je MLR značajno povezan s PDR-om kod sudionika s T2DM. Važan dio laboratorijskog nalaza uz kontrolu kliničkih pokazatelja za pacijente s dijabetesom tipa 2 može biti procjena MLR-a. (25)

Suprotno rezultatima navedenih studija, rezultati našeg istraživanja nisu potvrdili korelaciju između koncentracija NGAL-a u urinu i MLR-a ($r = -0,135$, $p = 0,486$) .

Nedostatci i ograničenja ove studije zasnivaju se na činjenici da se temelji samo na rezultatima iz KBC-a Split, odnosno samo jednog kliničkog bolničkog centra, a zbog potencijalno nedostatnog broja uključenih ispitanika neophodno je proširiti i nastaviti istraživanje.

6. ZAKLJUČAK

Zaključci koji proizlaze iz glavnih i sporednih ciljeva istraživanja su sljedeći:

1. Koncentracije NGAL-a bile su značajno veće u bolesnika s teškim oblikom NPDR-a u odnosu na bolesnike s umjerenim oblikom NPDR-a
2. Koncentracije vitamina D bile su značajno veće u bolesnika s umjerenim NPDR-om u odnosu na bolesnike s teškim oblikom NPDR-a
3. Nije utvrđena korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i NLR-a
4. Nije utvrđena korelacija između koncentracija NGAL-a u urinu i MLR-a

Usprkos nedvojbenim rezultatima dosadašnjih istraživanja, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se NGAL potvrdio kao pouzdan i relevantan biomarker za bubrežna oboljenja.

7. LITERATURA

1. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 2008;241:89-94. doi: 10.1080/00365510802150158. PMID: 18569973; PMCID: PMC2528839.
2. Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY, Nalesso F, Lentini P, de Cal M, Corradi V, Virzi G, Ronco C. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol.* 2010 Mar;42(1):141-50. doi: 10.1007/s11255-009-9608-z. Epub 2009 Jul 7. PMID: 19582588.
3. Goyal A, Daneshpajouhnejad P, Hashmi MF, et al. Acute Kidney Injury. [Updated 2023 Feb 19]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441896/>
4. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/kidney-failure/symptoms-causes/syc-20369048>
5. <https://emedicine.medscape.com/article/243492-overview?form=fpf>
6. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet.* 2005 Apr 2-8;365(9466):1231-8. doi: 10.1016/S0140-6736(05)74811-X. PMID: 15811456.
7. Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, Lee HT. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology.* 2006 Sep;105(3):485-91. doi: 10.1097/00000542-200609000-00011. PMID: 16931980.
8. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury.

- J Am Soc Nephrol. 2003 Oct;14(10):2534-43. doi: 10.1097/01.asn.0000088027.54400.c6. PMID: 14514731.
9. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/chronic-kidney-disease/symptoms-causes/syc-20354521>
 10. Mitsnefes MM, Kathman TS, Mishra J, Kartal J, Khoury PR, Nickolas TL, Barasch J, Devarajan P. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2007 Jan;22(1):101-8. doi: 10.1007/s00467-006-0244-x. Epub 2006 Oct 27. PMID: 17072653.
 11. Bolignano D, Coppolino G, Campo S, Aloisi C, Nicocia G, Frisina N, Buemi M. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with severity of renal disease in proteinuric patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008 Jan;23(1):414-6. doi: 10.1093/ndt/gfm541. Epub 2007 Sep 24. PMID: 17893105.
 12. <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/type-1-diabetes/symptoms-causes/syc-20353011>
 13. <https://www.plivazdravlje.hr/bolest-clanak/bolest/28/Dijabetes-tip-1.html>
 14. <https://www.health.harvard.edu/a-to-z/type-2-diabetes-mellitus-a-to-z>
 15. Alicic RZ, Rooney MT, Tuttle KR. Diabetic Kidney Disease: Challenges, Progress, and Possibilities. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017 Dec 7;12(12):2032-2045. doi: 10.2215/CJN.11491116. Epub 2017 May 18. PMID: 28522654; PMCID: PMC5718284.
 16. DeFronzo, RA, Reeves, WB & Awad, AS Patofiziologija dijabetičke bolesti bubrega: utjecaj SGLT2 inhibitora. *Nat Rev Nephrol* 17 , 319-334 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41581-021-00393-8>
 17. <https://www.aoa.org/healthy-eyes/eye-and-vision-conditions/diabetic-retinopathy?sso=y>
 18. https://eyewiki.aao.org/Diabetic_Retinopathy

19. <https://retinalscreenings.com/blog/diabetic-retinopathy-stages/>
20. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56061/>
21. <https://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/vitamin-d/>
22. Luo BA, Gao F, Qin LL. The Association between Vitamin D Deficiency and Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes: A Meta-Analysis of Observational Studies. *Nutrients*. 2017 Mar 20;9(3):307. doi: 10.3390/nu9030307. PMID: 28335514; PMCID: PMC5372970.
23. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/16089677.2021.1903170?scroll=top&needAccess=true&role=tab>
24. Yue S, Zhang J, Wu J, Teng W, Liu L, Chen L. Use of the Monocyte-to-Lymphocyte Ratio to Predict Diabetic Retinopathy. *Int J Environ Res Public Health*. 2015 Aug 21;12(8):10009-19. doi: 10.3390/ijerph120810009. PMID: 26308022; PMCID: PMC4555325.
25. Wang H, Guo Z, Xu Y. Association of monocyte-lymphocyte ratio and proliferative diabetic retinopathy in the U.S. population with type 2 diabetes. *J Transl Med*. 2022 May 13;20(1):219. doi: 10.1186/s12967-022-03425-4. PMID: 35562757; PMCID: PMC9102352.
26. El-Tawab, S.S., Ibrahim, I.K., Megallaa, M.H. et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as a reliable marker to predict pre-clinical retinopathy among type 2 diabetic patients. *Egypt Rheumatol Rehabil* 50, 11 (2023). <https://doi.org/10.1186/s43166-023-00177-x>
27. Abdullah M , Comparative study on neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) among diabetic cases with and without diabetic retinopathy. *Indian J Clin Exp Ophthalmol* 2021;7(1):153-156
28. Chung JO, Park SY, Cho DH, Chung DJ, Chung MY. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels are positively associated with diabetic retinopathy in patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*. 2016 Dec;33(12):1649-1654. doi: 10.1111/dme.13141. Epub 2016 May 22. PMID: 27100138.

29. <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin>
30. [https://www.kidneyfund.org/all-about-kidneys/tests/blood-test-egfr#:~:text=eGFR%20\(estimated%20glomerular%20filtration%20rate\)%20is%20a%20measure%20of%20how,%2C%20sex%2C%20and%20body%20type.](https://www.kidneyfund.org/all-about-kidneys/tests/blood-test-egfr#:~:text=eGFR%20(estimated%20glomerular%20filtration%20rate)%20is%20a%20measure%20of%20how,%2C%20sex%2C%20and%20body%20type.)

ZAHVALA

Zahvaljujem svojoj mentorici, doc. dr. sc. Daniela Šupe – Domić na nesebičnoj pomoći, strpljenju, svim konstruktivnim kritikama i savjetima.

ŽIVOTOPIS

OSOBNİ PODACI

Ime i prezime	Tina Domazet
Adresa	Domovinskog rata 10, 21210, Solin, Hrvatska
Telefonski broj	099 676 9843
E-mail	tinadomazet1899@gmail.com
Državljanstvo	Hrvatsko
Datum rođenja	01. kolovoza 1999.
Spol	Ž

OBRAZOVANJE

Fakultet 2018. - 2021.	Sveučilišni odjel zdravstvenih studija - Split Preddiplomski studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika
Srednja škola 2014. - 2018.	IV. gimnazija Marko Marulić – Split (opća gimnazija)
Osnovna škola 2006. - 2014.	Osnovna škola kraljice Jelene – Solin

OSOBNİ VJEŠTINE I KOMPETENCIJE

Materinski jezik	Hrvatski
Drugi jezici	Engleski Talijanski Francuski
Računalne vještine i kompetencije	Microsoft Office paket, Internet
Vozačka dozvola:	B kategorija
Ostali interesi:	Dugogodišnja plesačica i voditeljica dječje plesne grupe u KUD-u Salona Prodavačica u HNK Hajduk Fan Shop