VALJANOST ODREĐIVANJA MOKRAĆNOG LIPOKALINA POVEZANOGA S NEUTROFILSKOM GELATINAZOM U DIJAGNOSTICI AKUTNOG PIJELONEFRITISA U DJECE

Arambašić, Jadranka

Doctoral thesis / Disertacija

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:831237

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-19**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Medicine Osijek

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Jadranka Arambašić

VALJANOST ODREĐIVANJA MOKRAĆNOG LIPOKALINA POVEZANOGA S NEUTROFILSKOM GELATINAZOM U DIJAGNOSTICI AKUTNOG PIJELONEFRITISA U DJECE

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.g.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Jadranka Arambašić

VALJANOST ODREĐIVANJA MOKRAĆNOG LIPOKALINA POVEZANOGA S NEUTROFILSKOM GELATINAZOM U DIJAGNOSTICI AKUTNOG PIJELONEFRITISA U DJECE

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.g.

Mentor rada: prof.dr.sc. Jerko Barbić, dr. med.

Rad ima 86 stranica.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentoru prof.dr.sc. Jerku Barbiću na pomoći pri izradi ovog rada.

Zahvaljujem se posebno i doc.dr.sc. Sanji Mandić na ideji i sudjelovanju u nastanku ovog rada.

Posebna zahvala prof.prim.dr.sc. Silviji Pušeljić na stručnoj i tehničkoj podršci u pisanju ovog rada.

Posebno se zahvaljujem i svim kolegicama i kolegama te medicinskim sestrama Klinike za pedijatriju na velikoj pomoći u prikupljanju podataka i nalaza, te zbrinjavanju naših malih pacijenata.

Na kraju se zahvaljujem i mojoj dragoj kćerki Jeleni, koja mi je bila najveća podrška u pisanju rada.

SADRŽAJ

SADRŽAJ I
1. UVOD 1
1.1. Infekcije mokraćnog sustava 1
1.1.1. Epidemiologija infekcija mokraćnog sustava 1
1.1.2. Etiologija i patogeneza 2
1.1.3. Podjela infekcija mokraćnog sustava 6
1.1.4. Akutni pijelonefritis 6
1.2. Dijagnostičke metode u infekcijama mokraćnog sustava 7
1.2.1. Klinička obilježja infekcije mokraćnog sustava 8
1.2.2. Laboratorijska obilježja infekcije mokraćnog sustava 9
1.3. Slikovne pretrage u dijagnostici infekcije mokraćnog sustava 13
1.3.1. Ultrazvuk 13
1.3.2. Nuklearno medicinska dijagnostika infekcije mokraćnog sustava 14
1.4. Nove dijagnostičke pretrage za dijagnozu akutnog pijelonefritisa 16
1.4.1. Biomarkeri u nefrologiji 16
1.4.2. Lipokalini 18
1.4.3. Lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom (NGAL) 18
1.4.4. NGAL kao biomarker oštećenja bubrega 20
1.4.5. NGAL kao biomarker infekcije mokraćnog sustava 21
2. HIPOTEZA 23
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA 24
3.1. Glavni cilj istraživanja: 24
3.2. Sekundarni ciljevi istraživanja: 24
4. ISPITANICI I METODE 25
4.1. Ustroj studije 25
4.2. Ispitanici 25
4.3. Metode 27
4.4. Statističke metode obrade podataka 31

5. REZULTATI 31
5.1. Opća obilježja ispitanika 32
5.2. Razdioba ispitanika prema izoliranoj bakteriji u mokraći 33
5.3. Razdioba ispitanika prema nalazu leukociturije u sedimentu mokraće 34
5.4. Usporedba nalaza C reaktivnog proteina, NGAL-a iz mokraće, prokalcitonina i leukocita između ispitivane i kontrolne skupine 35
5.5. Rezultati nalaza statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA 39
5.6. Nalazi ultrazvuka mokraćnog sustava djece ispitivane skupine 40
5.7. Vrijednost čimbenika upale kod akutnog pijelonefritisa 40
5.8. Uloga ispitivanih čimbenika u razlučivanju skupine s AP-om i kontrolne skupine (ROC analiza) 42
6. RASPRAVA 44
6.1. Opća obilježja ispitanika 44
6.2. Nalazi statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA djece s akutnim pijelonefritisom 51
6.3. Nalazi ultrazvuka mokraćnog sustava kod djece s akutnim pijelonefritisom 53
6.4. Biomarker uNGAL u dijagnozi akutnog pijelonefritisa 54
6.5. Usporedba nalaza biomarkera uNGAL-a, C reaktivnog proteina, prokalcitonina i leukocita u serumu između ispitivane i kontrolne skupine 60
7. ZAKLJUČCI 66
8. SAŽETAK 67
9. SUMMARY 69
10. LITERATURA 71
11. ŽIVOTOPIS 86

POPIS SKRAĆENICA

Skraćenica	Opis skraćenice
IMS	infekcija mokraćnog sustava
AP	akutni pijelonefritis
CRP	C reaktivni protein
PCT	prokalcitonin
TLR	*Toll-like* receptori
IL-6	interleukin-6
IL-8	interleukin-8
IL-18	interleukin-18
UZ	ultrazvuk
L	leukociti u serumu
ABU	asimptomatska bakteriurija
VUR	vezikoureteralni refluks
Tc-99m DMSA	tehnecij-99mm dimerkaptojantarna kiselina (eng. *technecium-99m dimercaptosuccinic acid*)
Cfu/ml	broj bakterija koje formiraju kolonije u ml mokraće (eng. *colony-forming units per mililiter)*
SPA	suprapubična aspiracija (eng. *suprapubic aspiration)*
NGAL	lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom (eng. *neutrophil gelatinase associated lipocalin)*
uNGAL	lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom u mokraći (eng. *urinary* n*eutrophil gelatinase associated lipocalin)*
UPEC	uropatogena E.coli
UP	uroplakin
AOB	akutno oštećenje bubrega
CXCR	kemokinski receptor (eng. *chemokine receptor*)

POPIS SLIKA

Slika 1.1. Uredan ultrazvučni izgled bubrega 14

Slika 1.2. Ultrazvučni izgled upalno izmijenjenog bubrega 14

Slika 1.3. Smanjeno nakupljanje radiofarmaka u gornjem polu lijevog bubrega (upala).....15

Slika 5.1. Ultrazvučni nalaz mokraćnog sustava djece s akutnim pijelonefritisom.....40

Slika 5.2. ROC analiza senzitivnosti, specifičnosti i graničnih vrijednosti za promatrane upalne čimbenike s obzirom na kliničku sliku akutnog pijelonefritisa.....43

POPIS TABLICA

Tablica 5.1. Razdioba djece ispitivane i kontrolne skupine prema spolu 32

Tablica 5.2. Razdioba djece ispitivane i kontrolne skupine prema dobi.....33

Tablica 5.3. Razlike u dobi ispitanika u odnosu na skupine 33

Tablica 5.4. Raspodjela ispitanika prema vrsti izoliranog uzročnika 34

Tablica 5.5. Raspodjela ispitanika prema nalazu sedimenta mokraće 35

Tablica 5.6. Razlike u upalnim parametrima u odnosu na ispitivanu i kontrolnu skupinu.. 36

Tablica 5.7. Raspodjela ispitanika prema nalazu leukocita u serumu.....36

Tablica 5.8. Međusobna povezanost uNGAL-a i čimbenika upale.....37

Tablica 5.9. Razlike u vrijednostima uNGAL-a u odnosu na spol 38

Tablica 5.10. Razlike u vrijednostima uNGAL-a prema dobnim skupinama.....38

Tablica 5.11. Usporedba nalaza statičke scintigrafije bubrega s nalazima uNGAL-a i prokalcitonina kod djece s akutnim pijelonefritisom 39

Tablica 5.12. Predviđanje vjerojatnosti potvrde dijagnoze akutnog pijelonefritisa bivarijatnom regresijskom analizom 41

Tablica 5.13. Predviđanje vjerojatnosti potvrde dijagnoze akutnog pijelonefritisa multivarijatnom regresijskom analizom.....41

Tablica 5.14. Parametri ROC krivulje promatranih upalnih čimbenika s obzirom na kliničku sliku akutnog pijelonefritisa.....42

1. UVOD

1.1. Infekcije mokraćnog sustava

Mokraćni je sustav, izuzev distalnog dijela uretre, primarno sterilan. Prodor bakterija, virusa i gljivica može uzrokovati infekciju mokraćnog sustava (IMS). Ona može biti ograničena samo na mokraćni mjehur i uretru ili zahvatiti parenhim bubrega (1, 2). IMS su značajni uzrok pobola s mogućim trajnim posljedicama i jedan su od najčešćih razloga primjene antimikrobnih lijekova. To je heterogena skupina bolesti s obzirom na dob, spol, kliničku sliku, lokalizaciju upale i s obzirom na prisutnost anomalija mokraćnog sustava (2-4). Infekcije mokraćnog sustava mogu biti simptomatske ili asimptomatske. Ponekad je samo prva infekcija simptomatska, a druge prolaze bez simptoma ili s vrlo malo simptoma. To je vrlo važno znati u patogenezi bolesti jer i asimptomatske IMS mogu uzrokovati bubrežno oštećenje (1, 5, 6). Infekcija mokraćnog sustava, neovisno o dobi i spolu, ukazuje na moguću anomaliju mokraćnog sustava ili patološki proces koji ometa otjecanje mokraće jer je uočeno da trećina djece s IMS-om ima anomaliju mokraćnog sustava (1, 7, 8, 9).

1.1.1. Epidemiologija infekcija mokraćnog sustava

Najviše prvih infekcija dogodi se tijekom dojenačke dobi. Što je dijete starije, manja je vjerojatnost pojave IMS-a (1, 2, 10). Ukupni je rizik za djevojčice 3-5 %, a za dječake 1-2 % (2-6). U novorođenačkoj je dobi učestalost veća kod muške djece nego kod ženske u odnosu od 2,8:1 do 5,4:1. Muška djeca u novorođenačkoj dobi sklonija su sepsi i imaju veću učestalost kongenitalnih anomalija mokraćnog sustava (3, 5, 10). U dobi od jedan mjesec do prve godine života incidencija simptomatske infekcije u ženske djece je 1,2 %, u muške 1 %, a u dobi od 1 do 7 godine incidencija je 7,8 % za djevojčice i 1,6 % za dječake (1, 10). Podaci iz literature ukazuju da učestalost mokraćnih infekcija raste. Smatra se da je, zbog nespecifične kliničke slike i prikrivenog kliničkog tijeka bolesti, stvarna učestalost IMS-a u dječjoj dobi nepoznanica (2, 7, 8, 9). Infekcija se osobito često ponavlja u djevojčica. U prvoj godini nakon preboljele

infekcije, ponovno će oboljeti 30 % djevojčica, a od njih će čak 60 % oboljeti i tijekom sljedeće godine. Po drugi put oboljet će 15 - 20 % dječaka (11, 12, 13).

1.1.2. Etiologija i patogeneza

IMS najčešće nastaju ascendentnim putem, dok je u novorođenčadi češća hematogena infekcija (1, 5, 12). Uzročnici su u više od 90 % slučajeva bakterije crijevne flore, tj. Gram-negativne bakterije. One koloniziraju perineum i vanjsko ušće mokraćne cijevi te tako mogu prodrijeti u mokraćni mjehur i gornji dio mokraćnog sustava (10, 14). Bakterija *Escherichia coli (E. coli)* uzrokuje upalu mokraćnog sustava u više od 80 % slučajeva (3, 10, 12). Od ostalih bakterija najčešći uzročnici su *Klebsiella spp, Proteus species, Proteus mirabilis* te bakterije iz roda *Pseudomonas* (10, 14). Zadnje navedene izoliraju se češće u djece s opstrukcijskim anomalijama mokraćnog sustava, dok se *Proteus mirabilis* češće izolira kod dječaka starijih od godinu dana (1). Gram-pozitivne bakterije rjeđe uzrokuju upalu mokraćnog sustava, svega u oko 5 % slučajeva. Najčešći uzročnik je *Enterococcus spp*, dok β-hemolitički streptokok serološke grupe B (*Streptococcus agalactiae*) uzrokuje upalu u novorođenčadi.

Znanje o tome koje su bakterije češće u određenim dobnim skupinama djece važno je pri izboru odgovarajućeg antimikrobnog liječenja jer akutne IMS u nekim slučajevima treba početi liječiti odmah nakon uzimanja uzorka mokraće za izolaciju mikroorganizama. Posljedice odgođenog ili neodgovarajućeg liječenja mogu biti trajno ožiljčenje bubrega te kasne komplikacije kao što su hipertenzija i kronično zatajenje bubrega (2, 10, 12).

U patogenezi IMS-a odlučujuću ulogu ima intereakcija virulentnosti uzročnika, obrambene reakcije domaćina i rizični čimbenici (10, 14, 15). Uredan protok mokraće od bubrega prema mokraćnoj cijevi, učestalost mokrenja i uredna urodinamika obrambeni su čimbenici mokraćnog sustava. Rizični čimbenici su: novorođenačka i dojenačka dob zbog slabije razvijenog imunosnog sustava, fimoza u muške djece, opstipacija, funkcijski poremećaji mokraćnog sustava, opstrukcijski poremećaji mokraćnog sustava, sistemske bolesti kao što su šećerna bolest te bolesti s oslabljenim imunosnim sustavom (10, 11, 12). Upala mokraćnog sustava u dječjoj dobi može biti rana klinička manifestacija kongenitalnih anomalija bubrega i

mokraćnog sustava (eng. *congenital anomalies of the kidney and urinary tract; CAKUT*) (16). Anomalije koje otežavaju normalan tok mokraće i pogoduju razvoju IMS-a su: opstrukcija pijeloureteričnog vrata, opstrukcija vezikoureteralnog spoja, ektopični ureter, ureterokela, valvula stražnje uretre, a funkcionalni uzroci su vezikoureteralni refluks (VUR) i neurogeni mjehur (9, 10, 14, 16, 17). IMS koja je povezana s urođenim anomalijama pokazuje težu kliničku sliku bez obzira na dob djeteta.

Novija istraživanja ukazuju na povezanost genetskih čimbenika rizika s pojavom IMS-a, tako je u nekim obiteljima uočena značajno veća učestalost nastanka upale mokraćnog sustava (24, 29). U evidenciji podataka o nastanku bolesti često se registrira pozitivna obiteljska anamneza za IMS i anomalije mokraćnog sustava, najčešće VUR (10-12). Važnu ulogu u nastanku IMS-a imaju i mutacije gena domaćina s posljedičnom sniženom ekspresijom tzv. staničnih receptora na površini makrofaga (eng. *toll like receptor*, TLR) (24, 31). TLR-i imaju značajan utjecaj u prirođenim obrambenim mehanizmima i u specifičnom imunosnom odgovoru. Oni su proteini koji omogućuju prepoznavanje struktura bakterija, virusa, protozoa i gljivica, a izraženi su na površini uroepitelnih stanica mokraćnog mjehura (13, 24). TLR-i također prepoznaju ligande koji nastaju razaranjem stanica u upalnim i stresnim reakcijama. Vezivanjem liganda i TLR-a aktivira se niz signalnih puteva što rezultira akutnim odgovorom domaćina u eliminaciji patogena. TLR2 i TLR4 glavni su receptori za prepoznavanje različitih dijelova bakterijske stijenke. TLR4 prepoznaje lipopolisaharid koji je prisutan u mnogim Gram-negativnim bakterijama i nekim Gram-pozitivnim bakterijama (31, 32). Uočeno je da su genetske promjene, koje smanjuju funkciju TLR4, udružene s pojavom asimptomatske bakteriurije (ABU) o kojoj će kasnije biti riječi (33). Aktivirani TLR4 potiče proizvodnju proupalnih citokina, interleukin-6 (IL-6) i interleukin-8 (IL-8). IL-6, IL-8, kemokinski receptor-1 (eng. *chemokin receptor type 1, CXCR1*) i faktor nekroze tumora-alfa važni su u imunosnom odgovoru domaćina na upalu (32, 35). CXCR tip 1 i CXCR tip 2 prisutni su na epitelnim stanicama mokraćnog sustava i njihova se ekspresija značajno povećava u infekciji. Istraživanja ukazuju kako je uloga CXCR1 receptora značajnija u migraciji neutrofila preko epitelne barijere u lumen. Smanjena ekspresija CXCR1 može uzrokovati pojačanu sklonost nastanka AP-a u djece (29, 34, 35). IL-8 važan je u više staničnih procesa. Osim što tijekom bakterijske upale, zajedno sa CXCR1, usmjerava migraciju neutrofila, također je značajan u rastu i obnovi ljudskih uroepitelnih stanica. Njegova niža ekspresija uzrokuje smrt uroepitelnih stanica i nastanak intersticijskog cistitisa (36).

Godaly i suradnici su 2001. godine zamijetili da se kod miševa s mutacijskom inaktivacijom IL-8 receptora razvija teški oblik akutne upale i oštećenje bubrežnog tkiva. Zbog poremećene migracije, neutrofili se nakupljaju u tkivu i nastaju bubrežni ožiljci (37).

Osim mehanizama obrane domaćina nastanak i klinička slika IMS-a ovisi i o virulencijskim čimbenicima određene bakterije te o njihovom broju i sposobnosti umnožavanja. Među brojnim uropatogenim bakterijama primarni uzročnik IMS-a su uropatogeni sojevi *E. coli* (UPEC). One koje uzrokuju IMS imaju nekoliko virulencijskih čimbenika: adhezine, protektine, toksine i flagele. Najvažniji su adhezini pomoću kojih bakterija prianja na uroepitelne stanice kao prvi korak u nastanku upale (38, 39). Adhezini su smješteni na fimbrijama, a najčešće fimbrije UPEC-a su fimbrije tip 1, P i Dr fimbrije (24, 39). Najrasprostranjenija klasa fimbrija među Gram-negativnim bakterijama je tip 1 fimbrija, čija je biološka uloga vezivanje za sluznicu debelog crijeva. (37, 38, 40, 41). Tip 1 fimbrija imaju svi sojevi *E. coli*, ali ih svi ne ispoljavaju. Smatra se da navedene fimbrije uzrokuju cistitis jer imaju sposobnost vezanja za uroplakin (UP) na luminalnoj površini uroepitelnih stanica mokraćnog mjehura (42). To su proteini stanične membrane koji formiraju uroepitelne plakove na površini svake uroepitelne stanice (13, 42). Neophodni su za pravilno funkcioniranje mokraćnog sustava. Poznata su četiri tipa uroplakina – UPIa, UPIb, UPII, UPIII. Fimbrije tipa 1 vežu se na fragmente manoze glikoproteina uroplakina UPI i tako počinje slijed događaja koji uključuje apoptozu i ljuštenje stanica za koje je bakterija pričvršćena. UPII i UPIII ne sudjeluju u ovoj reakciji vezanja fimbrija tip 1. Taj mehanizam može biti odgovoran za uzlazne infekcije jer je UPI prisutan u svim uroepitelnim plakovima kao i u ureteru i bubrežnoj nakapnici (43). Osim adhezije povezivanje UPEC fimbrija s UPIa/UPIb pokreće invaziju bakterija i stvaranje međustanične populacije bakterija tzv. unutarstanični biofilm (44). On sadrži višestruki broj mikroorganizama koji se brzo umnožava i može biti zaštićen od imunosnog odgovora domaćina. Unutarstanični biofilm vjerojatno je odgovoran za ponavljajuće IMS zbog svoje otpornosti na antibiotike (44, 45).

Prisutnost tzv. P fimbrija izravno je vezano za uropatogenost *E. coli* (13, 24). Receptori za P fimbrije na uroepitelnim stanicama su antigeni u sustavu P krvnih grupa. Zbog varijacije u ispoljavanju receptora, osobe krvne grupe P1 imaju višestruko povećani rizik za AP i ponavljajuće IMS. P fimbrije vežu se za dio glikofosfolipida P krvne grupe, prisutnih u više vrsta ljudskih stanica, osobito na uroepitelnim stanicama, eritrocitima i crijevnom epitelu. P

fimbrije važne su u patogenezi AP-a i prodoru u krvotok (13, 24). Geni koji kodiraju pojavnost P fimbrija nalaze se na bakterijskom kromosomu (24, 38).

Čimbenici virulencije koji se nalaze na površini bakterije su protektini. To su polisaharidi kapsule i lipopolisaharidi koji štite bakteriju od fagocitoze i lize posredovane komplementom (38). Lipopolisaharidi stimuliraju stanice imunosnog sustava na stvaranje i otpuštanje citokina čime se pospješuje upalna reakcija i nekroza stanica (34). Ovakav patogenetski mehanizam izražen je u AP-u u djece s anatomski i funkcionalno zdravim mokraćnim sustavom (13, 24, 41).

Bakterije se pokreću pomoću flagela koje im omogućuju migraciju prema gornjim dijelovima mokraćnog sustava (27, 38). Osim navedenih faktora virulencije neki sojevi *E. coli* izlučuju toksine, kao što su α-hemolizin, citotoksični nekrotizirajući faktor 1 te sekretorni anutotransportni toksin. Najvažniji je α-hemolizin koji u visokim koncentracijama može lizirati eritrocite i stanice s jezgrom. Tako omogućuje bakteriji prolaz kroz mukoznu barijeru te pristup hranjivim tvarima i zalihama željeza. Bakterije za svoj rast iskorištavaju željezo putem siderofora. U niskim koncentracijama α-hemolizin može inducirati apoptozu neutrofila, T-limfocita, bubrežnih stanica te potaknuti ljuštenje epitelnih stanica mokraćnog mjehura. Navedeni hemolizin blokira kalcijeve kanale na cijeloj površini stanice nakon adherencije što dovodi do značajnog smanjenja antibakterijske funkcije uroepitela (13, 24, 42, 45). Oko 50 % slučajeva AP-a uzrokovano je α-hemolizinom (45). Citotoksični nekrotizirajući faktor 1, koji olakšava bakteriji ulaz u stanicu, proizvodi oko 30 % sojeva UPEC-a. Njegova uloga nije sasvim jasna. Smatra se da ometa polimorfonuklearnu fagocitozu i izaziva apoptotičku smrt epitelnih stanica mokraćnog mjehura (46). Sekretorni autotransportni toksin (eng. *secreted autotransporeter toxin*) faktor je virulencije uropatogenih sojeva *E. coli*. To je serinska proteaza koja ima citopatogeno djelovanje na uroepitelne stanice mokraćnog mjehura i bubrega (42).

1.1.3. Podjela infekcija mokraćnog sustava

Prema lokalizaciji razlikujemo upale gornjeg mokraćnog sustava (akutni pijelonefritis) i donjeg mokraćnog sustava (cistitis ili cistouretritis) (1, 6). Manja djeca sklona su širenju upale u cijeli mokraćni sustav i tada se razvija cistopijelonefritis (1, 10, 11, 13). Lokalizacija IMS-a ovisi i o vrsti bakterije jer one koje nemaju izražen virulencijski potencijal češće uzrokuju upalu donjega dijela mokraćnog sustava (13, 14). Bakterije s manjom virulentnošću mogu izazvati akutnu upalu gornjeg dijela mokraćnog sustava uz prisutnost dodatnih čimbenika rizika: VUR, opstrukcijske anomalije, fimoza u muške djece, prethodna širokospektralna antimikrobna terapija te jatrogene manipulacije u mokraćnom sustavu, kao što su kateterizacija i punkcija mokraćnog sustava (1, 11, 13, 14). Ako se IMS razvije uz prisutnost anatomskih anomalija mokraćnog sustava, tada se radi o kompliciranoj IMS (1, 9, 10, 12).

Posebno treba spomenuti ABU (47, 48). Ona podrazumijeva nalaz pozitivnih kultura mokraće istom bakterijom u dva uzastopna uzorka u značajnom broju ≥100.000 bakterija koje formiraju kolonije u ml mokraće (eng. *colony-forming units per mililiter; CFU/ml*), a bez simptoma IMS-a. Sama ABU ne zahtijeva terapiju, ali svakako zahtijeva nefrološku obradu jer se u 20 % - 35 % može očekivati VUR (1, 11, 12). Moguće je da ABU nastaje zbog stečene tolerancije na endotoksine bakterija ili je riječ o infekciji uzrokovanoj L-oblicima bakterija. To su bakterije-protoplasti koje su, zbog gubitka stanične stijenke, manje virulentne, ali imaju sposobnost umnažanja u mokraćnom sustavu (12). Smatra se da polimorfizam gena za TLR4 ili njegova smanjena ekspresija uzrokuje ABU i ponavljajuće IMS (30). Kod antimikrobnog liječenja postoji mogućnost kolonizacije mokraćnog sustava virulentnijom vrstom bakterija i razvoja simptomatske infekcije (4, 10, 12).

1.1.4. Akutni pijelonefritis

Akutni pijelonefritis (AP) upala je parenhima i bubrežnog kanalnog sustava. Kod većine djece pojava AP-a rezultat je intereakcije između virulencijskih čimbenika bakterija i obrambenih mehanizama domaćina, dok kod manjeg broja djece nastaje zbog strukturalnih poremećaja

mokraćnoga sustava. U 30 % slučajeva uzrok upale je VUR, a u oko 5 % opstruktivne uropatije (2, 13, 14, 15). Patoanatomske promjene ovise je li upala nastala ascendentnim ili hematogenim putem. Kod značajno češćeg ascendentnog puta nastaju upalne promjene u sluznici kanalnog sustava. Nakon toga upala se širi u bubrežni parenhim i nastaju segmentalne upalne promjene u meduli šireći se radijalno od papila do korteksa bubrega. U samom početku upale izražena je kongestija i infiltracija intersticija upalnim stanicama, tubuli se ispunjavaju upalnim eksudatom i nekrotiziraju. Posljedično tomu, kasnije mogu atrofirati i nastaje fibroza. Tako patogenetski dolazi do stvaranja ožiljaka u bubrežnom tkivu (13, 49, 50). Akutni upalni odgovor, djelujući tako da odstrani bakterije, odgovoran je i za oštećenje bubrežnog parenhima i naknadno stvaranje ožiljaka. U patogenezi nastanka bubrežnih ožiljaka važna je koordinacija proupalnih i protuupalnih citokina. Nakon što receptor TLR4 prepozna lipopolisaharid iz bakterije, slijedom reakcija aktivira proupalne citokine. To su IL-6 i IL-8, koji dovode do kemotaksije neutrofila. Neutrofili fagocitiraju bakterije oslobađajući reaktivne kisikove radikale. Upalni odgovor mora biti i količinski i vremenski reguliran jer prekomjerno oslobađanje kisikovih radikala dovodi do oštećenja okolnog tkiva. U tome važnu ulogu ima međusobno djelovanje proupalnih i protuupalnih citokina. Protuupalni citokini su interleukin-10 (IL-10) i transformirajući faktor rasta-β1 (*eng. eng. transforming growth factor β1; TGF- β1*) Oni inhibiraju proizvodnju citokina, funkciju mononuklearnih stanica i potiču zacjeljivanje rana. TGF-β1 glavni je regulator u bubrežnoj upali i njegovo otpuštanje prestaje kada je proces upale i ozdravljenja završen. Međutim, njegova pojačana sinteza uzrokuje fibrozu i stvaranje bubrežnih ožiljaka (42, 50, 51, 52). AP nastao hematogenom diseminacijom značajno je rjeđi, a češći je u novorođenačkoj dobi. Tada se razvija bakterijemija. Patogenetski je karakteriziran multiplim apscesima razasutim po bubrežnom parenhimu (11).

1.2. Dijagnostičke metode u infekcijama mokraćnog sustava

Postavljanje dijagnoze IMS-a bez pouzdane kliničke slike i laboratorijskih nalaza može dovesti do nepotrebnih pretraga i liječenja te potencijalnog stvaranja bakterijske rezistencije na antibiotsku terapiju (1, 2, 8, 44). Isto tako, neprepoznata i/ili neadekvatno liječena IMS, posebno AP, može imati za posljedicu ožiljčenje bubrežnog parenhima, povišeni arterijski krvni tlak, bubrežnu insuficijenciju, proteinuriju te u žena moguće komplikacije u trudnoći (1, 2, 4,

5, 12). Zna se da brzo uvođenje terapije umanjuje mogućnost stvaranja ožiljaka bubrežnog parenhima (53). Vjeruje se da trajno ožiljčenje parenhima ima oko 10 - 15 % djece koja su preboljela febrilnu mokraćnu infekciju (2, 49, 51). Uz kliničke simptome bolesti u dijagnozi važnu ulogu imaju laboratorijski nalazi i slikovne pretrage (1-5). Dobro poznavanje simptoma i primjena odgovarajućih dijagnostičkih testova osigurava pravilno postavljanje dijagnoze IMS (46, 49). Čimbenici koji ukazuju na moguću upalu bubrežnog parenhima su: povišena tjelesna temperatura ≥39°C, ubrzana sedimentacija eritrocita >35 mm/sat, povišen CRP >25 mg/L, PCT >0,5 ng/ml, te leukociturija ≥10 leukocita u mm^3 necentrifugiranog uzorka ili >5 leukocita u vidnom polju na velikom povećanju (x 400) centrifugiranog uzorka mokraće, postojanje leukocitnih cilindara u sedimentu mokraće i pozitivna kulturu mokraće. (8, 9, 11, 49, 53). Laboratorijska dijagnoza IMS-a upotpunjuje se novijim parametrima, reaktantima akutne upale i imunoserološkim testovima različite osjetljivosti i specifičnosti (1, 2, 13, 14).

1.2.1. Klinička obilježja infekcije mokraćnog sustava

Klinički simptomi IMS-a mogu biti teški, a isto tako dijete može biti i bez simptoma. Pojavnost simptoma ovisi o tome koji je dio mokraćnog sustava zahvaćen upalom te o dobi i spolu djeteta (1, 2, 8). Osim toga ovisi i o uzročniku upale, prisustvu anatomskih i/ili funkcijskih abnormalnosti i o tome radi li se o prvoj ili ponovnoj IMS-a (1, 2, 10). Temeljem kliničke slike i rutinskih laboratorijskih nalaza ponekad je teška procjena same lokalizacije IMS-a (1, 2, 13, 14). Kod male djece simptomi su nespecifični (10, 11, 13). Prva IMS može imati simptome, dok sljedeća može biti bez upadljivih simptoma ili s vrlo malo simptoma i znakova (1-3). Svakom djetetu s povišenom tjelesnom temperaturom, naročito kod nejasnog uzroka, treba obaviti pretragu mokraće i isključiti IMS (1, 2). Kod djece s upalom donjeg dijela mokraćnog sustava vodeći simptomi su učestalo/bolno mokrenje, ponekad i nevoljno mokrenje, a mokraća može biti neugodnog mirisa i/ili zamućena. Rijetko je moguća i lagano povišena tjelesna temperatura (1, 11, 14). Djeca s upalom gornjeg dijela mokraćnog sustava većinom imaju povišenu tjelesnu temperaturu, moguće i tresavicu, uz bol u trbuhu, osjetljivost lumbalnih loža, povraćanje i proljev (1, 2, 4, 10, 14, 54). Navedeni simptomi zamjećuju se kod djece starije od dvije godine. U novorođenčadi su simptomi nespecifični i mogu se očitovati kao žutica, povraćanje, iritabilnost ili upadna uspavanost, nenapredovanje na tjelesnoj težini, poteškoće u hranjenju te znaci sepse, a u nekim slučajevima tjelesna temperatura nije povišena (4, 9, 10,

13). Kod dojenčadi i male djece do druge godine života s IMS-om simptomi su: visoka temperatura, povraćanje, proljev, meteorizam, blijeda ili sivkasta boja kože, nemir, plač pri mokrenju, nenapredovanje na težini, urin neugodnog mirisa (1-3). Prema nekim istraživanjima temeljem kliničkih simptoma ni u starije djece ponekad se ne može razlikovati akutni cistitis od AP-a jer je u oko 25 % bolesnika sa simptomima cistitisa upalom zahvaćen i bubreg (2, 13, 53). Zbog toga se preporuča da se svako dijete s IMS-om i povišenom tjelesnom temperaturom liječi kao bolesnik s AP-om, sve do isključenja ili postavljanja dijagnoze slikovnim pretragama, odnosno statičkom scinti-grafijom bubrega (1, 13). Kad je povezana s urođenim anomalijama mokraćnog sustava, upala pokazuje težu kliničku sliku s izraženim općim simptomima bez obzira na dob djeteta (10).

1.2.2. Laboratorijska obilježja infekcije mokraćnog sustava

U dijagnostici IMS-a najvažniji je pregled mokraće koji se sastoji od pregleda pomoću probirnih test-traka, mikroskopskog pregleda sedimenta i kulture mokraće s izolacijom i identifikacijom uzročnika (8, 10, 13, 53). Od probirnih testova u najširoj uporabi su oni kojima se dokazuje prisutnost nitrita i leukocitne esteraze u mokraći (4, 13, 54, 55). Leukocitna esteraza specifična je za neutrofile prisutne kod upale, a nema je u urednoj mokraći. Osjetljivost pretrage prosječno je 83 %, a specifičnost 78 % (4, 11, 13). Nitritna reakcija otkriva prisutnost nekih Gram-negativnih bakterija (npr. *E. coli* , vrste *Klebsiella* te vrste *Proteus* bakterija) koje u mokraćnom mjehuru reduciraju nitrate u nitrite. Osjetljivost prisustva nitrita za IMS kod male djece je varijabilna, 15-82 %, dok je specifičnost značajna, oko 98 % (13, 17, 55). Bakterije u mjehuru moraju biti prisutne barem četiri sata da bi stvorile nitrite. Mala djeca često mokre i mokraća se u mokraćnom mjehuru ne zadržava dovoljno dugo, zbog čega je niska osjetljivost nitritnog testa u toj dobi. Kombinacijom navedenih probirnih testova povećava se i osjetljivost i specifičnost jer tada je osjetljivost dokazivanja IMS-a u prosjeku 93 %, a specifičnost 72 % (12, 13, 54, 56).

U akutnim se IMS-a u sedimentu mokraće mikroskopskim pregledom često nađe bakteriurija i leukociturija, a ponekad i leukocitni cilindri (1, 8, 10, 12). Patološkim se smatra nalaz ≥10 leukocita u mm^3 necentrifugiranog uzorka ili >5 leukocita u vidnom polju na velikom povećanju (x 400) centrifugiranog uzorka mokraće (12, 44, 51, 52, 57). Osjetljivost nalaza

leukociturije prosječno je 73 %, dok je specifičnost oko 81 % (8, 13, 58, 59, 60). Ona ne mora obvezno biti prisutna u sedimentu mokraće kod IMS-a, dok može biti prisutna kod infekcija s povišenom tjelesnom temperaturom drugog uzroka i pri dehidraciji. Zbog toga nije pouzdan kriterij za dijagnozu IMS-a (8, 10, 12, 58). Isto tako zamijećeno je da neke vrste bakterija *Enterococcus, Klebsiella* i neke vrste bakterije *Pseudomonas* imaju sklonost izazivanju IMS-a bez stvaranja značajne leukociturije (46, 59). S druge strane prema smjernicama, ako je negativna test traka na leukocitnu esterazu i nitrite, a broj leukocita u sedimentu mokraće uredan, nije potrebno uzimati mikrobiološku kulturu (53, 61, 62).

Za dijagnozu IMS-a važno je otkrivanje značajne bakteriurije jednim uzročnikom (1, 4, 14, 55, 58). Broj bakterija u mililitru mokraće ovisi o metodi kojom je uzorak uzet, a izbor metode ovisi o dobi djeteta. Djetetu koje kontrolira mokrenje uzorak mokraće uzima se metodom srednjeg čistog mlaza (eng. "*clean catch*") (1, 8, 9, 12, 13, 61, 61). U dojenčadi i male djece koja nemaju sposobnost kontrole mokrenja dijagnoza IMS-a prilično je teška (1, 10, 12, 13, 59). Kod te djece mokraća se najčešće skuplja u standardnu vrećicu sakupljač. Nedostatak te metode je skupljanje cjelokupne mokraće tijekom mokrenja, pa tako postoji mogućnost onečišćenja. Mikrobiološki nalazi mokraće dobiveni vrećicom sakupljačem imaju visoku učestalost lažno pozitivnih nalaza, prosječno oko 63 % (8, 12, 56, 61, 62). Na onečišćenje uzorka upućuje nalaz u kojem je izoliran mali broj kolonija bakterija, više vrsta mikroorganizama, različiti mikrooorganizmi u više uzastopnih uzoraka i izolacija mikroorganizama koji nisu uobičajeni za IMS. Metoda prikupljanja mokraće vrećicom sakupljačem kod dojenčadi je tehnika koja se najčešće koristi u svakodnevnoj praksi. Novija tehnika uzorkovanja mokraće u novorođenčadi i male dojenčadi je tzv. Herreros zahvat kojim se relativno brzo može dobiti uzorak mokraće naizmjeničnom stimulacijom suprapubične i sakralne regije. Kod djece mlađe od 4 mjeseca moguće je u u kratkom vremenu uhvatiti srednji čisti mlaz u sterilnu čašu, a uspješnost metode je oko 84 %. Navedenom metodom može se smanjiti stopa onečišćenja uzorka mokraće (63).

Za srednji čisti mlaz i vrećicu sakupljač mokraće značajna je bakteriurija jednim uzročnikom u broju ≥100.000 CFU/ml. Bakteriurija od ≥10.000 CFU/ml mokraće može ukazivati na zagađenje i bilo bi uputno ponoviti uzorkovanje. Isto tako bakteriurija od ≥10.000 CFU/ml kod djece s povišenom tjelesnom temperaturom, simptomima upale mokraćnog sustava i

leukociturijom može ukazivati na IMS-a (49, 53, 60, 61, 62). Transuretralna kateterizacija mokraćnog mjehura i suprapubična aspiracija (eng. *suprapubic aspiration*; SPA) mokraće iz mokraćnog mjehura metode su koje se preporučuju kao jedine pouzdane u uzimanju uzorka mokraće za mikrobiološku kulturu. Smatra se da imaju najmanju stopu zagađenja uzorka kod male djece kojima se ne može uzeti srednji čisti mlaz. Obje su metode, naročito SPA, invazivne i traumatične za dijete i roditelje te se koriste u posebnim nejasnim slučajevima (5,6). Za uzorak uzet kateterizacijom značajna je bakteriurija ≥10.000 CFU/ml, dok je za SPA značajan svaki broj bakterija (1, 4, 8, 12, 46, 56, 61, 62)

U dijagnozi IMS, osim pretraga mokraće, važni su i laboratorijski nalazi iz krvi. To su C reaktivni protein (CRP), brzina sedimentacije eritrocita, broj leukocita u krvi (L) te prokalcitonin (PCT). CRP su otkrili William Tillett i Thomas Francis 1930. godine u serumu bolesnika s pneumonijom. Sam CRP izoliran je 1941. godine, a dobio je naziv zbog njegove sposobnosti reagiranja s C polisaharidom izoliranim iz stanične stijenke bakterije *Pneumococcus*. CRP je protein s više fizioloških uloga u sklopu imunosnog sustava čovjeka. Po svojstvu je reaktant akutne faze upale. Važan je indikator u upali, nekrozi tkiva i traumi jer se oslobađa tijekom infekcije, sistemske upale i oštećenja tkiva. Aktivira klasični put komplementa, a tijekom upalne reakcije sintetizira se u jetri kao odgovor na upalne medijatore, posebno na IL-6. Tada njegova koncentracija višestruko raste (64). Počinje rasti u razdoblju 6-24 sata, a najveću vrijednost doseže za 2-3 dana. Imunosni su mu učinci brojni: aktivacija komplemenata, supresija ili aktivacija određenih tipova T-limfocita i proizvodnje nekih citokina, mogućnost vezanja bakterijskih polisaharida i fosfolipida iz tkiva oštećenih upalom, traumom ili infekcijom. Također se veže na Fc-gama receptore na površini leukocita te dovodi do stimulacije fagocitoze i oslobađanje citokina. Visina CRP-a može pomoći u razlikovanju bakterijske od virusne infekcije jer je u bakterijskoj upali njegov porast značajno veći (65). Normalna koncentracija CRP-a u odrasle osobe je <10 mg/l, dok je u djece < 5 mg/l (11, 13, 58). Čimbenici koji mogu utjecati na vrijednost CRP-a su: povišene masnoće u krvi, postojanje tzv. reumatoidnih faktora, šećerna bolest, arterijska hipertenzija i starija dob (64, 65). U više radova analizirana je njegova značajnost kod akutne IMS (58, 66, 67). Visoke vrijednosti CRP-a mogu, uz druge laboratorijske parametre u dijagnozi IMS-a, razlučiti radi li se o upali donjeg ili gornjeg dijela mokraćnog sustava. Primjerice kod CRP-a >39 mg/l za dijagnozu APN-a je osjetljivost 94,4 %, dok je specifičnost 48 % (68).

PCT peptidni je prekursor hormona kalcitonina i njegova normalna serumska koncentracija niža je od 0,05 ng/ml (69). Stvara se u C-stanicama štitnjače, ali u reakciji na bakterijsku infekciju proizvode ga stanice monocitno-makrofagnog sustava različitih organa i tada njegova koncentracija u krvi višestruko raste. Nema značajnog porasta PCT-a u virusnim infekcijama, autoimunim bolestima te malignim bolestima. Ključnu ulogu u procesu indukcije PCT-a imaju bakterijski endotoksini. Povećanje PCT-a događa se brže od povećanja CRP-a. PCT raste već 2-3 sata poslije razvoja infekcije, odnosno djelovanja bakterijskih endotoksina i najvišu koncentraciju dostiže unutar 6-24 sata. U teškim upalama vrlo je važan marker i u korelaciji je sa stupnjem jačine sepse. Nakon nestanka bakterijskog podražaja, brzo pada na normalnu vrijednost. Bitan je indikator za bakterijske infekcije u djece. PCT je osjetljiviji i specifičniji nego CRP za razlikovanje bakterijske i nebakterijske upale. Uočeno je da je visina PCT-a u pozitivnoj korelaciji s jačinom oštećenja bubrežnog parenhima u upali (70, 71, 72, 73). U nekoliko studija potvrđuje se korelacija vrijednosti PCT-a s upalom bubrežnog parenhima pa i stvaranju ožiljaka (49, 59). Za predviđanje AP-a osjetljivost i specifičnost PCT-a mjerenja bile su 83,3 %, odnosno 93,6 %. Mjerenja CRP-a imala su osjetljivost od 94,4 %, ali specifičnost od samo 31,9 % (59). U uspoređivanju s nalazima DMSA scintigrafije bubrega te u procjeni stupnja oštećenja bubrežnog tkiva nađena je značajnija povezanost PCT-a s jačinom oštećenja nego s CRP-om (66, 74).

Brzina sedimentacije eritrocita jedna je od najstarijih laboratorijskih pretraga. Odstupanja od normalnih vrijednosti upozoravaju da se u organizmu događa nekakav patofiziološki proces. Sedimentacija eritrocita može biti povišena u infekcijama, imunološkim bolestima, upalnim stanjima, malignim bolestima, anemiji i trudnoći. Primjerice hipoalbuminemija u nefrotskom sindromu djece povisuje sedimentaciju i prema visini sedimentacije prati se aktivnost bolesti. Bazalna je vrijednost nešto viša u žena nego kod muškaraca. U novorođenčadi su vrijednosti 0-2 mm/h, a kod veće djece 3-13 mm/h. Budući da je test sedimentacije eritrocita jednostavan, široko primjenjiv i jeftina laboratorijska metoda, zastupljen je u svakodnevnoj praksi. Značajnija je u praćenju kroničnih upalnih stanja u odnosu na druge upalne parametre. U više studija nije pokazala značajnost u dijagnozi IMS-a (66, 72, 75).

Leukocitoza je povećani broj leukocita u serumu (L) iznad normalnih vrijednosti te može biti posljedica nekih bolesti, ali i kod nekih fizioloških stanja. Uzrok leukocitozi može biti akutna

bakterijska infekcija, ali i maligne bolesti, nekroza tkiva, menstruacija, trudnoća, porođaj, stres i tjelesni napor. Normalne vrijednosti leukocita u krvi kod novorođenčadi i djece različite su s obzirom na dob. Leukocitoza je kod djece vrlo čest znak infekcije, osobito bakterijske, te bi uz nju svakako trebalo obaviti druge laboratorijske nalaze i pratiti kliničke simptome (66, 76).

1.3. Slikovne pretrage u dijagnostici infekcije mokraćnog sustava

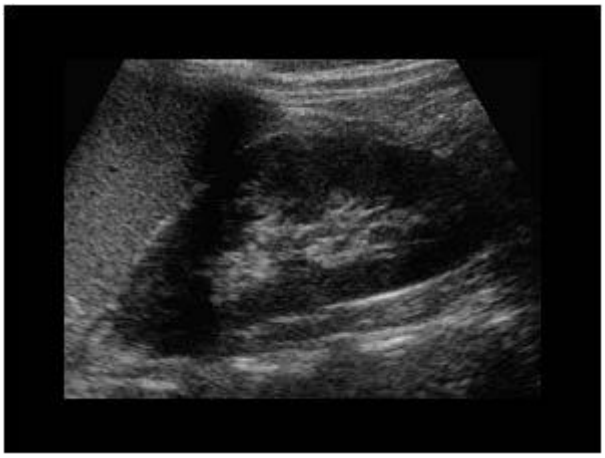
Slikovne pretrage u dječjoj nefrologiji zauzimaju značajno mjesto, a postoji više vrsta ovisno o bolesti koja se dijagnostički obrađuje. Tako su kod IMS-a vrlo važne dvije slikovne pretrage, a to su ultrazvuk (UZ) mokraćnog sustava i statička scintigrafija bubrega s Tc-99m DMSA.

1.3.1. Ultrazvuk

Već nakon prve dokazane IMS-a u dječjoj dobi potrebna je dijagnostička obrada mokraćnog sustava (1, 8, 9, 10). UZ je prva pretraga jer je jednostavna, neinvazivna, dijete se ne mora posebno pripremati i može se ponavljati više puta. Može odrediti položaj, veličinu i oblik bubrega, izgled bubrežnog parenhima, kanalni sustav bubrega, hidronefrozu, a pouzdano se može postaviti i sumnja na suženje pijeloureteričnog vrata. Također se kod punog mokraćnog mjehura može analizirati njegov oblik, punjenost, debljina stijenke, eventualni intraluminalni infiltrati te prevezikalni odsječci uretera ako su hipotonični (10, 11). S druge strane upalne promjene bubrežnog tkiva ne moraju se nužno ultrazvučno vidjeti. Tako za postavljanje dijagnoze AP-a UZ ima osjetljivost 39 % - 49,2 %, dok je specifičnost oko 88 % (77, 78). Nalaz koji bi mogao upućivati na upalu bubrežnog parenhima je: nejasna kortikomedularna granica, hiperehogenost parenhima, neravna vanjska kontura bubrega, uvećani voluminozan bubreg, eventualno proširenje pijelona (10). Takav je nalaz dijagnostički važan samo uz laboratorijska i klinička obilježja AP-a. Važno je znati da se upala bubrežnog parenhima ne mora uvijek ultrazvučno otkriti, ali je UZ od velike pomoći za otkrivanje anomalija mokraćnog sustava (79). U novije vrijeme koristi se kontrastni UZ (tzv. ceUS) kod kojeg se nakon intravenske aplikacije kontrasta ultrazvučno snima bubrežni parenhim. Kao i kod drugih ultrazvučnih tehnika ne koristi se ionizirajuće zračenje niti sedacija. Njime iskusni ultrasoničar može prikazati kortikalne perfuzijske defekte, odnosno smanjenu ehogenost u područjima gdje je smanjena perfuzija tkiva (68).

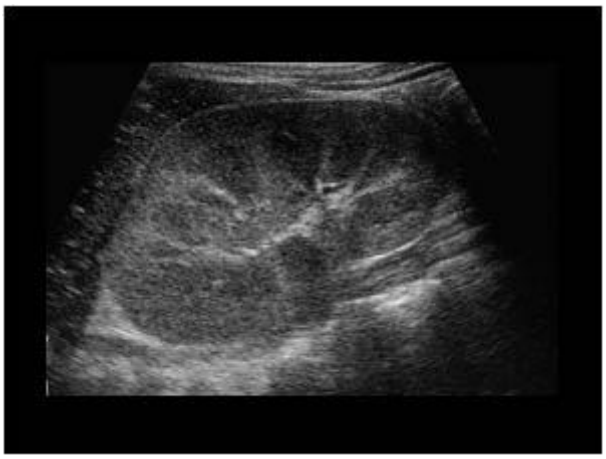
Slika 1.1 prikazuje ultrazvučni nalaz urednog bubrega.

Slika 1.2 prikazuje ultrazvučni nalaz upalno izmijenjenog bubrega (hiperehogenost paren-hima, nejasna kortikomedularna granica).



Slika 1.1. Uredan ultrazvučni izgled bubrega

(Izvor: slika iz vlastite arhive autorice rada)



Slika 1.2. Ultrazvučni izgled upalno izmijenjenog bubrega

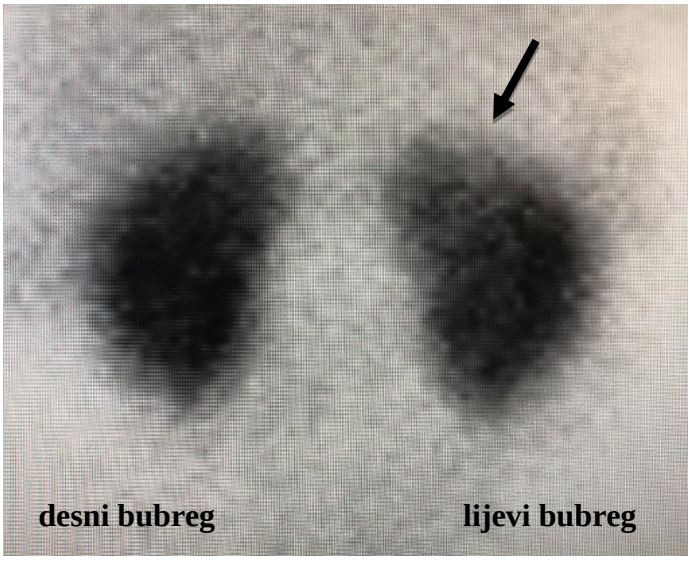
(Izvor: slika iz vlastite arhive autorice rada)

1.3.2. Nuklearno medicinska dijagnostika infekcije mokraćnog sustava

Radionuklidne pretrage primjenjuju se duže vrijeme u pretragama mokraćnog sustava. Početkom osamdesetih godina prošlog stoljeća otkrivena je gama kamera i radiofarmaci obilježeni tehnecijem (80, 81). Oni manje zrače jer im je kraće vrijeme poluraspada. Nije potrebna posebna priprema što je važno u izboru pretraga kod djece. Za procjenu morfologije i funkcije bubrega koriste se dinamička i statička scintigrafija bubrega. U dinamičkoj scintigrafiji bubrega, nakon intravenske primjene radiofarmaka, serijski se snimaju bubrezi i mokraćni sustav. Pomoću nje ocjenjuje se ukupna i pojedinačna bubrežna funkcija, morfo-logija bubrega te funkcija kanalnog sustava (80). Statička scintigrafija bubrega s tehnecij-99m dimerkaptosukcinilnom kiselinom (Tc-99m DMSA) danas je opće prihvaćena metoda tzv. "zlatni standard" za prikaz parenhimskih oštećenja bubrega (53, 66, 81, 82, 83). Tc-99m DMSA veže se za bubrežne tubule oko jedan sat nakon intravenskog injiciranja radiofarmaka.

Oko 40 % vezano je pretežno u tubularnim stanicama proksimalnih kanalića, dok se ostatak postupno izlučuje kroz bubrege tijekom 24 sata. Snima se gama-kamerom velikog vidnog polja 2-3 sata nakon intravenskog injiciranja radiofarmaka, dok je bolesnik u ležećem položaju, snima se područje bubrega u posteriornoj (PA) i anteriornoj projekciji (AP). Nakupljanje radiofarmaka u bubrezima prikazuje se slikovno rasporedom aktivnosti u njima (80). Ta pretraga najbolje prikazuje bubrežni parenhim i koristi se za otkrivanje malih oštećenja i ožiljaka bubrežnog tkiva. Vrlo rano otkriva upalne promjene na jednom ili oba bubrega, ali za razliku od dinamičke scintigrafije, ne može prikazati kanalni sustav. Pomoću nje može se ocijeniti i relativna separatna funkcija bubrega. Tipične promjene, prikazane tom slikovnom pretragom kod akutnog pijelonefritisa, su žarišno ili generalizirano smanjenje nakupljanja radioizotopa u parenhimu, različite homogenosti, dok se ožiljne promjene na bubrezima prikazuju kao defekti u nakupljanju izotopa uz izmijenjen oblik bubrega i smanjenu ukupnu masu funkcionirajućeg parenhima. Tc-99m DMSA može se koristiti u akutnoj fazi AP-a za potvrdu dijagnoze, a isto tako i nakon 6-12 mjeseci radi utvrđivanja mogućeg postojanja ožiljnih promjena (72, 80, 83). U dijagnostičkoj je obradi djece vrlo važna jer je najpreciznija pretraga u otkrivanju upalnih promjena i mogućih ožiljnih oštećenja bubrega uzrokovanih IMS-a. Međutim, nije dostupna u svim centrima, traumatična je i dijete je izloženo određenom stupnju zračenja (84).

Slika 1.3. prikazuje smanjeno nakupljanje radiofarmaka u gornjem polu lijevog bubrega što ukazuje na upalne promjene.



Slika 1.3. Smanjeno nakupljanje radiofarmaka u gornjem polu lijevog bubrega (upala)

(Izvor: slika iz vlastite arhive autorice rada)

1.4. Nove dijagnostičke pretrage za dijagnozu akutnog pijelonefritisa

U novije vrijeme pokušavaju se pronaći novi, neinvazivni laboratorijski testovi koji bi se koristili kao rani i pouzdani markeri upale mokraćnog sustava, osobito AP-a. U dijagnostici nekih fizioloških i patoloških procesa u organizmu, u suvremenoj medicini koriste se novi testovi kojih ima više vrsta zajedničkog naziva biomarkeri.

Pojam biomarker nastao je skraćenjem izraza „biološki marker bolesti“. Godine 1998. radna skupina za definicije biomarkera Nacionalnog instituta za zdravlje definirala je biomarker kao obilježje koje se objektivno mjeri i procjenjuje kao pokazatelj normalnih bioloških procesa, patogenih procesa ili farmakoloških odgovora na terapijsku intervenciju (85). Biomarker bi predstavljao parametar koji se lako i jednostavno mjeri sa stabilnim vrijednostima u ponovljenim mjerenjima. Značaj biomarkera važan je kod dijagnosticiranja bolesti kod kojih bi terapija trebala što prije započeti, za praćenje progresije bolesti, rano otkrivanje relapsa i recidiva bolesti te procjeni mogućeg ishoda bolesti. Kada vrijednost biomarkera korelira s težinom bolesti, može se koristiti za procjenu uspješnosti liječenja (86).

1.4.1. Biomarkeri u nefrologiji

Glomerularna filtracija je proces kojim bubrezi pročišćavaju krv, uklanjajući višak tekućine i otpadnih tvari. Brzina glomerularne filtracije (*eng. glomerular filtration rate)* određuje protok plazme iz glomerula u Bowmanov prostor kroz određeno vrijeme i glavna je mjera procjene bubrežne funkcije. U tome se niz godina koristi kreatinin u serumu i mokraći (11). Klirens endogenog kreatinina ocjenjuje volumen plazme očišćene od kreatinina u jedinici vremena. Kreatinin se filtrira kroz glomerule, ali se i luči u lumen tubula, osobito ako je bubrežna funkcija oštećena. Stoga, kao i zbog promjenjive razine serumskog kreatinina ovisno o dobi, spolu, mišićnom metabolizmu i dehidraciji, nije idealan parametar za procjenu funkcije bubrega. Nedostatak je što se ne mora promijeniti sve dok nije izgubljeno i do 60 % bubrežne funkcije (11, 87). Određivanje albumina u mokraći također ukazuje na bubrežno oštećenje. Vrijednosti navedenih parametara značajno se mijenjaju relativno kasno tijekom razvoja bubrežnih oštećenja što je ukazalo na potrebu pronalaženja novijih biomarkera, koji bi se mogli odrediti

u ranijim fazama oštećenja i tako omogućiti preventivne mjere sprječavanja progresije bubrežne bolesti (87).

Akutno oštećenje bubrega (AOB) naglo je smanjenje funkcije bubrega, s posljedičnim disbalansom serumskih elektrolita, povećanjem ureje i kreatinina u serumu, te smanjenim stvaranjem mokraće. Uzroci AOB su septična stanja, složene operacije, naročito kardio-kirurške, kardiogeni šok, akutno zatajenje srca (52). AP kod djece može složenom intereakcijom između domaćina i bakterijskih čimbenika dovesti do akutnog oštećenja bubrežnog parenhima i kasnije mogućeg trajnog oštećenja. Mehanizam nastanka AOB-a uzrokovanog AP-om nije sasvim poznat. Vjeruje se da je bubrežno oštećenje uzrokovano smanjenom cirkulacijom, nastankom infektivnog intersticijskog nefritisa, infiltracijom tkiva limfocitima uz posljedični nastanak tubularne atrofije i intersticijske fibroze (51). Kao što je ranije navedeno, akutni upalni odgovor koji ima svrhu odstranjenja bakterija, može biti odgovoran za rano oštećenje bubrežnog parenhima i naknadno stvaranje ožiljaka (50-52, 87). Noviji biomarkeri koji bi svojim porastom mogli upozoriti na oštećenje bubrežne funkcije već u ranim fazama su: cystatin C, interleukin-18 (IL-18), lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom (*eng. neutrophil gelatinase associated lipocalin; NGAL*) i KIM-1 (eng. *kidney injury molecule-1*) (88). Cystatin C inhibitor je cistein proteaze i noviji je biomarker u procjeni bubrežnog oštećenja. Njega stanice sintetiziraju i otpuštaju u krvotok, u glomerulima se slobodno filtrira, a u proksimalnom tubulu potpuno reapsorbira. Pokazalo se da je on značajno bolji marker za procjenu funkcije bubrega od serumskog kreatinina jer ne ovisi o spolu, tjelesnoj građi i mišićnoj masi (87,88). NGAL je protein koji se povećava i do nekoliko desetaka puta prvih nekoliko sati nakon ishemijskog oštećenja bubrega. Također je zamijećeno da povećanje njegove vrijednosti prethodi povećanju serumskog kreatinina 1-3 dana ranije. Budući da je cilj ove studije ispitati vrijednost NGAL-a kod AP-a u djece, kasnije će se detaljno obrazložiti navedeni biomarker. IL-18 proupalni je citokin koji se aktivira u brojnim upalnim stanjima, a inducira se u proksimalnom tubulu. Zamijećeno je da je njegova vrijednost u mokraći povišena kod bolesnika s AOB-a, čak 1-2 dana ranije od porasta kreatinina u serumu (87). KIM-1 iz mokraće glikoprotein je stanične membrane tipa 1, a služi kao rani dijagnostički pokazatelj oštećenja bubrega, naročito oštećenja proksimalnih tubula bubrega (88).

1.4.2. Lipokalini

Lipokalini su grupa sekretornih, lipofilnih i izvanstaničnih proteina. Većina lipokalina je sačinjena od 160 do 180 aminokiselina. Različitost aminokiselina omogućuje širok spektar liganda za vezivanje i prijenos. Lipokalini imaju veliki afinitet za vezivanje hidrofobnih liganda. Formiraju komplekse sa solubilnim makromolekulima. Osnovna im je funkcija transport vitamina, masnih kiselina, retinoida, steroida i željeza. Također imaju ulogu u modulaciji imunog odgovora, u imunosnom odgovoru na bakterijsku infekciju, regulaciji rasta i razvoja stanica i tkiva, stabilizaciji staničnih procesa i metabolizma te zaštiti stanica od oštećenja (86, 89).

1.4.3. Lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom (NGAL)

Godine 1992. iz sekundarnih granula ljudskih neutrofila izolirana je molekula čiju je strukturu opisao godinu kasnije Kjeldesen. Ta je molekula nazvana lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom (NGAL). Radi se o malom glikoproteinu molekularne mase 25 kDa, kovalentno vezanom za gelatinazu iz ljudskih neutrofila (87). Poznat je pod različitim nazivima poput humani neutrofilni lipokalin, siderokalin, neutrofilni glukozaminidaza - povezani lipokalin, uterokalin, onkogeni *neu-related* lipokalin, faktor inhibicije stimulatora migracije i protein povezan s alfa-1 mikroglobulinom. Sastoji se od 198 aminokiselina i predstavnik je „kernel“ grupe lipokalina, odnosno sadrži sva tri aminokiselinska lanca. Gen za sintezu lociran je na kromosomskom lokusu 9q34.11 (90). NGAL je važan dio prirodnog antibakterijskog imuniteta. Njegova bakteriostatska svojstva određena su vezanjem za bakterijske siderofore čime onemogućuje opskrbu bakterija željezom iz stanica domaćina. Na taj način sprječava bakterijski rast. Zbog toga je najviše prisutan u tkivima koja su izložena vanjskim utjecajima kao što su respiratorni, gastrointestinalni i mokraćni trakt (91).

Bakterijska infekcija povezana je sa značajnim porastom NGAL-a. Tada se pojačano i masivno oslobađa iz aktiviranih neutrofila. Nakon prodora bakterija u organizam, TLR prepoznaju bakterijske lipopolisaharide i stimuliraju tzv. antigen-prezentirajuće stanice. To su makrofagi i dendritične stanice koje oslobađaju citokine; interleukine IL-23 i IL-18. Potom T-limfociti

oslobađaju interleukin-17 i interleukin-22, te lančanom reakcijom dolazi do pojačanog oslobađanja NGAL-a iz granulacija neutrofila kao i njegove povećane sinteze u makrofagima, epitelnim stanicama i jetri. Oslobođeni NGAL veže se potom za bakterijske siderofore i, kao što je ranije navedeno, onemogućava dopremanje željeza potrebnog za rast bakterija (89, 91, 92).

NGAL posebno štiti organizam od Gram-negativnih bakterija i infekcija mikobakterijama. Zamijećeno je kako je NGAL učinkovit samo protiv bakterija koje luče i koriste siderofore za dopremu željeza u stanicu (89, 91).

Unutar četiri sata od početka infekcije dolazi do značajnog povećanja razine NGAL-a. Najveću koncentraciju dostiže 24 sata nakon početka infekcije. Povišene vrijednosti zadrža-vaju se nekoliko dana, a zatim postupno padaju. Tijekom sistemskih infekcija i sepse povećava se koncentracija i serumske i mokraćne razine NGAL-a. U mokraći se povećava zbog otpuštanja iz neutrofila koji se akumuliraju u lumenu bubrežnih tubula. Smirivanjem infekcije i smanjenjem broja bakterija smanjuje se i količina NGAL-a (90, 93).

Onemogućavanjem razmnožavanja bakterija smanjuje se inflamacija, oksidativni stres te apoptoza stanica. NGAL veže i neutralizira proinflamatorne proizvode bakterija. On je povišen i u nekim sistemskim bolestima i kod nekih tipova karcinoma. Visoke se razine NGAL-a također nalaze u adipocitima potencijalno povezanim s inzulinskom rezistencijom u pretilih osoba (94, 95). Razine NGAL-a ovise o spolu, dobi, funkciji jetre, a može i kolerirati s upalnim čimbenicima (89).

Funkcije NGAL-a su mnogobrojne i ovise o tkivu iz kojeg NGAL potječe. Osnovna mu je funkcija transport željeza i na taj način utječe na veliki broj bioloških funkcija ovisnih o željezu, pa tako i na homeostazu unutarstaničnog i izvanstaničnog metabolizma. Smanjenjem koncentracije željeza izvan stanica, NGAL ima antioksidativno djelovanje. Osim željeza NGAL transportira i neke masne kiseline (96).

Koncentracija NGAL-a povećava se u stanicama „u stresu“, npr. u infekciji, upali, u tkivima koja su ishemična ili tumorski promijenjena. Drugim riječima, uključen je u proces upale, apoptoze, organogeneze i djeluje kao faktor rasta i diferencijacije kod različitih tipova epitela (96). Smatra se da tijekom razvoja bubrega NGAL podržava epitelnu diferencijaciju mezenhimskih matičnih stanica što rezultira stvaranjem glomerula, proksimalnih tubula, Henleove petlje i distalnih tubula (90).

1.4.4. NGAL kao biomarker oštećenja bubrega

U fiziološkim se uvjetima NGAL iz plazme filtrira u glomerulima i gotovo u potpunosti reapsorbira endocitozom u proksimalnom tubulu vežući se za proteinski transportni kompleks kubilin-megalin. Tako ga se u zdravom bubregu nalazi u vrlo malim količinama. NGAL je odraz funkcionalne tubularne mase, a prisutan je prije nego što je moguće laboratorijski dokazati pad glomerularne filtracije što ga čini pouzdanim biljegom AOB. Pokazao se kao pouzdani biomarker kod AOB, ali i kod kroničnih poremećaja funkcije bubrega. Može se mjeriti komercijalno dostupnim metodama u kompletnoj krvi, plazmi, serumu i mokraći (97).

Velika količina NGAL-a u mokraći javlja se kod oštećenja funkcije proksimalnog tubula. Kod AOB-a, NGAL se pojačano sintetizira u distalnom nefronu, posebno u uzlaznom dijelu Henleove petlje i u sabirnom kanalu. AOB uzrokuje i povećanu ekspresiju NGAL-a u jetri i plućima, koji se oslobađa u cirkulaciju. Određenu količinu NGAL-a u cirkulaciju oslobađaju i aktivirani neutrofili i monociti u imunološkoj reakciji (98).

Kao što je ranije navedeno, pojačano lučenje NGAL-a potaknuto je ozljedama epitela organa poput debelog crijeva i pluća, a najviše se luči kod oštećenja bubrega. Dok se plazmatske koncentracije NGAL-a prilikom oštećenja bubrega povećavaju otprilike 100 puta, NGAL iz mokraće povećava se i do 10.000 puta te je prema tome bolji prognostički faktor oštećenja bubrega nego plazmatski NGAL (93). AOB je česta komplikacija kod teško bolesnih pacijenata i povezana je s visokim morbiditetom i smrtnošću što jasno ukazuje na važnost rane dijagnoze i terapije. Budući da se razine NGAL-a u serumu i mokraći povećavaju 48 sati prije porasta kreatinina, može se smatrati izvrsnim biomarkerom AOB-a u različitim kliničkim situacijama,

naročito sepsi (74). Dijagnostička vrijednost uNGAL-a veća je od vrijednosti kreatinina u serumu u procjeni funkcije bubrega kod neonatalne asfiksije i sepse (99, 100, 101). NGAL u plazmi i mokraći povećava se dva sata nakon početka razvoja AOB-a nakon kardiokirurških zahvata, radiokontrastne nefropatije i transplantacije bubrega (102, 103).

Bennett M. i suradnici analizirali su dijagnostičku vrijednost uNGAL-a kod AOB-a u studiji sa 196-ero djece koja su podvrgnuta kardiokirurškim operacijama. Kriterij za AOB bio je porast kreatinina u serumu ≥50 % četiri dana nakon operacije. Kod granične vrijednosti uNGAL-a od 100 ng/mL dva sata nakon operacije, osjetljivost ove pretrage bila je 82 %, a specifičnost 92 %. Razina uNGAL-a kod bolesnika, koji su imali AOB, unutar 2 sata nakon operacije bila je 15 puta veća u odnosu na bazalni, a nakon 4-6 sati čak 25 puta veća (104).

Porast NGAL-a tijekom AOB-a reverzibilan je s tim da se povišene vrijednosti održavaju tijekom nekoliko dana. Razina NGAL-a, posebno mokraćnog, dobar je pokazatelj intenziteta bubrežnog oštećenja (97). Kod bolesnika s ranije prisutnom bubrežnom insuficijencijom uNGAL može ukazati na pogoršanja bubrežne funkcije. Specifičnost NGAL-a kao markera bubrežne lezije smanjuje se kod bolesnika s izraženom sistemskom upalom i većim multiorganskim oštećenjima. Njegova je značajnost kod AOB-a što se lako uzorkuje iz krvi ili mokraće, mjerljiv je standardiziranim laboratorijskim metodama i dovoljno osjetljiv za rano prepoznavanje bubrežnog oštećenja (98). Međutim, na razinu NGAL-a u plazmi mogu utjecati i drugi poremećaji kao što su hipertenzija, sistemske upalne bolesti, anemija, ishemija ili maligne bolesti (94, 96).

1.4.5. NGAL kao biomarker infekcije mokraćnog sustava

U nekoliko studija analizirana je značajnost biomarkera NGAL-a u serumu i mokraći u dijagnostici AP-a u djece. Zaključeno je da je značajno viša koncentracija navedenog biomarkera u djece s dijagnozom AP-a nego kod djece liječene zbog drugih bolesti. Mogao bi predstavljati novi osjetljivi marker u dijagnozi AP-a.

U istraživanju Shaikhove i suradnika uspoređivana je značajnost leukocitne esteraze i nekoliko biomarkera iz mokraće, među kojima i uNGAL, u dijagnozi IMS-a. Uočeno je da su djeca s febrilnom IMS-a imala značajno višu vrijednost uNGAL-a od djece s drugim febrilnim stanjima i zdravih kontrola. Osjetljivost i specifičnost leukocitne esteraze nije se pokazala pouzdanom (105).

Forster i sur. su u ispitivanju 2017. godine utvrdili da djeca s ponavljajućim IMS-a imaju značajno nižu razinu uNGAL-a (14 – 29 ng/ml) nego zdrava djeca (27 – 61 ng/ml) Zaključeno je da su djeca sa smanjenom razinom uNGAL-a sklonija ponavljanim IMS-a zbog lokalnog nedostatka proizvodnje uNGAL-a (106). U metaanalizi Abbasija i sur. iz 2020. godine istraženo je više studija o značajnosti NGAL-a u dijagnozi IMS-a. Utvrđeno je da uNGAL ima visoku dijagnostičku vrijednost kod djece s prvom IMS-a kod optimalne granične vrijednosti od 30 do 39,9 ng/ml (specifičnost 81 %, osjetljivost 85 %). Također je utvrđeno da je pouzdaniji u dijagnozi od serumskog NGAL-a (107).

U istraživanju iz 2021. godine uključeno je 321 dijete. Uspoređena je značajnost CRP-a, L i uNGAL-a za dijagnozu IMS-a. Djeca koja su imala AP imala su značajno viši uNGAL nego djeca s upalom donjeg dijela mokraćnog sustava, dok L i CRP nisu pokazali statističku značajnost. Zaključeno je da je uNGAL osjetljiviji za dijagnozu akutne upale bubrežnog parenhima od L i CRP-a (108).

Iz svega navedenog može se pretpostaviti da bi uNGAL mogao biti novi osjetljivi marker akutne IMS-a (109-111). Pretraga je neinvazivna i jednostavna i mogla bi biti značajna u dijagnozi AP-a. S obzirom na to da se vrlo rano povećava njegova koncentracija u mokraći, mogao bi pridonijeti ranoj dijagnozi akutne upale bubrežnog parenhima i ishodu same bolesti (103, 105). Postoje standardizirani testovi za određivanje NGAL-a u mokraći i krvi. Jednostavno su izvedivi, potrebno je 1 ml pune krvi ili plazme, odnosno 150µl mokraće, a rezultat je gotov za 35 minuta.

2. HIPOTEZA

1. Biomarker uNGAL pouzdan je rani dijagnostički pokazatelj akutnog pijelonefritisa u djece.
2. Porast razine biomarkera uNGAL-a u mokraći pouzdaniji je rani pokazatelj dijagnoze akutnog pijelonefritisa od dosad primjenjivanih serumskih čimbenika upale; C reaktivnog proteina i prokalcitonina
3. Viša razina biomarkera uNGAL-a povezana je s jačom upalom i/ili stvaranjem ožiljnih promjena u bubrežnom parenhimu.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. Glavni cilj istraživanja:

Glavni je cilj istraživanja utvrditi potencijalnu dijagnostičku vrijednost biomarkera uNGAL-a u dijagnozi AP-a u djece.

3.2. Sekundarni ciljevi istraživanja:

- Izmjeriti koncentracijsku vrijednost uNGAL-a kod djece koja imaju AP
- izmjeriti koncentracijsku vrijednost uNGAL-a u kontrolnoj skupini
- usporediti vrijednosti uNGAL-a s nalazom statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA
- ispitati postoji li značajna razlika u vrijednostima uNGAL-a između ispitivane i kontrolne skupine
- odrediti vrijednost serumskog CRP-a kod djece s AP-om i kontrolne skupine
- odrediti vrijednost serumskog PCT-a kod djece s AP-om i kontrolne skupine
- utvrditi postoji li značajna razlika u vrijednostima navedenih upalnih čimbenika između dvije skupine

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj studije

Ova je studija izvedena kao presječno istraživanje.

4.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno na Kliničkom odjelu za dječju nefrologiju, hematologiju, onkologiju i kardiologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek u razdoblju od 24 mjeseca; od 1. 5. 2012. do 1. 5. 2014. godine među djecom koja su u to vrijeme bila bolnički liječena.

Istraživanje je obuhvatilo 127-ero djece u dobi od 18 dana do 17 i pol godina koja su dijagnostički obrađivana i liječena zbog povišene tjelesne temperature i simptoma akutne upalne bolesti. Od toga je u ispitivanoj skupini bilo 83-oje djece, a u kontrolnoj skupini 44-ero. Ispitivana skupina obrađivana je i liječena zbog dijagnoze AP-a, dok su djeca iz kontrolne skupine imala akutne upalne bolesti respiratornog ili gastrointestinalnog sustava.

Laboratorijski kriteriji AP-a u ovoj studiji bili su: povišen CRP >25 mg/l, povišen PCT >0,5 ng/ml, leukociturija >5L u vidnom polju velikog povećanja (x400) centrifugiranog uzorka mokraće, značajna bakteriurija jednim uzročnikom u kulturi mokraće u broju ≥100.000 CFU/ml mokraće za uzorak uzet sterilnom vrećicom sakupljačem i tehnikom srednjeg čistog mlaza, dok je za uzorak uzet transuretralnom kateterizacijom bila značajna bakteriurija ≥10.000 CFU/ml.

Klinički kriteriji za AP u ovoj studiji bili su: povišena tjelesna temperatura ≥ 38°C, loše opće stanje, malaksalost, mučnina i povraćanje, slabiji unos hrane i tekućine, oskudnije mokrenje, mokraća neugodnog mirisa, zamućena mokraća, kod manje djece slabije napredovanje na tjelesnoj težini, a kod veće djece, uz navedene simptome, i bolovi u lumbalnim regijama, bolovi u trbuhu, bolno mokrenje (10, 11, 13, 66, 69).

Svoj djeci uzeti su detaljni anamnestički podaci od roditelja, a kod veće djece i osobna anamneza. Laboratorijske pretrage krvi i mokraće obavljene su u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek, a mikrobiološko analiziranje mokraće učinjeno je u Zavodu za kliničku mikrobiologiju i bolničke infekcije KBC-a Osijek. Statička scintigrafija bubrega Tc-99m DMSA učinjena je u Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja KBC-a Osijek. Prije početka ispitivanja od svih roditelja (skrbnika) zatražen je informirani pristanak za uzimanje planiranih laboratorijskih nalaza. Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Osijek i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Osijeku.

Kriteriji za uključenje ispitanika u studiju bili su sljedeći:

- djeca s povišenom tjelesnom temperaturom koja imaju kliničke znakove upale mokraćnog sustava
- djeca s povišenom tjelesnom temperaturom koja nemaju kliničke znakove upale mokraćnog sustava

Kriteriji za isključivanje ispitanika iz istraživanja:

- djeca koja su neposredno pred hospitalizaciju primala antibiotsku terapiju
- djeca koja boluju od drugih bolesti mokraćnog sustava (glomerulonefritis, bubrežna insuficijencija, nefrotski sindrom, cistične bolesti bubrega)
- ranije liječena djeca s anomalijama mokraćnog sustava
- djeca s drugim kroničnim bolestima

4.3. Metode

Uzeti su detaljni anamnestički podaci o postojećim kliničkim znakovima i simptomima. Dob, spol, klinički nalaz, laboratorijski nalazi i planirane pretrage, UZ mokraćnog sustava i statička scintigrafija bubrega Tc-99m DMSA zabilježeni su za svakog ispitanika.

Za svu djecu uzeti su uzorci krvi za analizu kompletne krvne slike, određivanje koncentracije CRP-a u krvi, određivanje koncentracije PCT-a u krvi te analiza mokraće: mikrobiološka kultura, mikroskopska analiza sedimenta mokraće i određivanje koncentracije uNGAL-a. Izbor metode uzimanja uzorka mokraće ovisio je o dobi djeteta. Kod djece koja ne kontroliraju mokrenje, mokraća je u našoj studiji uzorkovana sterilnom vrećicom sakuplja-čem, a kod neke djece bilo je nužno uzeti uzorak mokraće transuretralnom kateterizacijom (kateter Lentiscath, Lentismed, Hrvatska). To su bila dehidrirana djeca, lošeg općeg stanja, kojima se nije mogao adekvatno i brzo uzeti uzorak mokraće. Kateterizacija se učinila uz pristanak roditelja. Zbog invazivnosti navedene metode, koristila se samo u neophodnim slučajevima. Prije uzimanja uzorka mokraće djeca su se prethodno adekvatno pripremila. Urogenitalna regija prethodno se dobro oprala blagom sapunicom, isprala toplom vodom, dobro posušila i nalijepila se sterilna vrećica sakupljač. Ako se dijete nije pomokrilo unutar 40 minuta, postupak pranja se ponavljao i lijepila se nova vrećica. Kod kateterizacije mokraćnog mjehura poštivala su se pravila asepse. Vodeći računa o mogućnosti zagađenja i nakon uzorkovanja, poštivali su se svi uvjeti antisepse u pohrani i transportu uzorka mokraće. Uzorci su stavljeni u sterilne posude i pohranjeni na +4°C te isti dan ili unutar 12 sati zasijani na hranjive podloge. U obzir su se uzeli samo uzorci s pravilno očitanom kulturom mokraće i ta su djeca ušla u istraživanje. Kod djece koja kontroliraju mokrenje uzorak je uzet metodom srednjeg čistog mlaza, također nakon prethodno dobro oprane urogenitalne regije. Uzorak mokraće, nakon ispravnog uzimanja, nasađen je na hranjive podloge u mikrobiološkom laboratoriju KBC-a Osijek. Kod sve djece s kliničkim i laboratorijskim nalazima upale mokraćnog sustava učinjeni su UZ mokraćnog sustava i statička scintigrafija bubrega s Tc-99m DMSA.

Laboratorijski testovi:

1. uNGAL mjerio se imunokemijskom metodom kemiluminiscencije pomoću magnetskih mikročestica (eng. *chemiluminiscent microparticle immunoassay, CMIA*) na analizatoru Abbott Architect i1000SR (Abbott Diagnostics, Lake Forest, USA) nakon 15 minuta centrifugiranja uzorka mokraće ma 13000 xg. To je imunotest za kvantitativno određivanje ljudskog uNGAL-a korištenjem CMIA tehnologije s fleksibilnim protokolom analize, koji se zove Chemiflex. Za analizu se koristio supernatant mokraće. Uzorci mokraće smrzavani su na - 70°C, a analiza je učinjena po prikupljanju > 10 uzoraka. Prije analize proveden je postupak ispravnosti reagensa za određivanje uNGAL-a u uzorku. Raspon izmjerenih vrijednosti za uNGAL-a bio je od 10,0-1500.0 ng/ml, s koeficijentom varijacije od ≤ 10% CV, dok je granica kvantifikacije (LOQ) < 10,0ng/ml. Vrijeme potrebno za određivanje uNGAL-a je 35 minuta, a minimalna količina mokraće je 150µl.

2. Kompletna krvna slika učinjena je na automatiziranom hematološkom analizatoru Sysmex SF-3000 (Sysmex, Kobe, Japan) iz 250 µl uzorka krvi s reagensima Cellpack diluent; Stromatolyser-FB, BASO Reagent; Stromatolyser-FD(I), 4 Diff Reagent; Stromatolyser-FD(II), 4Diff Reagent; Sulfolyser HGB Reagent. Broj leukocita i diferencijalna krvna slika izbrojani su protočnom citometrijom poluvodičkim laserom. Uzorak se analizirao odmah po prispijeću u laboratorij.

3. Analiza sedimenta mokraće učinjena je na automatiziranom uređaju za analizu mokraće Iris IQ200 (Iris Diagnostics, Chatsworth, CA, USA). Uzorak se odmah analizirao po prispijeću u laboratorij. Za analizu bilo je potrebno oko 1 ml uzorka. Analizirano je prisustvo leukocita u sedimentu mokraće. Značajna je leukociturija, prema preporukama, smatrana ako je prisutno u sedimentu >5L/ u vidnom polju velikog povećanja.

4. Mikrobiološka kultura uzorka mokraće analizirala se u Zavodu za kliničku mikrobiologiju KBC Osijek. Uzorci su stavljeni u sterilne posude i, ako se nisu mogli odmah dostaviti u laboratorij, bili su pohranjeni na +4°C te unutar 12 – 24 sata zasijani na hranjive podloge. Uzorak se nasađivao na medij aparata HB&L UROQATTRO

(Alifax SPA, Italy) u kojem se inkubirao tri sata na 37°C kako bi se umnožila bakterijska kultura. Na osnovu zamućenja aparat je prepoznavao prisutnost bakterije uspoređujući razinu zamućenja u odnosu na negativnu kontrolu. Uzorci mokraće u kojima se uočio rast nakon inkubacije dodatno su se obrađivali. Tada su se nasađivali na SDP podlogu (selektivna diferencijalna podloga) na kojoj svaka bakterijska kultura raste određenom bojom. Podloga se inkubirala 12 sati u termostatu na 37°C. Nakon inkubacije izrađivao se antibiogram. Kod nekih uzorka bila je potrebna dodatna obrada radi utvrđivanja dodatnih karakteristika, a njihov antibiogram očitavao se nakon 48 sati. Kao rezultat izolirala se bakterija i odredio broj bakterija u jednom mililitru mokraće. Porasle kolonije bakterija izražavale su se količinski u broju koji formira kolonije. Značajna bakteriurija za uzorak uzet sterilnom vrećicom sakupljačem i tehnikom srednjeg čistog mlaza definirana je kao porast kulture jednog uzročnika ≥100.000 CFU/ml. Značajna bakteriurija za uzorak uzet transuretralnom kateterizacijom bila je porast jednog uzročnika od ≥10.000 CFU/ml mokraće. Izbor antibiotika ovisio je o izoliranoj bakterijskoj vrsti.

5. Metoda za određivanje koncentracije PCT-a je imunoturbidimetrijska, mjerenje se izvelo na automatiziranom imunokemijskom analizatoru COBAS e 601 Roche Diagnostics (ROCHE), metoda mjerenja je Elecsys BRAHMS PCT (Hoffman-La Roche, Basel, Švicarska) biotiniranim monoklonalnim PCT-specifičnim antitijelima i monoklonalnim PCT-specifičnim antitijelima obilježenima rutenium kompleksom + streptavidinom. Radi se iz tekućeg dijela krvi, seruma ili plazme, potreban volumen uzorka bio je 200 µl, a trajanje testa je 18 min. Uzorak se, po prispijeću u laboratorij, analizirao unutar 60 minuta, na temperaturi okoline 15-25°C stabilan je 24 sata. Raspon izmjerenih vrijednosti za PCT bio je 0,02 – 100 ng/ml, s koeficijentom varijacije 0,0- 2,8 % CV, dok je granica kvantifikacije (LOQ) 0,06 ng/ml. Povišena vrijednost PCT-a smatrana je razina >0,5 ng/ml.

6. Metoda za određivanje koncentracije CRP-a je imunoturbidimetrijska, proizvođač reagensa je Beckman Coulter (SAD), a mjerenja su se izvodila na automatiziranom biokemijskom analizatoru Olympus AU 680 (Olympus, Beckman Coulter, SAD) iz svježeg seruma, volumen uzorka 100 µl. Uzorak se odmah analizirao, po prispijeću u

laboratorij, za napomenuti je da je na sobnoj temperaturi stabilan do 8 sati. U reakciji CRP se kombinira sa specifičnim protutijelima kako bi tvorio netopive komplekse antigen-protutijelo. Koeficijent varijacije bio je ≤ 10 %, SD (standardna varijacija) ≤ 0,02 mg/l. Granica kvantofikacije (LOQ) za CRP bila je 0,47 mg/l Povišena vrijednost CRP-a smatrana je razina >5 mg/l.

7. UZ mokraćnog sustava obavljen je na aparatu Logiq S8 (GE Healthcare, Milwaukee,WI, SAD) konveksnom sondom za manju djecu 5-7,5 MHz, a za veću djecu 3-5 MHz. UZ pretraga djeci je učinjena u položaju na leđima, na trbuhu i bočnim položajima. Određivan je položaj bubrega, veličina, oblik i ehogenost parenhima bubrega, vanjska kontura bubrega, jasnoća kortikomedularne granice, pijelon i kanalni sustav, izgled mokraćnog mjehura i debljina stijenke mjehura te prevezikalni dijelovi uretera.

8. Statička scintigrafija bubrega učinjena je u prvih 5 do 10 dana bolesti kod sve djece s kliničkim i laboratorijskim nalazima za dijagnozu AP-a. Snimalo se oko 1,5-2 sata nakon intravenskog injiciranja dimerkapto-sukcinilne kiseline obilježene tehnecijem (Tc-99m DMSA). Doza za djecu izračunavala se pomoću korekcijskih faktora za dob i težinu - prema Renocis kitu za pripremu radiofarmaka (CIS Bio international, Gif-surYvette Cedex, Francuska) doza za djecu (MBq) = doza za odrasle (MBq) x težina djeteta (kg)/70. Akvizicija se radila pomoću jednoglave SPECT (eng. *single-photon emission computed tomography)* gama kamere proizvođača Siemens (Njemačka) „e.cam“ serije s LEAP kolimatorom (eng. *Low Energy All Purpose*). Tijekom snimanja bolesnik je u ležećem položaju, snima se područje bubrega u posteriornoj (PA) i anteriornoj projekciji (AP).

4.4. Statističke metode obrade podataka

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike kategorijskih varijabli testirane su χ^2 testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom. Numerički su podatci opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike kontinuiranih varijabli između dvije nezavisne skupine testirane su Mann-Whitneyevim U testom (uz Hodges Lehmannovu razliku medijana i 95 % raspon pouzdanosti razlike), a između tri i više nezavisnih skupina Kruskal-Wallisovim testom (*post-hoc* Conover). Ocjena povezanosti između varijabli iskazana je Spearmanovim koeficijentom korelacije Rho (P). Utjecaj upalnih čimbenika na potvrdu AP-a, provjeren je logističkom regresijom (bivarijatna i multivarijatna - *Stepwise* metoda), uz iskazan omjer izgleda, i pripadajući 95 % raspon pouzdanosti. ROC (eng. *Receiver Operating Characteristic*) analiza primijenila se za određivanje optimalne granične vrijednosti, površine ispod ROC krivulje (eng. *area under the curve, AUC*), specifičnosti, osjetljivosti ispitivanih varijabli u slučaju dijagnoze AP-a te se odredila i značajnost razlika u površinama ispod krivulje za određene (DeLong metoda).

Sve su *P* vrijednosti dvostrane. Razina je značajnosti postavljena na Alpha = 0,05.

Podaci su analizirani statističkim postupcima ispitivanja razlika i povezanosti pomoću statističkog programa *MedCalc® Statistical Software version* 20.026 (*MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; https://www.medcalc.org; 2022*) i IBM SPSS 23 (*IBM Corp.Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.)*

5. REZULTATI

5.1. Opća obilježja ispitanika

Istraživanje je provedeno na 127-ero djece, od kojih je 83-oje (65,4 %) djece imalo dijagnozu AP, a 44-ero djece (34,6 %) činilo je kontrolnu skupinu. U skupini djece s AP-om značajno je veći broj ženske djece, 84,3 %, dok je udio muške djece 15,7 % (χ^2 test, P = 0,01). U kontrolnoj skupini ženske djece bilo je 56,8 %, a muške nešto manje, 43,2 % (Tablica 1).

S obzirom na dob, u ispitivanoj skupini bilo je 29-ero djece (35 %) dobi do 12 mjeseci, a u kontrolnoj skupini 10-ero djece (22,7 %). Od prve do četvrte godine života u ispitivanoj skupini bilo je 32-oje djece (38,4 %), u kontrolnoj skupini 16-ero 6,4 % djece. Od četiri do sedam godina u ispitivanoj skupini bilo je devetero djece (10,9 %), u kontrolnoj skupini desetero ili 22,7 % djece. U dobi iznad sedam godina, u ispitivanoj skupini bilo je trinaestero (15,7 %) djece, a u kontrolnoj skupini osmero ili 18,2 % djece, statističkom analizom nije dokazana razlika u dobi između dvije ispitivane skupine (χ^2 test, P = 0,19) (Tablica 5.2).

Tablica 5.1. Razdioba djece ispitivane i kontrolne skupine prema spolu

	Broj (%) bolesnika			*P**
	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis	Ukupno	
Spol				
Muški	19 (43,2)	13 (15,7)	32 (25,2)	0,01
Ženski	25 (56,8)	70 (84,3)	95 (74,8)	
Ukupno	44 (100)	83 (100)	127 (100)	

*χ^2 test

Tablica 5.2. Razdioba djece ispitivane i kontrolne skupine prema dobi

	Broj (%) bolesnika			*P**
	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis	Ukupno	
Dobne skupine				
Dojenačka dob	10 (22,7)	29 (35)	39 (30,7)	0,19
Dob 1- 4 godine	16 (36,4)	32 (38,4)	48 (37,8)	
Dob 4 – 7 godine	10 (22,7)	9 (10,9)	19 (15)	
Dob od 7 do 18 godina	8 (18,2)	13 (15,7)	21 (16,5)	
Ukupno	44 (100)	83 (100)	127 (100)	

*χ^2 test

Medijan dobi djece je 24 mjeseca (interkvartilni raspon od 11 do 66 mjeseci) u rasponu od 18 dana do 211 mjeseci (17,5 godina). Bolesnici s AP-om nešto su mlađi, medijan 18 mjeseci, u odnosu na medijan od 30 mjeseci kontrolne skupine, no bez statistički značajne razlike (Tablica 5.3.)

Tablica 5.3. Razlike u dobi ispitanika u odnosu na skupine

	Medijan (interkvartilni raspon)	Razlika†	95% raspon pouzdanosti	*P*[1]
Dob bolesnika (mjeseci)				
Kontrolna skupina	30 (12 –72)	-7,5	-19 do 0	0,07
AP[2]	18 (9 – 53)			

[1]Mann-Whitney U test; †Hodges-Lehmannova razlika medijana, [2]AP-akutni pijelonefritis

5.2. Razdioba ispitanika prema izoliranoj bakteriji u mokraći

U ispitivanoj skupini 11-ero djece (13,2 %) imalo je sterilnu kulturu mokraće, dok je 72-oje ili 86,8 % djece imalo značajnu bakteriuriju. U kontrolnoj skupini 88,6 % djece imalo je uredan mikrobiološki nalaz mokraće, a u 11,4 % izolirana je bakterija. Djeca ispitivane skupine imala su značajno veći broj pozitivnih mikrobioloških nalaza mokraće u odnosu na kontrolnu skupinu

(χ^2 test, P < 0,001). *E. coli* izolirana je u 83,2 % uzoraka ispitivane skupine, u tri uzorka izolirana je *Klebsiella pneumoniae ESBL soj* i u tri uzorka *Enterococcus faecalis*, dok su bakterije *Proteus mirabilis, Klebsiellu pneumoniae i Pseudomonas aeruginosa* izolirane svaka u po dva uzorka (Tablica 5.4.)

Tablica 5.4. Raspodjela ispitanika prema vrsti izoliranog uzročnika

	Broj (%) bolesnika			
	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis	Ukupno	*P*[1]
Mokraćna kultura				
Sterilno	39 (88,6)	11 (13,2)	50 (39,4)	<0,001
Izoliran uzročnik	5 (11,4)	72 (86,8)	77 (60,6)	
Ukupno	44 (100)	83 (100)	127 (100)	
Izolirani uzročnici				
E. coli	4 (80)	60 (83,2)	64 (83,1)	0,30
Klebsiella pneumoniae	0	2 (2,8)	2 (2,6)	
Klebsiella pneumoniae ESBL soj	0	3 (4,2)	3 (3,9)	
Pseudomonas aeruginosa	0	2 (2,8)	2 (2,6)	
Proteus mirabilis	0	2 (2,8)	2 (2,6)	
Saprofiti	1 (20)	0	1 (1,3)	
Enterococcus faecalis	0	3 (4,2)	3 (3,9)	
Ukupno	5 (100)	72 (100)	77 (100)	

[1]Fisherov egzaktni test

5.3. Razdioba ispitanika prema nalazu leukociturije u sedimentu mokraće

U skupini djece s AP-om, njih šestero (7,3 %) imalo je uredan sediment mokraće, 37 (44,5 %) djece imalo je značajnu leukocituriju, a 40 djece (48,2 %) imalo je piuriju (masa ili mnogo

leukocita u vidnom polju). U kontrolnoj skupini uredan nalaz imalo je 29-ero (66 %) djece, leukocituriju je imalo 14-ero (31,8 %) djece, dok je jedno dijete imalo piuriju.

Patološki nalaz sedimenta mokraće u značajno je većem broju zabilježen u djece s dijagnozom AP-a u odnosu na kontrolnu skupinu (χ^2 test, $P < 0,001$) (Tablica 5.5.)

Tablica 5.5. Raspodjela ispitanika prema nalazu sedimenta mokraće

	Broj (%) bolesnika			*P*[1]
	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis	Ukupno	
Sediment mokraće				
Uredan	29 (66)	6 (7,3)	35 (27,6)	< 0,001
Leukociturija	14 (31,8)	37 (44,5)	51 (40,2)	
Piurija	1 (2,2)	40 (48,2)	41 (32,2)	
Ukupno	44 (100)	83 (100)	127 (100)	

[1]χ^2 test

5.4. Usporedba nalaza C reaktivnog proteina, NGAL-a iz mokraće, prokalcitonina i leukocita između ispitivane i kontrolne skupine

Za postavljanje dijagnoze i adekvatnog liječenja određivali su se CRP, PCT i L iz seruma, te uNGAL i kod ispitivane i kontrolne skupine. U skupini djece s AP-om značajno su bile više vrijednosti svih čimbenika upale u odnosu na kontrolnu skupinu: CRP (medijan 95,1 vs. 27 mg/l) (Mann-Whitney U test, $P < 0,001$), L (16,2 vs. 12,4 $x10^9$ /L) (Mann-Whitney U test, $P < 0,001$), uNGAL (110,4 vs. 8,3 ng/ml) te PCT (1,57 ng/mL vs. 0,329 ng/mL) (Mann-Whitney U test, $P < 0,001$). Djeca iz kontrolne skupine imala su značajno nižu vrijednost svih ispitivanih upalnih čimbenika (Tablica 5.6.)

Tablica 5.6. Razlike u upalnim parametrima u odnosu na ispitivanu i kontrolnu skupinu

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika†	95 % raspon pouzdanosti	*P*[1]
	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis			
CRP[2] (mg/l)	27 (3,97 – 101,5)	95,1 (59,8 – 149,9)	57,5	33,9 do 80,6	<0,001
L[3] (x10^9/l)	12,4 (10,4 – 15,8)	16,2 (13,2 – 19,9)	3,6	1,8 do 5,2	<0,001
uNGAL[4] (ng/ml)	8,3 (4 – 14,9)	110,4 (60,9 – 294,9)	101	79,4 do 143	<0,001
PCT[5] (ng/ml)	0,32 (0,12 – 1,16)	1,57 (0,65 – 4,31)	0,77	0,24 do 1,51	<0,001

[1]Mann-Whitney U test; †Hodges-Lehmannova razlika medijana, [2]CRP – C reaktivni protein, [3]L – leukociti iz krvi, [4]uNGAL – lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom iz mokraće, [5]PCT – prokalcitonin

Značajno je više bolesnika s AP-om imalo povišeni broj leukocita u serumu u odnosu na kontrolnu skupinu (χ^2 test, P = 0,003) (Tablica 5.7.)

Tablica 5.7. Raspodjela ispitanika prema nalazu leukocita u serumu

	Broj (%) ispitanika			*P*[1]
Leukociti u serumu	Kontrolna skupina	Akutni pijelonefritis	Ukupno	
Uredan	33 (75)	39 (47)	72 (57)	0,003
Leukocitoza	11 (25)	44 (53)	55 (43)	
Ukupno	44 (100)	83 (100)	127 (100)	

[1]χ^2 test

Analizirala se međusobna povezanost čimbenika upale s uNGAL-om pomoću Spearmanova koeficijenta korelacije u skupini djece s AP-om i kontrolne skupine. Analizirajući povezanost uNGAL-a s upalnim čimbenicima kod djece s AP-om nije se našla značajna korelacija međusobne povezanosti CRP-a, PCT-a i L s uNGAL-om. Također, analizirajući povezanosti CRP-a, PCT-a i L s uNGAL-om kod djece iz kontrolne skupine nije nađena značajna korelacija navedenih ispitivanih parametara (Tablica 5.8.)

Tablica 5.8. Međusobna povezanost uNGAL-a i čimbenika upale

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P-vrijednost) uNGAL*	
	Akutni pijelonefritis	Kontrolna skupina
CRP[1] (mg/l)	0,075 (0,51)	0,204 (0,20)
L[2] ($x10^9$/l)	-0,059 (0,61)	0,157 (0,29)
PCT[3] (ng/ml)	-0,032 (0,78)	0,107 (0,59)

*uNGAL– lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom u mokraći, [1]CRP – C reaktivni protein, [2]L – leukociti iz krvi, [3]PCT – prokalcitonin

Da bi se ustanovila eventualna povezanost visine nalaza uNGAL-a sa spolom, koristio se Mann-Whitney U test i Hodges-Lehmannova razlika medijana. U kontrolnoj skupini značajno više vrijednosti uNGAL-a imaju ispitanici ženskog spola, (Mann-Whitney U test, $P < 0,001$), dok u skupini ispitanika s AP-om značajno više vrijednosti uNGAL-a imaju ispitanici muškog spola (Mann-Whitney U test, $P = 0,02$) (Tablica 5.9.)

Tablica 5.9. Razlike u vrijednostima uNGAL-a u odnosu na spol

	Medijan (interkvartilni raspon)	Razlika†	95 % raspon pouzdanosti	*P*[1]
Kontrolna skupina				
uNGAL[2] (ng/ml)				
Muški spol	3,15 (1,8 – 7,2)	8,2	4,8 – 11,9	<0,001
Ženski spol	12,7 (7,4 – 17,1)			
AP[3]				
uNGAL (ng/ml)				
Muški spol	225,8 (110,4 – 637,3)	-96,5	-229,3 do -16,6	0,02
Ženski spol	97,9 (51,2 – 284,5)			

[1]Mann-Whitney U test; †Hodges-Lehmannova razlika medijana, [2]uNGAL– lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom u mokraći, [3]AP – akutni pijelonefritis,

Analizirajući moguću povezanost visine nalaza uNGAL-a u odnosu na dob, nije utvrđena razlika u vrijednostima uNGAL-a u kontrolnoj skupini u odnosu na dobne skupine, dok u skupini s AP-om značajno više vrijednosti uNGAL-a imaju ispitanici u dobi do 12 mjeseci. A također i nešto više vrijednosti uNGAL-a imala su djeca dobi 7 – 18 godina (Tablica 5.10)

Tablica 5.10. Razlike u vrijednostima uNGAL-a prema dobnim skupinama

	Medijan (interkvartilni raspon)	*P*[1]
Kontrolna skupina		
uNGAL[2] (ng/ml)		
Dob 0 - 1 godina	9,4 (4,2 – 20,4)	0,63
Dob 1- 4 godine	7,5 (4,9 – 12,2)	
Dob 4 - 7 godine	7,6 (1,03 – 13,5)	
Dob 7 - 18 godina	12,1 (4,6 – 21,9)	
AP[3]		
uNGAL (ng/ml)		
Dob 0 – 1 godina	205,5 (94,1 – 405,4)	0,001
Dob 1- 4 godine	100,1 (50,3 – 148,5)	
Dob 4 – 7 godine	63,2 (44,5 – 97,6)	
Dob 7 - 18 godina	188,2 (88,1 – 635,4)	

[1]Kruskal-Wallis test (*post-hoc* Conover), na razini P< 0,05 značajno su više vrijednosti NGAL u dojenačkoj dobi u odnosu na dob od 1 do 7 godina; značajno su više vrijednosti u dobi od 7 – 18 godina u odnosu na dobi od 1 – 7 godina , [2]uNGAL– lipokalin povezan sa neutrofilskom gelatinazom u mokraći, [3]AP – akutni pijelonefritis,

5.5. Rezultati nalaza statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA

Statička scintigrafija bubrega je, kao najznačajnija slikovna pretraga u dijagnozi upale bubrežnog parenhima, učinjena svoj djeci koja su prema kliničkim slikama i laboratorijskim nalazima imala AP. U ispitivanoj skupini četvero djece (4,8 %) imalo je uredan nalaz, dok je 66-ero djece (79,5 %) imalo upalne promjene. Kod trinaestero djece (15,7 %) nađene su ožiljne promjene.

Analizirala se moguća povezanost nalaza statičke scintigrafije bubrega s visinama nalaza uNGAL-a i PCT-a za svako dijete koje je imalo dijagnozu AP-a. Kod djece s urednim nalazom statičke scintigrafije medijan vrijednosti uNGAL-a bio je 88,5ng/ml, s upalnim promjenama 124,1ng/ml, a kod djece s ožiljnim promjenama medijan uNGAL-a bio je 110,4 ng/ml. Nije utvrđena značajna razlika između visine nalaza uNGAL-a i jačine upalnih promjena na statičkoj scintigrafiji bubrega DMSA u ispitivanoj skupini. Također, uspoređujući visinu nalaza PCT-a s nalazom statičke scintigrafije bubrega nije zamijećena značajna povezanost ispitivanih čimbenika (Tablica 5.11.)

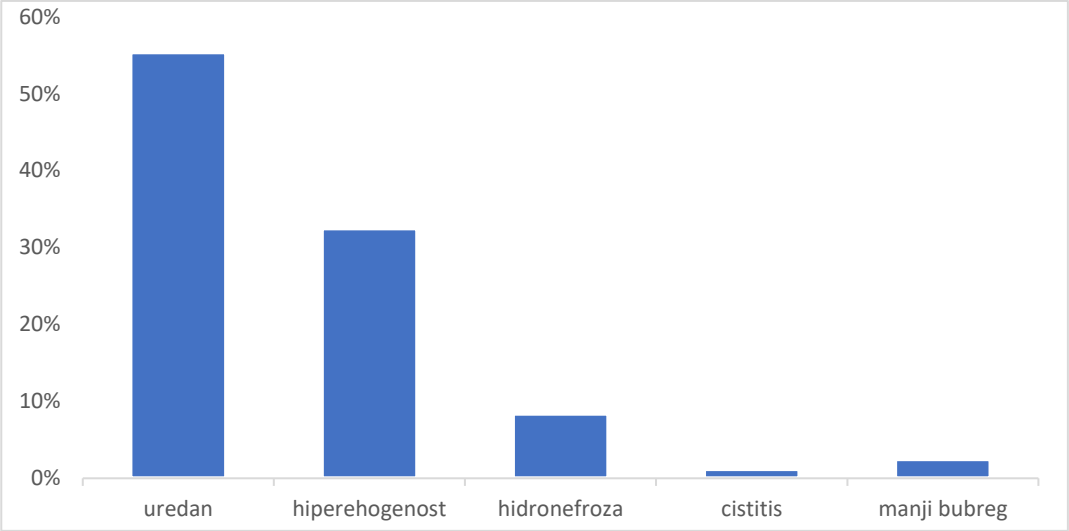
Tablica 5.11. Usporedba nalaza statičke scintigrafije bubrega s nalazima uNGAL-a i prokalcitonina kod djece s akutnim pijelonefritisom

	Medijan (interkvartilni raspon) prema nalazu statičke scintigrafije bubrega			*P*[1]
	Uredan	Upala	Ožiljne promjene	
uNGAL[2][ng/mL]	88,7 (50,9 – 144,7)	124,1 (58,2 – 299)	110,4 (71,1 – 343,1)	0,57
PCT[3] [ng/mL]	1,6 (0,55 – 14,6)	1,4 (0,58 – 4,4)	1,7 (1,45 – 4,3)	0,72

[1]Kruskal-Wallis test (*post-hoc* Conover), [2]uNGAL– lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom u mokraći, [3]PCT-prokalcitonin

5.6. Nalazi ultrazvuka mokraćnog sustava djece ispitivane skupine

UZ je učinjen svoj djeci s dijagnozom AP-a. Kod 46-ero djece (55,4 %) nalaz je bio uredan, kod 27-ero djece (32,5 %) registrirala se hiperehogenost i nehomogenost parenhima jednog ili oba bubrega, sedmero djece (8,4 %) imalo je hidronefrozu kanalnog sustava bubrega, dvoje djece (2,5 %) imalo je manji bubreg (oba desni), dok je jedno dijete (1,2 %) imalo cistitis (Slika 5.1.)



Slika 5.1. Ultrazvučni nalaz mokraćnog sustava djece s akutnim pijelonefritisom

5.7. Vrijednost čimbenika upale kod akutnog pijelonefritisa

Logističkom regresijom ocijenjen je utjecaj više upalnih čimbenika na vjerojatnost da će se kod promatranih ispitanika razviti klinička slika AP-a. Značenje pojedinih prediktora u predviđanju AP- a prikazano je tablicom (Tablica 5.12.)

Tablica 5.12. Predviđanje vjerojatnosti potvrde dijagnoze akutnog pijelonefritisa bivarijatnom regresijskom analizom

Čimbenik	ß	Wald	*P*	Omjer rizika (OR)	95% raspon pouzdanosti (CI 95 %)
CRP[1] [mg/l]	0,02	15,9	<0,001	1,02	1,01 do 1,02
L[2] [x10^9/L]	0,14	11,4	0,001	1,15	1,06 do 1,25
uNGAL[3] [ng/ml]	0,003	4,55	0,03	1,003	1,001 do 1,005
PCT[4] [ng/ml]	-0,007	0,13	0,72	0,99	0,95 do 1,03
Spol (Ž)	1,01	5,79	0,02	2,74	1,21 do 6,24

[1]CRP – C reaktivni protein, [2]L – leukociti u serumu, [3]uNGAL – lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom iz mokraće, [4]PCT – prokalcitonin

Kao model promatrali smo čimbenike koji su značajni (ženski spol, CRP, L, uNGAL). Model je u cijelosti statistički značajan (χ^2=25,8, P < 0,001) i u cjelini objašnjava između 19,4 % (po Cox & Snell) do 26,8 % (po Nagelkerke) varijance prisutnosti kliničke slike AP-akutnog pijelonefritisa, i točno klasificira 81 % slučajeva.

Multivarijatna regresijska analiza pokazuje da je kombinacija čimbenika CRP-a i L statistički značajna za prepoznavanje AP-a (Tablica 5.13.)

Tablica 5.13. Predviđanje vjerojatnosti potvrde dijagnoze akutnog pijelonefritisa multivarijatnom regresijskom analizom

Čimbenik	ß	Wald	*P*	Omjer rizika (OR)	95% raspon pouzdanosti (CI 95 %)
CRP[1] [mg/l]	0,01	11,35	<0,001	1,01	1,01 do 1,02
L[2] [x10^9/L]	0,09	4,38	0,04	1,10	1,01 do 1,19
Konstanta	-1,75	6,62	0,01		

[1]CRP – C reaktivni protein, [2]L – leukociti u serumu

5.8. Uloga ispitivanih čimbenika u razlučivanju skupine s AP-om i kontrolne skupine (ROC analiza)

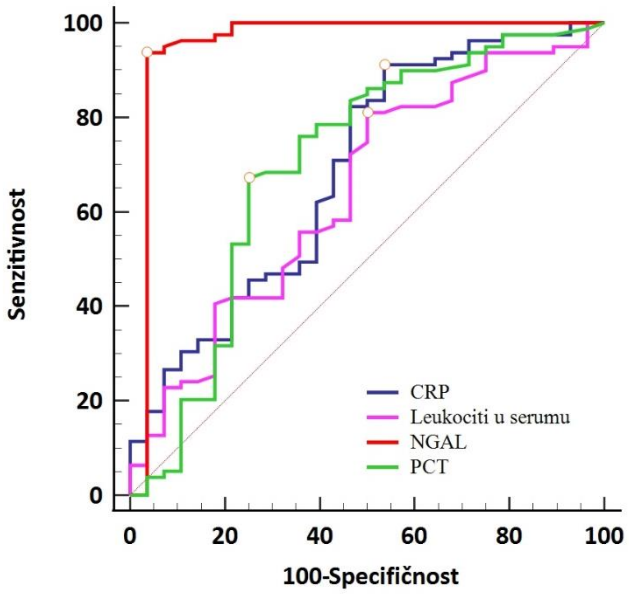
Metoda ROC-krivulje odabrana je kao jednostavan način procjene razlike pojedinog upalnog pokazatelja između skupine ispitanika s obzirom na AP, a određuje se temeljem specifičnosti i osjetljivosti. Da bi se procijenila vrijednost pojedinih čimbenika upale, korištena je metoda izračuna ROC krivulje kojom se stupnjevito mijenjaju vrijednosti važne u razlučivanju ispitanika s AP-om i bez njega. Mijenjana je točka razlučivanja za pojedinu skupinu ispitanika (eng. *cut-off point*), kako bi se stvaranjem ROC-krivulje moglo objektivno zaključiti koja vrijednost najbolje razlučuje uspoređene skupine (AP vs. kontrolna skupina).

U našim podatcima, s obzirom na AP, sve upalne čimbenike možemo prikazati kao dijagnostičke pokazatelje AP-a, s tim da je najznačajniji uNGAL (osjetljivost 92,4 %, specifičnost 95,8 %, $P < 0,001$) s graničnom vrijednosti >29,4 ng/ml. Najslabiji dijagnostički pokazatelj su L (AUC = 0,707) i PCT (AUC = 0,702) (Tablica 5.13. i Slika 5.2.)

Tablica 5.14. Parametri ROC krivulje promatranih upalnih čimbenika s obzirom na kliničku sliku akutnog pijelonefritisa

	AUC[1]	95% raspon pouzdanosti	Osjetljivost (%)	Specifičnost (%)	*cut off* (granična vrijednost)	Youden index	*P*
CRP[2] [mg/l]	0,752	0,664 – 0,826	82,3	63,4	> 45	0,457	<0,001
L[3] [x10^9/L]	0,707	0,620 – 0,784	77,2	60,4	> 12,9	0,376	<0,001
uNGAL[4] [ng/ml]	0,965	0,916 – 0,989	92,4	95,8	> 29,4	0,882	<0,001
PCT[5] [ng/ml]	0,702	0,606 – 0,787	67,1	75,0	> 0,90	0,421	0,002

[1]AUC – površina ispod krivulje, [2]CRP – C reaktivni protein, [3]L – leukociti iz krvi, [4]uNGAL – lipokalin povezan s neutrofilskom gelatinazom iz mokraće, [5]PCT – prokalcitonin



Slika 5.2. ROC analiza senzitivnosti, specifičnosti i graničnih vrijednosti za promatrane upalne čimbenike s obzirom na kliničku sliku akutnog pijelonefritisa

ROC analizom uspoređivana je značajnost razlika ispod krivulje (AUC) između pojedinih upalnih čimbenika kao dijagnostičkih pokazatelja AP-a. Usporedbom vrijednosti površine ispod ROC krivulje (AUC) za upalne čimbenike: CRP vs L (AUC razlika= 0,043; 95 % CI; -0,101 do 0,188; p=0,56), CRP vs PCT (AUC razlika=0,015; 95 % CI; -0,131 do 0,161; p=0,84), L vs PCT (AUC razlika=0,059; 95% CI; -0,071 do 0,189; p=0,38), nema statistički značajne razlike u vrijednosti za otkrivanje dijagnoze AP-a kod djece između analiziranih čimbenika. Usporedbom vrijednosti površine ispod ROC krivulje (AUC) uNGAL-a s ostalim upalnim čimbenicima: uNGAL vs CRP (AUC razlika=0,270; 95 % CI; 0,120 do 0,420; $p < 0,001$), uNGAL vs L (AUC razlika=0,313; 95 % CI; 0,165 do 0,461; $p < 0,001$), uNGAL vs PCT (AUC razlika=0,255; 95 % CI; 0,098 do 0,411; $p < 0,001$), nalazimo statistički značajnu razliku u vrijednosti za otkrivanje AP-a kod djece.

6. RASPRAVA

6.1. Opća obilježja ispitanika

Mokraćne su infekcije, poslije respiratornih, najčešće bolesti dječje dobi, a najveći broj IMS-a javlja se u dojenačkoj dobi. Infekcije su često i dijagnostički i terapijski problem budući da je ponekad teško razlučiti radi li se o upali gornjeg ili donjeg dijela mokraćnog sustava. Ulazak bakterija u mokraćni sustav ne mora uvijek biti i bolest jer je mokraća nepovoljna za rast bakterija zbog kiselosti, koncentracije ureje, prisutnosti organskih kiselina, visoke osmolalnosti te stalnog protoka mokraće. Ukoliko se upala dogodi, brza i točna dijagnoza upale, osobito AP-a, važna je radi prevencije neželjenih posljedica (1, 2, 4, 6, 12, 13).

Dugogodišnje pedijatrijsko iskustvo navodi me na promišljanje da je u današnjoj eri multiple rezistencije na antibiotike vrlo važno izbjeći nepotrebnu primjenu antibiotika, pa bi rani i brzi dijagnostički test ili odgovarajuća kombinacija testova, kojima bi se s većom vjerojatnošću mogao potvrditi AP značajno utjecao na tijek i ishod same bolesti.

Ova je studija obuhvatila 127-ero djece od 18 dana do 17,5 godina koja su dijagnostički obrađivana i liječena zbog povišene tjelesne temperature i simptoma akutne upalne bolesti. Ispitivana skupina obuhvatila je ukupno 83 djeteta koji su obrađeni i liječeni zbog dijagnoze AP-a. Djeca ispitivane skupine imala su kliničke i laboratorijske nalaze prema kojima se postavila dijagnoza AP-a. Klinički kriteriji su bili: povišena tjelesna temperatura ≥ 38°C, slabije unošenje hrane i tekućine, nenapredovanje na tjelesnoj težini kod manje djece, bolno plakanje, malaksalost, mučnina i povraćanje, a kod veće djece, uz navedene simptome i bolovi u trbuhu i suprapubičnoj regiji, bolovi u lumbalnim regijama, zamućena mokraća i njen neugodan miris. Laboratorijski kriteriji postavljanja dijagnoze AP-a bila su prema preporukama: povišen CRP >25 mg/l, povišen PCT >0,5 ng/ml, leukociturija >5L u vidnom polju velikog povećanja (x400) centrifugiranog uzorka mokraće, značajna bakteriurija jednim uzročnikom u mikrobiološkom nalazu mokraće (10, 11, 13, 66, 69).

U kontrolnoj skupini bilo je 44-ero djece, koja su imala akutne upalne bolesti respiratornog ili gastrointestinalnog sustava.

U ispitivanoj skupini bilo je 70 djevojčica i 13 dječaka, a statistički značajno manje bilo je muške djece, svega 15,7 % (χ^2 test, P = 0,01). Ovakav rezultat sukladan je rezultatima drugih studija koje se bave problemom mokraćnih infekcija dječje dobi u kojima je također u različitim omjerima značajno veća incidencija upala mokraćnog sustava u ženske djece (1, 2, 3, 10, 12). Veća sklonost razvoju IMS-a kod ženske djece nastaje zbog anatomskog izgleda mokraćne cijevi koja je kraća, šira i ravna u odnosu na mušku djecu, kao i blizine analnog otvora iz kojega koliformne bakterije lakše migriraju u mokraćni sustav. Analiza dobne distribucije pokazuje da je u ispitivanoj skupini 35 % djece bilo dojenačke dobi, dok ih je u kontrolnoj skupini bilo 22,7 %, s medijanom dobi djece koja je bila 24 mjeseca uz interkvartilni raspon od 11 do 66 mjeseci. Bolesnici s AP-om u ovoj studiji u prosjeku su bili mlađe dobne skupine s medijanom od 18 mjeseci u odnosu na medijan od 30 mjeseci koji su imali ispitanici kontrolne skupine, no nije bilo statistički značajne razlike u dobi djece ispitivanih skupina. Kod djece s AP-om u dobi do dvije godine bilo je više od polovice ispitanika, njih ukupno 57,8 %, što je važno znati jer su djeca dobi do tri godine najosjetljivija na oštećenje bubrežnog parenhima nakon akutne upale. Poznato je da simptomi IMS-a što je dijete mlađe bivaju manje specifični, te je i lakše previdjeti mogući AP, pa stoga i neadekvatno liječiti, a uočeno je da baš djeca te dobi imaju 5,8 puta veću stopu incidencije bubrežnih ožiljaka (112).

Kod djece s AP-om značajna bakteriurija nađena je u 72 uzorka mokraće (86,8 %), dok ih je 11 (13,2 %) bilo sterilno. Značajna bakteriurija jedan je od najznačajnijih dijagnostičkih pokazatelja akutne IMS-a, pa je razumljiv i očekivan visok postotak pozitivnih mikrobioloških kultura mokraće. Iako je ovaj kriterij važan za dijagnostiku IMS-a, u ovoj studiji kod 13,2 % ispitanika uzorak mokraće ostao je negativan na prisustvo bakterija. Negativni rezultati mikrobiološke kulture mokraće nisu rijetki u djece s IMS-om, te različite studije pokazuju prosječno oko 10% negativnih rezultata. U radu Levtchenko i sur. iz 2001. godine 9 % djece u skupini od 166 ispitanika imalo je sterilnu kulturu mokraće unatoč kliničkim i scintigrafskim nalazima AP-a (113), dok studija Lee i suradnika iz 2019. godine pokazuje >10 % sterilnih mikrobioloških nalaza mokraće unatoč registriranim upalnim promjenama na statičkoj scintigrafiji bubrega (58). Najčešći uzrok sterilnog mikrobiološkog nalaza mokraće je prethodno uvedena antibiotska terapija, jer poznato je da kultura mokraće postaje sterilna u vremenu 24-48 h po primjeni antibiotika. Iz naše studije bila su isključena djeca koja su prethodno primala antibiotsku terapiju, pa je mogući uzrok negativnog nalaza kulture mokraće

vjerojatno rani stadij upale, odnosno kratka inkubacija mokraće unutar mokraćnog mjehura. Isto tako neke vrste *E.coli* imaju sposobnost prodora u epitel mokraćnog mjehura i stvaranja unutarstaničnih bakterijskih zajednica, tzv. biofilma u kojemu imaju zaštitu od antibiotika, otežano se isplavljuju mokraćom i zaštićene su od imunogenih faktora domaćina (44,45). Taj mehanizam zaštićuje bakteriju od identifikacije u mikrobiološkom nalazu mokraće.

Kao što pokazuje i niz drugih studija i u ovoj studiji najčešće izolirana bakterija bila je *E. coli*, u 83,3 % djece s AP-om (1, 2, 4, 10, 13, 114), koja je i najčešći uzročnik prvih i nekompliciranih IMS-a. Ukupna incidencija pojavnosti *E.coli* u kulturi mokraće je i do 85 %, dok ostale Gram-negativne bakterije značajno rjeđe uzrokuju IMS (12, 13, 115). Koliformne bakterije najčešći su uzročnici IMS-a, a uočeno je da djeca koja imaju IMS uzrokovan drugom bakterijom, tzv. *ne-E. coli* imaju značajno češće anomalije mokraćnog sustava. Prema preporukama djeci koja su imala AP uzrokovan nekom drugom bakterijom, a ne *E. coli*, potrebno je učiniti pretragu za potvrdu ili isključenje VUR-a (1, 11, 13, 14).

Za određivanje bakteriurije od osobite je važnosti ispravno uzimanje uzorka mokraće, što je najvažniji uvjet za pouzdan nalaz. Greške u postavljanju dijagnoze česte su zbog poteškoća u razlikovanju značajne bakteriurije od zagađenja uzorka mokraće izvana. Kada se nađe bakteriurija, naročito bez određenih simptoma kliničke slike i bez promjena u sedimentu mokraće, potrebno je razmotriti je li uzorak uzet na pravilan način (9, 10, 13). Izbor metode uzimanja uzorka ovisio je o dobi djeteta. Kod djece koja ne kontroliraju mokrenje mokraća je u ovoj studiji, kao i u većini drugih studija, uzorkovana sterilnom vrećicom sakupljačem, a kod neke djece bilo je nužno uzeti uzorak mokraće transuretralnom kateterizacijom. To su bila djeca koja su bila dehidrirana i nije im se mogao adekvatno i brzo uzeti uzorak mokraće. Kateterizacija je obavljena uz pristanak roditelja. Zbog invazivnosti navedene metode, koristila se samo u neophodnim slučajevima. Kod djece koja kontroliraju mokrenje uzorak je uzet metodom srednjeg čistog mlaza. Značajna bakteriurija jednim uzročnikom neophodan je nalaz dokazivanja IMS-a i neophodan nalaz u uvođenju određene antibiotske terapije.

Mikroskopska analiza sedimenta mokraće, kojom se dokazuje prisutnost leukocita i bakterija, korisna je dijagnostička metoda u otkrivanju IMS-a i analizira se zajedno s nalazom kulture mokraće. Broj leukocita u sedimentu mokraće koji ukazuje na mogući IMS u našem istraživanju

bio je, prema preporukama, >5 leukocita u vidnom polju na velikom povećanju (x400) centrifugiranog uzorka mokraće (5, 6, 9). Osjetljivost nalaza leukociturije prosječno je 73 %, dok je specifičnost u prosjeku 81 %. Izrazito veliki broj leukocita u sedimentu mokraće, koji se izražava kao mnogo ili masa leukocita u vidnom polju, naziva se piurija. Kod djece s AP-om značajna leukociturija nađena je u 44, 5 % uzoraka, dok je piurija nađena u 48,2 % uzorka. Veliki postotak statistički značajne leukociturije (92,7 %) kod djece s AP- om pokazuje da je leukociturija važan laboratorijski čimbenik dijagnoze IMS-a.

Analiza leukocita u sedimentu mokraće ne može nadomjestiti mikrobiološki nalaz mokraće pri otkrivanju IMS-a, ali može biti dragocjena u slučajevima gdje je potrebno odmah započeti liječenje, dok se čekaju rezultati kulture. U tim je okolnostima značajna u kombinaciji s upalnim parametrima i kliničkim nalazom. Primjerice, ako dijete s povišenom tjelesnom temperaturom i pozitivnim leukocitima u mokraći ima uredne upalne parametre poput CRP-a i PCT-a, može se pričekati mikrobiološki nalaz mokraće prije uvođenja terapije. Ukoliko dijete ima leukocituriju, povišenu tjelesnu temperaturu i povišen CRP i PCT, prema svim preporukama, potrebno je uvesti antibiotsku terapiju bez čekanja mikrobiološkog nalaza (1, 2, 13, 54).

Kod uzimanja uzoraka mokraće za analizu sedimenta potrebno je, kao i kod uzimanja uzorka za kulturu, prethodno adekvatno čišćenje urogenitalne regije. Važno je znati da leukociturija ne mora nužno biti prisutna kod IMS-a jer bakterije iz roda *Enterococcus*, neke vrste bakterije *Klebsiella* i *Pseudomonas* imaju sklonost uzrokovanja IMS-a bez posljedično značajne leukociturije (53, 61). U ovom se radu nije koristio probirni nitritni test s obzirom da je nepouzdan i rijetko bude pozitivan kod male djece (12, 13, 54, 56). Poznato je da je Gram-negativnim bakterijama potrebno barem 4 sata da reduciraju nitrate u nitrite. Budući da mala djeca često mokre, urin se u mokraćnom mjehuru ne zadržava dovoljno dugo, radi čega je niska osjetljivost nitritnog testa u toj dobi (17,55).

Kod djece iz kontrolne skupine 88,6 % mikrobioloških nalaza mokraće bilo je uredno. U četvero djece izolirana je *E.coli*, a kod jednog djeteta nađene su saprofitne bakterije, koje pripadaju normalnoj mikrobiološkoj flori urogenitalne regije. Oko 32 % djece te skupine imalo je značajan broj leukocita u sedimentu > 5L/vidnom polju, a jedno dijete imalo je mnogo leukocita u sedimentu. Kod djece iz kontrolne skupine, s obzirom da su mokraćne kulture bile sterilne,

leukociturija je vjerojatno bila posljedica povišene tjelesne temperature i dehidracije. Tako je u istraživanju iz 1995. godine na 157-ero djece s povišenom tjelesnom temperaturom uočeno je da je 9 % djece imalo značajnu leukocituriju bez drugih nalaza značajnih za IMS-a (116).

Za postavljanje prave dijagnoze, uz mikrobiološku i mikroskopsku analizu mokraće, nužno je učiniti hematološke i biokemijske nalaze, odnosno odrediti koncentracije CRP-a, PCT-a i leukocite u serumu (66, 69). Kao novi marker u obje skupine, u ispitivanoj i kontrolnoj, određena je koncentracija biomarkera uNGAL-a.

Analizirana skupina djece s AP-om imala je značajno više vrijednosti svih upalnih parametara. CRP kod djece s AP-om imao je medijan 95,1 mg/l, dok je u kontrolnoj skupini medijan bio znatno niži 27 mg/l; leukociti u serumu kod djece s AP-om također su bili višeg medijana 16,2x10 ^{9}/L, dok je u kontrolnoj skupini bio 12,4x10^{9}/L; medijan uNGAL-a u djece s AP-om bio je trinaest puta veći nego u kontrolnoj skupini i iznosio je 110,4 ng/ml, a u kontrolnoj skupini 8,3 ng/ml; dok su se medijani PCT kod djece s AP-om 1,57 ng/mL i u kontrolnoj skupini 0,329 ng/mL razlikovali za oko četiri puta.

Ako se kao granična vrijednost za CRP-a uzme >45 mg/l, tada osjetljivost za dijagnozu AP-a iznosi 82,3 %, a specifičnost 63,4 %. Više sličnih istraživanja uzimali su vrlo različite vrijednosti CRP-a kao granične vrijednosti: 10 mg/; 34 mg/l i 70 mg /l, pa ovisno o tim postavkama i osjetljivost istih pokazuje različite varijabilnosti prosječno od 69 % do 70 %, a specifičnost od 61 % do 81%. Primjerice u ispitivanju na stotinu djece s AP-om, kod granične vrijednosti 70 mg/l, pouzdanost CRP-a da isključi dijagnozu AP-a bila je svega 38 % (74).

U provedenom istraživanju na 210 djece u dobi 2 mjeseca do 13 godina s febrilnom IMS-a, CRP je kod granične vrijednosti od 10 mg/l imao osjetljivost od 77 %, a specifičnost 81 % (117).

CRP je reaktant akutne faze i jedan je od važnijih indikatora upale. Kod upalnog podražaja raste u razdoblju 6-24 sata, s najvišom vrijednošću za 2-3 dana (64). On nam ne može otkriti lokalizaciju upale, ali je uz ostale laboratorijske čimbenike itekako važan u potvrdi infektivne

etiologije bolesti. Isto tako, praćenjem dinamike rasta i/ili pada vrijednosti CRP-a možemo utvrditi intenzitet upalne bolesti i učinkovitost antibiotske terapije.

Kilicaslan i suradnici analizirali su pouzdanost upalnih čimbenika; CRP-a i PCT-a u dijagnozi AP-a bez korištenja statičke scintigrafije bubrega, koja se ne može rutinski primjenjivati u svim ustanovama, a ima i određenu dozu zračenja. Granična vrijednost CRP-a iznosila je 34 mg/L za predviđanje AP-a s osjetljivošću 69 % i specifičnošću 61 %. Granična vrijednost PCT-a za dijagnozu AP-a bila je 0,23 ng/mL, s osjetljivošću 69 % i specifičnošću 66 %. U kombinaciji ovi su biomarkeri imali 63 % osjetljivost i 78 % specifičnost za predviđanje AP-a (118). U našoj studiji je nešto viša osjetljivost nalaza CRP-a, dok je specifičnost slabija, no i granična vrijednost u studiji je viša (>45 mg/l). Ovo ukazuje da CRP kao izolirani biomarker nije dostatan za potvrdu ili isključenje dijagnoze AP-a.

PCT je također reaktant akutne faze upale koji se relativno brzo povećava u krvi kada je u pitanju bakterijska infekcija. Njegov porast brži je od porasta CRP-a i značajno je osjetljiviji u dijagnozi upale uzrokovane bakterijom (71,72). U više radova analizirana je njegova osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a, pa i predviđanju nastajanja renalnih ožiljaka nakon upale. U našem istraživanju granična vrijednost PCT-a za dijagnozu AP-a bila je >0,9 ng/ml, s osjetljivošću od 67,1 % i specifičnošću 75 %. Analizirajući rezultate sličnih istraživa-nja, očigledno je da su nađene različite granične vrijednosti kao i osjetljivost i specifičnost PCT-a u postavljanju dijagnoze AP-a. Primjerice granične vrijednosti PCT-a u dijagnozi AP-a bile su od 0,5 ng/ml (119), 0,76 ng/ml (120), 1,03 ng/ml (121) pa do 4,48 ng/ml (74). Izračunate osjetljivosti kretale su se od niskih 31 % do 84,4 %, a specifičnost od 27,2 % do 88,5 %.

U studiji Zhang i suradnika iz 2013.godine na 65-ero djece analizirana je pouzdanost PCT-a u razlučivanju AP-a i upale donjeg mokraćnog sustava, te je zaključeno da je granična vrijednost PCT-a od 1.03 ng/ml pouzdana u razlikovanju te dvije dijagnoze s osjetljivošću 84,4 % i specifičnošću od 88,5 % (121).

Uspoređujući nalaz PCT-a i nalaz statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA u postavljanju dijagnoze AP-a, utvrđeno je da bi PCT mogao biti pouzdani marker za dijagnozu AP-a (122).

Ovakav nalaz ne potvrđuju i druge studije. Mahyar i suradnici su 2014. godine proveli studiju na 72-oje djece s dijagnozom IMS-a, te je svima učinjena statička scintigrafija bubrega kao zlatni standard dijagnoze AP-a. Kod svih ispitanika analizirana je vrijednost leukocita u serumu, neutrofila u serumu, SE, CRP-a i PCT-a. Rezultati pokazuju kako je osjetljivost PCT-a kod granične vrijednosti 0,5 ng/ml značajno niža od konvencionalnijih markera upale kao što je CRP i SE (119).

Prospektivna studija Bouguila i sur. iz 2013. godine uključila je u ispitivanje 75-ero djece s prvom febrilnom IMS-a. Svoj djeci učinjen je CRP, PCT, leukociti u serumu te DMSA scintigrafija bubrega za procjenu akutnog oštećenja bubrežnog parenhima. PCT je bio značajno viši u djece s AP-om, 8,81 ng/ml, a u djece s upalom donjeg mokraćnog sustava 1,7 ng/ml. Optimalna granična vrijednost za dijagnozu AP-a za PCT bila je 0,76 ng/ml, a za CRP 70 mg/l, iz čega proizlazi da je PCT značajno osjetljiviji u dijagnozi AP-a s 82 %, dok je osjetljivost CRP-a bila 70 % (120).

Studijom iz 2013. godine na 136-ero djece u dobi do 10 godina utvrđeno je da PCT kod granične vrijednosti od 1,3 ng/ml ima osjetljivost od 86,2 % i specifičnost od 89,8 % te je značajno pouzdaniji u dijagnozi AP-a od CRP-a (123). U istraživanju Pecile i sur. 2004. godine uključeno je stotinu djece dobi od 1 mjesec do 13 godina s dijagnozom AP-a. Prisutnost bubrežnih ožiljaka analizirana je nakon 6 mjeseci od preboljele upale DMSA scintigrafijom bubrega. U dijagnozi AP-a kod visine nalaza 4,48 ng/ml, PCT je imao osjetljivost 83,3 %, specifičnost 93,6 %, dok je CRP u vrijednosti 68,8-106 mg/l imao osjetljivost 94,4 %, a specifičnost svega 38 %. Zamijećeno je da je viša vrijednost PCT-a u početku bolesti bila u pozitivnoj korelaciji s pojavom ožiljaka (74).

U Cochrane analizi iz 2020. godine proučeno je ukupno 36 radova objavljenih do 2019. godine koje su analizirali dijagnostičku značajnost SE, CRP-a, PCT-a u dijagnozi AP-a. Analiza pokazuje da sedimentacija eritrocita nije dovoljno pouzdana u dijagnozi AP-a, da CRP kod vrijednosti <20 mg/l pokazuje pouzdanost u isključivanju dijagnoze AP-a. PCT je prikladniji od ostalih ispitivanih upalnih parametara za dijagnozu AP-a, ali heterogenost analiziranih studija onemogućuju adekvatan zaključak (66).

U ovom radu nije dokazana značajna povezanost visine nalaza PCT-a s jačinom upalnih promjena bubrežnog tkiva vidljivih na statičkoj scintigrafiji bubrega. Srednja vrijednost PCT-a kod djece s urednim nalazom scintigrafije bila je 1,6 ng/ml, a kod djece s promjenama na parenhimu bubrega 1,4 ng/ml i 1,7 ng/ml. Za razliku od nekih studija u kojima je PCT bio viših vrijednosti kod djece s upalnim i ožiljnim promjenama na bubrezima (74, 122), u našoj studiji visina nalaza PCT-a nije bila povezana s jačinom upalnih promjena utvrđenih statičkom scintigrafijom bubrega, a slične rezultate pokazalo je istraživanjem Mayhara i sur. (119). PCT je upalni biomarker koji brzo raste u bakterijskoj infekciji bilo koje lokalizacije, no ne može se koristiti kao izolirani parametar, ali uz pozitivne ostale dijagnostičke pokazatelje, kao što su leukociturija i pozitivna mikrobiološka kultura mokraće, može biti zadovoljavajuće pouzdan u dijagnozi AP-a kod djece.

6.2. Nalazi statičke scintigrafije bubrega Tc-99m DMSA djece s akutnim pijelonefritisom

Statička scintigrafija bubrega smatra se zlatnim standardom u dijagnostici AP-a kod djece jer je najpreciznija pretraga u otkrivanju upalnih promjena i kortikalnih oštećenja bubrežnog parenhima uzrokovanih upalom. Kao radiofarmak u upotrebi je Tc-99m DMSA (dimerkaptojantarna kiselina) koja se odlično veže za bubrežne tubule, te najbolje prikazuje morfologiju, oblik, veličinu, položaj te prikaz žarišnih oštećenja bubrežnog tkiva. Tc-99m DMSA scintigrafija omogućuje prikaz akutnih bubrežnih oštećenja i bubrežnih ožiljaka s visokom osjetljivošću i specifičnošću (124, 125, 126). Za procjenu upalnih promjena bubrežnog tkiva najbolje ju je učiniti u prvim danima bolesti, dok se za procjenu nastajanja bubrežnih ožiljaka pretraga obavlja 6 - 12 mjeseci nakon preboljele upale. Upalne promjene registriraju se kao oslabljeno nakupljanje radiofarmaka (blaža ili umjerena redukcija tubularne mase) gdje je još očuvana vanjska kontura bubrega. Jači stupanj oštećenja izostanak je kumulacije radiofarmaka tzv. „hladna zona“ s gubitkom vanjske konture bubrega, što ukazuje na moguće ožiljne promjene u tkivu bubrega (80).

Statička scintigrafija bubrega u ovom istraživanju učinjena je svoj djeci kojima je prema kliničkim i laboratorijskim nalazima dijagnosticiran AP. Pretraga je učinjena u prvih 5-10 dana bolesti, ovisno o stanju djeteta i u dogovoru s Kliničkim zavodom za nuklearnu medicinu KBC-

a Osijek. U skupini ispitanika uredan nalaz scintigrafije bubrega imalo je svega četvero djece (4,8 %), a poznato je da uredan nalaz DMSA scintigrafije bubrega kod djece s AP-om može biti ako je upala ograničena na papile i medulu bubrega (79). Blaži ili umjereni stupanj upalnih promjena imalo je 66-ero djece (79,5 %), dok je jači stupanj oštećenja bubrežnog tkiva, s neravninom vanjskih kontura bubrega što indirektno ukazuje na ožiljne promjene, imalo 13-ero djece (15,7 %). Kod djece kod kojih smo našli ožiljne promjene bubrežnog parenhima možemo s velikom vjerojatnošću pretpostaviti da su ranije imala upalu mokraćnog sustava koja je bila neprepoznata ili neadekvatno liječena što je uzrokovalo ožiljčenje parenhima. Genetski faktori također mogu imati značajnu ulogu u brzini i opsegu stvaranja ožiljnih promjena bubrega, posebice polimorfizmi u genima koji definiraju sposobnost imunološkog odgovora domaćina na bakterijsku infekciju (34, 50).

Istraživači su kroz razne studije pokušali ocijeniti ulogu i važnost Tc-99m DMSA scintigrafije kao i vrijeme u kojem se pretraga izvodi kako bi se procijenilo oštećenje bubrežnog parenhima. Jakšić i suradnici su na studiji koja je obuhvatila 39-ero djece u dobi od 1,5 mjeseca do 36 mjeseci analizirali značajnost inicijalne DMSA scintigrafije bubrega u procjeni zahvaćenosti bubrežnog parenhima upalnim promjenama, te zaključili da je DMSA scintigrafija korisna slikovna metoda u procjeni težine upalnih promjena kod male djece, a korisna je i kada je negativna urinokultura (82). AP u dječjoj dobi može dovesti do ireverzibilnog oštećenja bubrega, pa su već rane studije sredinom 90-tih godina utvrdile visoku specifičnost i osjetljivost DMSA scintigrafije u otkrivanju upalnih promjena i bubrežnih ožiljaka. Prema ranim spoznajama ožiljkaste promjene na bubrezima nakon upale ne razvijaju samo djeca do godinu dana, već i djeca starija od pet godina, stoga bi DMSA scintigrafija bubrega mogla odgovoriti na pitanje koja je optimalna duljina liječenja AP-a (124). Donoso i suradnici obradili su 143-oje djece dobi od osam dana do dvanaest godina s dijagnozom AP-a. UZ urotrakta i DMSA scintigrafija učinjeni su u prvih sedam dana od postavljanja dijagnoze. Patološki nalaz DMSA scintigrafije imalo je 79 % djece, dok su se nalazi scintigrafije podudarali s UZ nalazom u svega 32 % (127). Danas znamo da statička scintigrafija bubrega ostaje zlatni standard u procjeni oštećenja i zahvaćenosti bubrežnog parenhima kod AP-a u odnosu na sve druge slikovne pretrage. U velikoj studiji koja je obuhvatila 1467-ero djece u dobi od 1 mjesec do 14 godina s dijagnozom IMS-a, uredan nalaz DMSA scintigrafije imalo je 20,2 % djece, blage upalne

promjene 45 %, umjerene upalne promjene 12,3 %, dok je ožiljne promjene imalo 10,5 % djece. Osjetljivost DMSA scinti-grafije za predviđanje VUR-a bila je 84,1 %. (128).

Naša studija je kod svega četvero djece pokazala uredan nalaz statičke scintigrafije, dok je kod 79-ero djece (95,3 %) pokazala blaže ili jače upalne promjene, što je u odnosu na ispitivani broj u skladu s drugim prikazanim studijama. Statička scintigrafija ima visoku osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a, naročito u dječjoj populaciji (80, 81). Služi za dokazivanje zahvaćenosti bubrežnog parenhima upalnim promjenama, ali nije rutinska pretraga. Svakako je dijagnozu IMS-a potrebno dobro postaviti dokazom pozitivne mikrobiološke kulture mokraće i hematološkim i biokemijskim čimbenicima. Statička scintigrafija je vrlo važna slikovna pretraga kod AP-a, ali je invazivna, ima određenu dozu zračenja i nije pristupačna u svim zdravstvenim ustanovama.

6.3. Nalazi ultrazvuka mokraćnog sustava kod djece s akutnim pijelonefritisom

UZ je jedna od prvih slikovnih pretraga koja se radi djeci s bolestima mokraćnog sustava, a ima brojne prednosti jer je jednostavna, neinvazivna i može se više puta ponavljati. Vrlo je pouzdana u otkrivanju anomalija bubrega kao što su ageneza bubrega, malpozicija, manji bubreg, dilatacija kanalnog sustava i hidronefroza. Kod IMS-a je nešto manje pouzdana, ali se mogu vidjeti neke promjene koje indirektno upućuju na upalne promjene. To su kod AP-a izmijenjena ehogenost parenhima bubrega, nejasna kortikomedularna granica te volumi-nozniji bubreg. Kod upale mokraćnog mjehura (cistitis) zadebljana i neravna stijenka mokraćnog mjehura ukazuje na upalu. Točnost UZ nalaza ovisi i o stručnosti i iskustvu osobe koja radi pretragu te o suradnji djeteta prilikom pregleda. Nemir, plač, respiratorni pokreti te crijevni plinovi ometaju objektivnost pretrage.

U ovom radu svoj djeci ispitivane skupine učinjen je UZ urotrakta u prvih 72 sata bolesti. Čak polovica djece s AP-om (55,4 %) imalo je uredan UZ nalaz mokraćnog sustava, a takve ili slične rezultate pokazuju i druge studije, jer sam UZ nalaz nije dovoljno osjetljiv u dijagnozi upalnih promjena mokraćnog sustava. Za postavljanje dijagnoze AP-a osjetljivost mu je 39-49,2 %, a specifičnost oko 88 % (77,78).

Ovisno o broju djece koje su obuhvatile pojedine studije i iskustvu liječnika koji radi UZ pretragu varirala je i validnost same pretrage. Studija iz 2015. godine analizirala je medicinsku dokumentaciju stotinu djece dobi od 1 do 5 godina koja su liječena zbog IMS-a s povišenom tjelesnom temperaturom, te su uspoređeni nalazi UZ-a mokraćnog sustava i DMSA scintigrafija bubrega. U dijagnozi AP-a UZ nalazi imali su osjetljivost 32 %, a specifičnost 85 % (129). U radu Wanga i sur. UZ mokraćnog sustava u dijagnozi AP-a imao je osjetljivost 49,2 %, a specifičnost 88 % (79).

Budući da je na statičkoj scintigrafiji bubrega samo četvero djece imalo uredan nalaz, a UZ je kod 46-ero djece bio uredan, jasno je da UZ mokraćnog sustava ima ograničenu ulogu u dijagnozi AP-a (82). Ipak on ima svoje prednosti zbog jednostavnosti i neinvazivnosti i zbog toga je u različitim stanjima dječje dobi jedna od prvih slikovnih pretraga, kojom se dobro i brzo možemo orijentirati u procjeni akutnosti stanja.

6.4. Biomarker uNGAL u dijagnozi akutnog pijelonefritisa

Kao što je već više puta naglašeno, u dječjoj dobi važno je pravovremeno otkriti i liječiti IMS, a posebno AP, jer upala može izazvati trajno oštećenje bubrega (1, 2, 13, 112). Dostupni rutinski laboratorijski testovi koji se koriste u hitnim stanjima mogu imati ograničenja. CRP, PCT i L su upalni parametri koji se koriste u svim upalnim stanjima radi razlučivanja dijagnoze, međutim, njihov je porast nespecifičan. Oni sami za sebe ne mogu otkriti uzrok bolesti niti lokalizaciju bolesti, a njihova pouzdanost i specifičnost raste samo u međusobnoj kombinaciji. Leukociti u mokraći važan su nalaz u dijagnozi IMS-a. Leukociturija ne otkriva lokalizaciju IMS-a, a s druge strane može biti uzrokovana neadekvatnim uzorkovanjem mokraće, dehidracijom ili nekim drugim stanjem koji uzrokuje vrućicu. Također može biti pozitivna u nekim sistemskim bolestima i kod primjene nekih lijekova kao što su penicilinski antibiotici, nitrofurantoin, analgetici, diuretici (130). Ponekad je teško dobiti dovoljnu količinu potrebnu za analizu, pogotovo u dojenčadi i manje djece. Za mikrobiološku kulturu koja se koristi za utvrđivanje IMS-a potrebno je vrijeme, a nalazi su ponekad lažno pozitivni u onečišćenim uzorcima i lažno negativni ako je već započeta antibiotska terapija. Statička scintigrafija bubrega sa Tc-99m DMSA je najpreciznija pretraga u otkrivanju upalnih promjena i kortikalnih oštećenja bubrega uzrokovanih upalom s osjetljivošću od 91 % te specifičnošću i do 99 % (126).

Scitigrafija bubrega je za manju djecu traumatična, zahtijeva posebnu opremu, invazivna je i nije dostupna u svim bolničkim ustanovama.

Među mnogim serumskim i mokraćnim markerima za ranu detekciju AOB-a uNGAL je pokazao najbolje rezultate. Koncentracija uNGAL-a povećava se vrlo brzo kod bolesnika s različitim uzrocima bubrežne bolesti. Također je zamijećeno da je i NGAL iz plazme značajan pokazatelj radi li se virusnoj ili bakterijskoj infekciji. U nekoliko radova potvrđeno je da bi uNGAL mogao biti pouzdani i rani pokazatelj IMS-a u djece (108, 110, 111).

U ovom radu određena je koncentracija uNGAL-a i u ispitivanoj i kontrolnoj skupini. Djeca s dijagnozom AP-a imala su značajno više vrijednosti uNGAL-a (medijan 110,4 ng/ml), nego djeca kontrolne skupine (medijan 8,3 ng/ml).

ROC analizom odredila se granična vrijednost uNGAL-a, njegova osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a (granična vrijednost >29,4 ng/ml, osjetljivost 92,4 %, specifičnost 95 %). U odnosu na ostale ispitivane čimbenike, uNGAL je imao najveću osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a. Rezultati našeg rada slažu se s radovima o značajnosti nalaza uNGAL- a u dijagnozi IMS-a kod djece. Tako je u istraživanju Moon i sur. iz 2021. godine bilo uključeno 321 dijete s povišenom tjelesnom temperaturom i ocjenjivala se razina uNGAL-a, CRP-a i L kod djece s IMS-om i bez IMS-a. Djeca s IMS-om imala su značajno više vrijednosti uNGAL-a od druge skupine djece. Također je uNGAL bio značajno viši u djece koja su imala AP od djece s upalom donjeg mokraćnog sustava (eng. *low urinary tract infection*). Granična vrijednost uNGAL-a za dijagnozu AP-a bila je 53,1 ng/ml, s osjetljivošću 81,7 % i specifičnošću 67,2 %. CRP i L nisu bili u korelaciji s IMS-om gornjeg i donjeg mokraćnog sustava. Prediktivna vrijednost uNGAL-a bila je značajnija u otkrivanju IMS-a i AP-a od CRP-a i L (108). U našem radu utvrđena je nešto niža vrijednost uNGAL-a (>29,4 ng/ml) u predviđanju dijagnoze AP-a nego u istraživanju Moona i sur. i sa značajno boljom osjetljivošću i specifičnošću.

Seo i sur. 2014. godine analizirali su koncentraciju plazmatskog NGAL-a kod dojenčadi s IMS-om i dojenčadi s drugim upalnim stanjima praćenim povišenom tjelesnom temperaturom. Djeca

koja su scintigrafski imala uredan nalaz bubrega imala su niži plazmatski NGAL 60 ng/ml od djece s promjenama bubrežnog parenhima 106,5 ng/ml. Zanimljivo je da su djeca s drugim upalnim stanjima imali praktički iste vrijednosti plazmatskog NGAL-a kao i ona s urednim nalazom statičke scintigrafije bubrega, 60 ng/ml. Granična vrijednost plazmatskog NGAL-a u ovoj studiji bila je 61 ng/ml, osjetljivost 75 %, a specifičnost 78,3 % (131).

U istraživanju iz 2009. Yilmaz i sur. srednja vrijednost uNGAL-a bila je značajno viša u skupini djece s IMS-om nego u kontrolnoj skupini. Ispitano je 60-ero djece sa simptomatskim IMS-om i 20-ero djece kontrolne skupine. Unutar 7 dana svoj djeci s IMS-om učinjena je DMSA scintigrafija bubrega. Granična vrijednost uNGAL-a u predviđanju dijagnoze IMS-a bila je 20 ng/ml, osjetljivost 97 %, specifičnost 76% (132).

Yilmaz i suradnici dobili su graničnu vrijednost uNGAL-a od 20 ng/ml u predviđanju dijagnoze IMS-a koji su mjerili Elisa testom. Također u svom radu Abbasi i sur. 2020. godine utvrdili su da uNGAL kod optimalne granične vrijednosti od 30 do 39,9 ng/ml ima značajnu važnost u dijagnostici djece s prvom IMS-a, sa specifičnošću od 81 % i osjetljivošću od 85 % (107). Granična vrijednost uNGAL-a za dijagnozu IMS-a u našem radu vrlo je slična kao i u ova dva istraživanja. Naš izračun uNGAL-a kod djece bez IMS-a bio je 8,3 ng/ml. Iako upalna stanja, kao što su upale respiratornog i gastrointestinalnog sustava, mogu biti povezana sa značajnim porastom lokalne i sistematske ekspresije NGAL-a, naši rezultati pokazali su beznačajan utjecaj navedenih upalnih stanja na koncentraciju uNGAL-a (89, 90). Cangen i suradnici istraživali su koje su prosječne vrijednosti uNGAL-a u zdrave djece automatiziranom platformom ARCHITECTi1000. Medijan vrijednosti uNGAL-a bio je 5,2 ng/ml (interkvartilni raspon 2,5 - 12,8 ng/ml). Uočeno je da novorođenčad ima više vrijednosti uNGAL-a u usporedbi sa starijom djecom (133). U našem uzorku izračunati uNGAL kod djece bez IMS-a bio je slične vrijednosti i iznosio je 8,3 ng/ml.

U metaanalizi iz 2021. godine proučeno je 12 studija koje su ocjenjivale pouzdanost plazmatskog NGAL-a i uNGAL-a u dijagnozi IMS-a. Utvrđeno je da uNGAL ima bolju točnost u dijagnozi IMS-a od leukocitne esteraze. Metaanalizaom se zaključilo da ni plazmatski NGAL ni uNGAL nemaju dovoljno visoku specifičnost i osjetljivost za dijagnozu AP-a. NGAL iz

mokraće mogao bi biti pouzdaniji u dijagnozi IMS-a od plazmatskog, ali je potrebno daljnje proučavanje (134).

U istraživanju dojenčadi s vrućicom iz 2017. godine, najpouzdaniji pokazatelji u dijagnozi IMS-a pokazali su se uNGAL i IL-8. Osjetljivost uNGAL-a kod granične vrijednosti od 38 ng/ml bila je 93 %, a specifičnost 95 %. Rezultati istraživanja upućuju da dojenčad s vrućicom i povišenim uNGAL-om vjerojatno imaju IMS, dok kod dojenčadi s vrućicom i niskim uNGAL-om treba utvrditi drugu dijagnozu, odnosno uzrok vrućice (135). Navedeni rad ima vrlo sličnu graničnu vrijednost uNGAL-a, osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a, kao i rezultati u našem istraživanju.

U kliničkom ispitivanju iz 2016. godine ispitivala se pouzdanost više upalnih čimbenika u dijagnozi AP-a. Utvrđeno je da uNGAL kod granične vrijednosti u izraženoj jedinici >5 mg/l ima visoku specifičnost od 97,8 % i osjetljivost od 67,4 %. Leukociti u serumu i sedimenta-cija eritrocita imali su podjednaku osjetljivost kao uNGAL, ali je uNGAL pokazao bolju specifičnost u dijagnozi AP-a, slično kao nalaz CRP-a. Zaključeno je da je u dijagnozi AP-a i procjeni bubrežnog oštećenja najbolje koristiti kombinaciju laboratorijskih testova (136).

Budući da je glavni cilj ovog rada bio utvrditi pouzdanost uNGAL-a u dijagnozi AP-a kod djece, uspoređeni su dobiveni nalazi uNGAL-a s nalazima statičke scintigrafije bubrega. Utvrđeno je da niže vrijednosti uNGAL-a imaju djeca kojima je uredan nalaz statičke scintigrafije (medijan 88,7 ng/ml) u odnosu na djecu ispitivane skupine koja imaju upalne promjene (medijan 124,1 ng/ml) i djecu koja su imala žarišne izostanke nakupljanja radio-farmaka tj. ožiljne promjene (medijan 110,4 ng/ml). Međutim, nije utvrđena značajna razlika između visine nalaza uNGAL-a i jačine upalnih promjena na statičkoj scintigrafiji bubrega.

U studiji iz 2015. godine pokušalo se utvrditi postoji li povezanost visine nalaza uNGAL-a s nastajanjem ožiljaka na bubrežnom parenhimu nakon preboljelog AP-a. Rezultati su pokazali da djeca bez ožiljnih promjena na bubrezima i djeca s ožiljnim promjenama imaju vrlo slične vrijednosti uNGAL-a. U prvoj skupini djece uNGAL je iznosio 7,2 ng/ml, a u drugoj skupini 9,8 ng/ml (137). Vrijednost je NGAL-a kao prognostičkog markera za razvoj ožiljaka

bubrežnog parenhima, a nakon preboljelog AP-a, ograničena (138). Naši rezultati slažu se s rezultatima navedenih istraživanja, jer niti mi nismo uočili značajnu povezanost visine uNGAL nalaza s jačinom oštećenja bubrežnog parenhima na statičkoj scintigrafiji bubrega .

Da bi utvrdili postoji li spolna razlika visine uNGAL-a, analizirali smo vrijednosti nalaza uNGAL-a posebno kod muške i ženske djece. U ispitivanoj skupini djece s AP-om muška djeca imala su prosječno više vrijednosti uNGAL-a (medijan 225,8 ng/ml) od ženske djece (medijan 97,9 ng/ml). U kontrolnoj skupini bez IMS-a vrijednosti uNGAL-a bile su više kod ženske djece (medijan 12,7 ng/ml) nego kod muške (medijan 3,15 ng/ml). U nekoliko studija uočeno je da ženska djeca imaju više vrijednosti uNGAL-a. Tako u radu iz 2014. godine u kojem se analiziralo koje su referentne vrijednosti uNGAL-a u dječjoj dobi, kod ženske djece prosječna visina nalaza uNGAL-a je 19,18 ng/ml, a kod muške djece 6,55 ng/ml (139). Navedeni podatci slažu se našim rezultatima za djecu kontrolne skupine, jer djeca iz naše kontrolne skupine imaju nalaze uNGAL-a praktički u navedenim referentnim vrijednostima. Mogli bi pretpostaviti da se ispitivani biomarker niti ne izlučuje pojačano mokraćom u upalnim stanjima drugog uzroka.

Muška djeca u ispitivanoj skupini s AP-om imaju značajno više vrijednosti uNGAL-a u odnosu na žensku djecu. Nismo našli slična istraživanja koja su utvrdila kakve su vrijednosti nalaza uNGAL-a s obzirom na spol kod djece s AP-om. Jedan od objašnjenja može biti da muška djeca značajno rjeđe imaju IMS, pa kad se upala i dogodi nerijetko bude u kombinaciji s prirođenom razvojnom manom mokraćnog sustava te je samim tim jačeg intenziteta nego u ženske djece. U više studija uočeno je da je lučenje uNGAL-a pojačano kod oštećenja parenhima bubrega (108, 109).

Ispitali smo i utječe li dob ispitanika na visinu nalaza uNGAL-a. U skupini djece s AP-om značajno više vrijednosti uNGAL-a imala su djeca dobi do 12 mjeseci (medijan 205,5 ng/ml), dok je medijan uNGAL-a za djecu dobi 1- 4 godine bio upola manji te je iznosio 100,1 ng/ml. Za djecu dobi 4 -7 godina 63,2 ng/ml. U dobi 7 - 18 godina AP verificiran je kod 13-ero (15,7 %) djece te primjećujemo da u starijoj dobi ponovno imamo porast medijana uNGAL-a koji je iznosio 188,2 ng/ml. Ovo možemo objasniti djelomično manjim brojem bolesnika u toj dobnoj skupini kao i da starija djeca mogu duže vrijeme prikrivati simptome bolesti zbog jačeg općeg i lokalnog imunološkog sustava, te se dijagnoza IMS-a postavlja kada je već i značajnije

zahvaćen bubrežni parenhim. Za razjašnjenje ovakvog nalaza može se provesti posebno istraživanje djece starijih dobnih skupina. Rezultati našeg istraživanja slažu se rezultatima sličnih istraživanja, u kojima se također utvrdilo da djeca rane dječje dobi, posebice dojenčad imaju više razine uNGAL-a u AP-u (133, 139).

Koncentracija uNGAL-a najveća je u dojenačkoj dobi jer se tada bubrezi još razvijaju, a uNGAL ima važnu ulogu u proliferaciji nefrona. Prema nekim rezultatima, njegova se količina smanjuje sa starošću djeteta (140). Kod djece u kontrolnoj skupini nije dokazana značajna razlika u visinama nalaza uNGAL-a s obzirom na dob. U istraživanju Cangena i suradnika, koje je za cilj imalo utvrditi referentne vrijednosti uNGAL kod djece, dobivena je medijan uNGAL-a 5,2 ng/ml (133). Slične vrijednosti uNGAL-a dobili smo i mi kod djece u kontrolnoj skupini. Medijan u dobi do 12 mjeseci bio je 9,4 ng/ml, u dobi 1 - 4 godine 7,5 ng/ml, u dobi 4 - 7 godina 7,6 ng/ml, dok je u dobi 7 – 18 godina medijan bio 12,1 ng/ml. Dobiveni rezultati u ovoj studiji potvrđuju da se uNGAL ne povisuje u upalnim bolestima drugih uzroka. Specifičan je njegov porast upravo kod upalnog stanja u mokraćnom sustavu Bez obzira što je u nekim studijama utvrđeno da postoji razlika u razinama uNGAL-a s obzirom na dob djeteta u našem uzorku kontrolne skupine to nismo dokazali, dok je u ispitivanoj skupini potvrđeno da je razina veća što je dob djeteta manja.

Uvidom u rezultate ovog rada, može se zaključiti da je statička scintigrafija i dalje „zlatni standard“ u dijagnozi AP-a u dječjoj dobi. Premda u našoj studiji uNGAL ne prati svojom razinom jačinu upalnih promjena bubrežnog parenhima, on je pouzdan u postavljanju dijagnoze APN-a. Tim više jer je neinvazivan, a njegova količina u mokraći može se u kratkom roku analizirati. On se otpušta iz bubrežnih tubula tijekom upale ili oštećenja, a različita klinička stanja koja rezultiraju AOB-om vode do brzog porasta ovog biomarkera. Uočeno je i da je NGAL bolji indikator bubrežnog oštećenja u djece nego u odraslih (141).

6.5. Usporedba nalaza biomarkera uNGAL-a, C reaktivnog proteina, prokalcitonina i leukocita u serumu između ispitivane i kontrolne skupine

Kao što je ranije u raspravi navedeno, uspoređivali su se upalni čimbenici korišteni u dijagnozi upalnih stanja, a radi razlučivanja dijagnoza. U istraživanju je posebno bila važna pouzdanost ispitivanih nalaza u dijagnozi AP-a.

U skupini djece s AP-om bile su značajno više vrijednosti svih upalnih čimbenika u odnosu na kontrolnu skupinu: CRP 95,1 vs 27 mg/l; L 16,2x10 ^{9} /L vs 12,4x10^{9}/L; PCT 1,57 vs 0,329 ng/ml; uNGAL 110,4 vs 8,3 ng/ml.

Analizirajući povezanost uNGAL-a s upalnim čimbenicima kod djece s AP-om, nije se našla značajna korelacija međusobne povezanosti CRP-a i uNGAL-a, PCT-a i uNGAL-a, te L i uNGAL-a. Također nije nađena značajna međusobna povezanost uNGAL-a s ispitivanim čimbenicima upale kod djece kontrolne skupine.

Budući da nije nađena međusobna povezanost upalnih parametara s nalazom uNGAL-a u skupini djece s AP-om, može se utvrditi da povišena vrijednost uNGALa- ne mora nužno biti povezana s porastom ostalih ispitivanih upalnih čimbenika što pokazuje njegovu značajnu vrijednost u dijagnozi AP-a. Statistički nije nađena njegova povezanost s ostalim upalnim čimbenicima u kontrolnoj skupini, što je i razumljivo budući da se uNGAL niti ne povisuje u drugim upalnim stanjima (89,90).

Logističkom regresijom ocijenjen je utjecaj upalnih čimbenika koji mogu potvrditi dijagnozu AP-a. Analizirani su upalni čimbenici koji su značajni: CRP, leukociti u serumu, PCT, uNGAL, a promatrao se i utjecaj ženskog spola s obzirom na to da znamo da ženska djeca značajno više obolijevaju od AP-a (1, 3, 10). Utvrđeno je da su navedeni ispitivani čimbenici u cijelosti statistički značajni u dijagnozi AP-a. Gledajući svaki pojedini parametar uočeno je da svaki od njih značajno povećava izglede da bi dijete moglo imati AP. Najveću značajnost u predikciji AP-a imao je ženski spol jer, prema našim rezultatima, ženska djeca s povišenom tjelesnom temperaturom imaju 2,74 puta veće izglede za dijagnozu AP-a.

ROC analizom procijenjena je vrijednost pojedinih upalnih parametara kao dijagnostičkih pokazatelja AP-a. Prema našim rezultatima svi ispitivani upalni čimbenici pokazali su se značajni u dijagnozi AP-a, s tim da se najznačajniji pokazao uNGAL, kod granične vrijednosti > 29,4 ng/ml pri čemu raste osjetljivost na 92,4 % i specifičnost na 95,8 %.

PCT je značajan dijagnostički čimbenik u dijagnozi AP-a, ali nešto slabije osjetljivosti i specifičnosti od uNGAL-a. Visina vrijednosti PCT-a značajnija je u predviđanju mogućeg razvoja bakterijemije. Također ima svoju vrijednost u predviđanju nastanka sepse u dječjoj dobi (142). PCT nije nužno specifičan za dijagnozu AP-a. Njegova je veća vrijednost u razlučivanju virusne od bakterijske infekcije.

Nalaz CRP pokazao je značajnost u dijagnozi AP-a no tek kada se granična vrijednost podigne >45 mg/l, no i tada s manjom osjetljivošću (82,3 %) i specifičnošću (63,4 %) od uNGAL-a. CRP je reaktant akutne faze upale i, kao i PCT, pomaže u razlučivanju bakterijske od virusne infekcije. Manje je osjetljiv od PCT-a jer može porasti i u virusnoj infekciji. Primjerice, u virusnoj infekciji njegova koncentracija može porasti 20-40 mg/l, a uočeno je da kod infekcija uzrokovanih Adenovirusom ili CMV virusom može porasti i do 100 mg/l (64). Ne bi se trebao koristiti izolirano radi određivanja precizne dijagnoze određene bolesti, nego u kombinaciji s drugim upalnim parametrima.

Rezultati našeg istraživanja pokazali su statističku značajnost svih ispitivanih serumskih biomarkera za potvrdu dijagnoze AP-a kod djece. Usporedba ROC krivulja potvrdila je najveću značajnost uNGAL-a.

S obzirom na ROC analizu uspoređena je značajnost razlika ispod krivulje (AUC) između pojedinih upalnih čimbenika kao dijagnostičkih pokazatelja AP-a. U dijagnozi AP-a jednaku vrijednost imaju CRP i L, CRP i PCT, PCT i L, tj. nije dokazana statistički značajna razlika između njih u potvrdi dijagnoze AP-a. S druge strane, uspoređujući uNGAL s ostalim upalnim čimbenicima, utvrđeno je da postoje značajne razlike između uNGAL-a i CRP-a, uNGAL i L te između uNGAL i PCT. Prema dobivenim rezultatima ove studije, može se pretpostaviti da uNGAL, kao izolirani upalni čimbenik, ima dovoljnu osjetljivost i specifičnost u dijagnozi AP-a u dječjoj dobi. Kao što je ranije utvrđeno, porast uNGAL-a ne mora biti povezan s porastom ostalih upalnih parametara jer se uNGAL u odnosu na njih značajno ranije pojačano izlučuje

kod oštećenja bubrežnog parenhima. Uočeno je da se kod različitih bolesti, praćenih AOB-om, nakon 2 sata pojačano luči mokraćom, čak i 48 sati prije povećanja kreatinina u serumu. Ako se mjeri unutar prvih 6 sati od prijema, može točno predvidjeti učestalost AOB-a. U tome je bolji od plazmatskog NGAL-a jer je njega najbolje mjeriti unutar prvih 12 sati od prijema. Ponovno treba naglasiti da je uNGAL bolji biomarker kod djece i adolescenata nego u odraslih (143).

Zna se da se vrlo rano povećava njegova koncentracija u oštećenju bubrega i vrlo je vjerojatno da se isto tako brzo povećava razina uNGAL-a kod upalnih promjena bubrežnog tkiva. Primjerice, CRP kod infekcije raste u prvih 6-24 sata i najvišu vrijednost dostiže za 2-3 dana. PCT značajno brže raste od CRP-a i pouzdaniji je u procjeni bakterijske infekcije. Bez obzira na brzi rast PCT-a u bakterijskoj infekciji, kod dijagnoze AP-a u našem uzorku imao je slabiju i specifičnost i osjetljivost od nalaza uNGAL-a.

Kada se analiziraju dobiveni rezultati, može se reći da su svi parametri važni u svakodnevnoj kliničkoj upotrebi. Povišeni leukociti u serumu, povišen CRP i PCT s visokom pouzdanošću upućuju na bakterijsku infekciju, no ne otkrivaju točno lokalizaciju upalnog stanja. Djeca, poslije upala dišnih puteva, najviše boluju od IMS-a. U postavljanju dijagnoze, osim navedenih čimbenika upale, anamneza i detaljan klinički pregled ostaju i dalje nezamjenjivi u procjeni bolesti. Kada postoji klinička sumnja na IMS potrebno je analizirati sediment mokraće na prisutnost leukocita te učiniti kulturu mokraće, pridržavajući se preanalitičkih postupaka koji bi mogli dovesti do lažno pozitivnih nalaza (toaleta urogenitalne regije, uzimanje uzorka, vrijeme stajanja uzorka do analize). Za kulturu mokraće kojom će se utvrditi broj i vrsta bakterija potrebno je 24 - 48 sati za rast bakterija. Sediment mokraće ponekad, naročito kod male djece, može imati povišen broj leukocita što može biti uzrokovano febrilnim stanjem drugog uzroka, dehidracijom, zagađenjem i, često u hitnim ambulantama, neadekvatnom pripremom djeteta za uzorkovanje mokraće (116). Neadekvatno čišćenje urogenitalne regije može utjecati na pojavu lažno pozitivnog nalaza sedimenta mokraće i mirobiološkog nalaza. Biomarker uNGAL pokazao se kao najpouzdaniji biomarker oštećenja bubrežnog tkiva i IMS-a. Za određivanje njegove koncentracije potrebna je vrlo mala količina mokraće, 150 µl, nalaz je gotov za 35 minuta i za objektivnost nalaza nije potrebna posebna priprema djeteta.

Temeljem rezultata istraživanja Voldimerssona i suradnika iz 2017. godine zaključeno je da bi se, s obzirom na nalaz uNGAL-a, mogla razlučiti djeca do 12 mjeseci koja imaju IMS od neke druge febrilne infekcije. Djeca navedene dobi s vrućicom i povišenim uNGAL-om vjerojatno imaju IMS, a kod djece s vrućicom i niskim uNGAL-om bilo bi uputno utvrditi drugi uzrok vrućice, odnosno vjerojatno nemaju IMS (135). S obzirom na naše rezultate o visokoj osjetljivosti i specifičnosti uNGAL-a kod granične vrijednosti > 29,4 ng/ml u dijagnozi AP-a, slažemo se s navedenim zaključkom. Interpretacija nalaza uNGAL-a ima ograničenja kod djece koja imaju bubrežnu insuficijenciju, teže kronične i sistemske bolesti te maligne bolesti. U tim stanjima uNGAL može biti povišen (89, 94, 95).

Statička scintigrafija bubrega s Tc-99m DMSA je dugi niz godina zlatni standard u dijagnozi AP-a u dječjoj dobi. S visokom osjetljivošću (91 %) i specifičnošću (95 % - 99 %) ona je najpreciznija pretraga u otkrivanju upalnih promjena i kortikalnih oštećenja bubrega uzrokovanih IMS-om (126). Međutim, ne može biti primarna pretraga u dijagnozi AP-a budući da se već prije same pretrage dijagnoza postavi na temelju anamneze, kliničkog nalaza i laboratorijskih nalaza. Statička scintigrafija služi za potvrdu dijagnoze IMS-a, odnosno AP-a. Isto tako nije dostupna u svim centrima, traumatična je i dijete je izloženo određenom stupnju zračenja. Prema preporukama *National Institute for Health and Care Excellence* i *American Academy of Pediatrics*, Tc-99m DMSA ne pripada u rutinsku slikovnu obradu djece u dijagnozi IMS-a (62, 144). Djeci mlađoj od 6 mjeseci UZ mokraćnog sustava preporuča se učiniti kod akutne IMS-a, a naročito kod atipične i ponavljajuće IMS-a. Statička scintigrafija bubrega preporuča se nakon 4-6 mjeseci od preboljele IMS-a radi utvrđivanja eventualne prisutnosti oštećenja bubrežnog parenhima. Pod atipičnom IMS-a podrazumijeva se vrlo teška upala, opstrukcijske smetnje mokrenja, povišena vrijednost kreatinina u serumu, septikemija, IMS koje nisu uzrokovane bakterijom *E. coli*, neadekvatan odgovor na antibiotsku terapiju nakon 48 sati terapije (62, 14). Starijoj djeci preporuča se UZ mokraćnog sustava samo u ponavljajućim IMS-a, dok statička scintigrafija bubrega ima svoje mjesto nakon 4-6 mjeseci od preboljele infekcije.

Za ranu dijagnozu IMS-a potreban je brzi, neinvazivni i pouzdani upalni parametar koji se relativno lako može analizirati. Procjenjuje se da klinički pregled i analiza mokraće, ponekad i u više od 10 % slučajeva, nisu u mogućnosti dijagnosticirati IMS kod djece (145). Većina su

laboratorijskih pretraga u postavljanju dijagnoze za djecu, naročito manju, traumatične i invazivne. Biomarkeri iz mokraće imaju značajne prednosti jer pomažu u razlučivanju dijagnoze određenih infektivnih stanja i njihovo pojačano izlučivanje reakcija je organizma na uzročnika bolesti (145, 146, 147). Osim toga oni imaju i praktičnu vrijednost jer je uzimanje uzorka jednostavnije, potrebna je vrlo mala količina uzorka i nema potrebe za uzimanjem sterilnog uzorka mokraće.

NGAL iz mokraće izlučuju pretežno upalom promijenjene epitelne stanice bubrega, a tijekom bakterijskih infekcija luče ga neutrofili kako bi ograničili rast bakterija. U više istraživanja uočila se njegova pouzdanost u ranoj dijagnozi IMS-a, odnosno AP-a u dječjoj dobi. U odrasloj dobi nije utvrđena značajna pouzdanost biomarkera u dijagnozi IMS-a i AP-a. Prema studiji iz 2022. godine u kojoj se analiziralo više istraživanja, koja su ocjenjivala pouzdanost biomarkera kod IMS-a, osobito kod odraslih žena, zaključeno je da je potrebno detaljnije istraživanje, ali da su se kao najobećavajući biomarkeri u IMS-a pokazali uNGAL, uIL-6, u-IL-8 i laktoferin (147).

Prema rezultatima našeg istraživanja uNGAL bi imao jednu od važnijih uloga u dijagnozi IMS-a i AP-a. Mjerenje uNGAL-a je jednostavno, brzo, neinvazivno i potrebne su male količine mokraće. Mogao bi imati potencijalnu dobru kliničku primjenu kod hitnog dijagnostičkog algoritma u detekciji djece s IMS-om. U rezultatima našeg istraživanja pokazao se kao pouzdan i neovisan prediktor u razlučivanju uzroka upalnih stanja praćenih povišenom tjelesnom temperaturom kod djece. AP ozbiljna je bolest koja ponekad zahtijeva bolničko liječenje djeteta. Boravak u bolnici traumatično je iskustvo za dijete i roditelje. U tzv. *gentle approach* pristupu bolesniku (oprezan i nježan pristup) pokušava se što manje invazivnim pristupom bolesniku osigurati što bolja dijagnostika i liječenje (148). Tako se bolničko liječenje AP-a preporuča za djecu koja su lošeg općeg stanja, koja ne mogu primati oralnu antibiotsku terapiju i koja nemaju mogućnosti adekvatne skrbi (62, 144).

Ako bi se uNGAL koristio kao jedan od ranih dijagnostičkih pokazatelja upale, postoji mogućnost da bi visina nalaza mogla već u početku odrediti koliko je dijete zaista bolesno i je li mu bolničko liječenje potrebno ili ne. Kada bi se u prijemnoj ili hitnoj ambulanti analizirao

uzorak mokraće za određivanje koncentracije uNGAL-a kod djeteta s povišenom tjelesnom temperaturom, tada bi se, u slučaju povišenog uNGAL-a, moglo pretpostaviti da je u pitanju akutna IMS. Ipak, radi što točnije procjene i postavljanja dijagnoze, najbolje je koristiti kombinaciju svih ispitivanih laboratorijskih nalaza.

7. ZAKLJUČCI

1. Biomarker uNGAL je pouzdan rani dijagnostički pokazatelj razvoja AP-a u dječjoj dobi kod granične vrijednosti uNGAL-a > 29,4 ng/ml.
2. Postoji razlika u razini uNGAL-a između ženske i muške djece s AP-om, kao i djece dojenačke dobi koja imaju značajno višu razinu uNGAL-a u odnosu na stariju djece.
3. Povećanje biokemijskog pokazatelja PCT-a ima dobru pouzdanost u detekciji AP-a. Granična vrijednost u predviđanju AP-a je >0,9 ng/ml, ali nije dostatan za potvrdu dijagnoze.
4. Povećanje biokemijskog pokazatelja CRP-a ima dobru pouzdanost u detekciji AP-a. Granična vrijednost u predviđanju AP-a je >45 mg/l, ali bez drugih parametara nije dostatan za potvrdu dijagnoze.
5. Statička scintigrafija bubrega s Tc-99m DMSA i dalje ostaje zlatni standard u procjeni stupnja oštećenja bubrežnog parenhima, neovisno o razini uNGAL-a koji je pouzdan biomarker za AP, no, prema našim rezultatima, ne i za procjenu oštećenja bubrežnog parenhima.
6. Kombinacija hematoloških i biokemijskih laboratorijskih nalaza, uz pouzdanu anamnezu, klinički pregled, te nalaz sedimenta mokraće i mikrobiološke kulture mogu, s velikom vjerojatnošću potvrditi/isključiti AP kod djece. U interpretaciji svakog laboratorijskog nalaza treba uzeti u obzir sve navedene čimbenike kako bi se izbjegla situacija u kojoj „liječimo nalaze“, a ne dijete.

8. SAŽETAK

Cilj: Izmjeriti visinu nalaza uNGAL-a i ispitati njegovu dijagnostičku vrijednost u dijagnozi AP-a.

Ispitanici: Prospektivno presječno ispitivanje 127-ero djece s povišenom tjelesnom temperaturom podijeljenih u ispitivanu skupinu s 83-oje djece i kontrolnu skupinu s 44-ero djece s respiratornim i gastrointestinalnim upalnim bolestima.

Materijal i metode: Svoj djeci učinjeni su CRP, PCT, L, uNGAL, sediment mokraće i kultura mokraće. Djeci s AP-om učinjeni su UZ mokraćnog sustava i statička scintigrafija bubrega Tc-99m DMSA.

Rezultati: U ispitivanoj skupini djece s AP-om značajno je više ženske djece. Djeca s AP-om imaju statistički značajno više vrijednosti svih ispitivanih upalnih čimbenika: CRP-a, PCT-a i L. Također, djeca s AP-om imaju značajno više vrijednosti uNGAL-a od djece kontrolne skupine. Za dijagnozu AP-a izmjerene su granične vrijednosti upalnih čimbenika: uNGAL-a >29,4 ng/ml, CRP-a >45 mg/l, PCT-a >0,9 ng/ml. Najznačajniji u dijagnozi AP-a pokazao se uNGAL. Djeca dojenačke dobi i muška djeca s AP-om imala su značajno više vrijednosti uNGAL-a. Najčešće izolirana bakterija bila je *E. coli* (83,3 %). Leukociturija u mokraći bila je značajno više izražena kod djece ispitivane skupine.

Zaključak: U ovom istraživanju utvrđeno je da su svi korišteni čimbenici upale značajno viših vrijednosti kod djece s AP-om. To su CRP, PCT, L te ispitivani novi biomarker upale, uNGAL. NGAL iz mokraće statistički je značajno viši kod djece koja su liječena zbog AP-a. U usporedbi s ostalim upalnim parametrima, uNGAL kod granične vrijednosti >29,4 ng/ml pokazao se najznačajnijim dijagnostičkim pokazateljem AP-a s osjetljivošću od 92,4 % i sa specifičnošću od 95,8 %. Mogao bi se koristiti kao rani i pouzdani biomarker u predviđanju dijagnoze AP-a. Tim više jer je analiza navedenog biomarkera jednostavna, neinvazivna i dovoljna je vrlo mala količina mokraće (150µl), a rezultat nalaza gotov je za 35 minuta. Analizom dobivenih rezultata zaključeno je da su, osim nalaza uNGAL-a u dijagnozi AP-a, isto tako važni i ostali upalni parametri kao što su CRP, PCT, leukociti u serumu, broj leukocita u sedimentu mokraće i mikrobiološki nalaz mokraće.

Ključne riječi: biomarkeri – krv, urin; lipocalin-2 – urin; pijelonefritis – krv, dijagnoza, urin, dijagnostičko snimanje; infekcija urinarnog trakta – krv, urin; adolescent; dijete, dojenče, muška osoba; ženska osoba; ljudi

9. SUMMARY

Objective: The aim of this thesis is to measure the level of findings of the NGAL in urine and determine its diagnostic value in the diagnosis of AP in children.

Participants: In the prospective cross-sectional study, 127 children with fever were divided into two groups. The first group of children consisted of 83 children with AP, while the second, the control group, consisted of 44 children with inflammatory diseases of the respiratory and gastrointestinal tracts.

Material and methods: The following laboratory tests were done in all children: CRP, PCT, serum leukocytes, uNGAL, analysis of urine sediment, and urine culture. In children diagnosed with AP, an ultrasound of the urinary tract and static scintigraphy of the kidneys Tc-99m DMSA were performed.

Results: In the treated group of children with AP, there are significantly more female children. There was a statistically significant difference in CRP, PCT, and serum leukocyte levels between the treatment and control groups of children. Cut-off values of inflammatory parameters were measured to predict the diagnosis of AP. At the cut-off value of uNGAL > 29.4 ng/ml, at the cut-off value of CRP > 45 mg/l, at the cut-off value of PCT > 0.9 ng/ml. The uNGAL value was most significant in children with AP. Infants with AP and male children had significantly higher uNGAL values. The most common isolated cause of urinary tract infection was E. coli, in 83.3% of cases. Urinary leukocyturia was significantly more prevalent in the treatment group than in the control group.

Conclusion: In this study, it was found that all observed inflammatory parameters were significantly increased in children with acute pyelonephritis. These were CRP, PCT, serum leukocytes, and a new inflammatory biomarker uNGAL. Urinary NGAL was statistically significantly increased in children treated for AP. Compared to other inflammatory parameters, uNGAL proved to be the most important diagnostic indicator for AP at the cut-off value > 29.4 ng/ml, with a sensitivity of 92.4 % and a specificity of 95.8 %. The conclusion is that it could be used as an early and reliable biomarker for predicting the diagnosis of AP, especially because the analysis of this biomarker is simple and non-invasive, and a very small amount of urine, i.e., 150µl, is sufficient. The results are available within 35 minutes. The analysis of the obtained results showed that besides uNGAL, other inflammatory parameters such as CRP,

PCT, serum leukocytes, number of leukocytes in urine sediment, and microbiological urine findings are also important in the diagnosis of AP.

Keywords: Biomarkers – blood, urine; Lipocalin-2 –urine; Pyelonephritis – blood, diagnosis, urine, diagnostic imaging; Urinary Tract Infections – blood, urine; Adolescent; Child; Infant; Male; Female; Humans

10. LITERATURA

1. Kenda R. Liječenje infekcija mokraćnog sustava u djece-novosti i stari problemi. Paediatr Croat. 2002; 46(1):87-94.
2. Šubat-Dežulović M. Urinarna infekcija u djece: postupnik za dijagnozu, liječenje i slikovnu obradu. Medix. 2005;(60-61):157-61.
3. Avner ED, Harmon W, Niaudet P, Yoshikawa N, Paediatric Urinary Tract Infection: A Hospital Based Experience. J. Clin. Diagnostic Res. 2016;(10):4-7.
4. Hoberman A, Wald ER. Urinary tract infection in young febrile children. Pediatr Infect Dis J. 1997;16:11-17.
5. Becknell B, Schober M, KorbelL, Spencer JD. The Diagnosis, Evaluation and Treatment of Acute and Recurrent Pediatric Urinary Tract Infections. Expert Rev Anti Infect Ther. 2015; 13(1):81–90.
6. Bartkowski DP. Recognizing UTIs in infants and children: early treatment prevents permanent damage. Postgrad Med. 2001;109(1):171-81.
7. Haycock GB. Investigation of urinary tract infection. Arch Dis Child. 1986;61: 1155-8.
8. Svanborg C, De Man P, Sandberg. Renal involement in urinary tract infections. Kidney Int. 1991;39:541-9.
9. Morello W, La Scola C, Alberici I, Montini G. Acute pyelonephritis in children. Pediatr Nephrol. 2016;31(8):1253-65.
10. Butorac Ahel I, Flajšman Raspor S, Šubat Dežulović M. Infekcija mokraćnog sustava u dječjoj dobi: dijagnoza, liječenje i obrada. Urinary tract infection in children: diagnosis, treatment and imaging. Medicina fluminensis. 2012;48(2): 142-50.
11. Batinić D. Bolesti bubrega i mokraćnih organa. U: Zergollern Lj, Rainer-Banovac Ž, Barišić I, Richter D, Votava-Raić A. Pedijatrija 2. Zagreb. Naprijed; 1994. str. 1136-47.

12. Šubat-Dežulović M, Katalinić-Franulović J, Čekada S. Epidemiološke i kliničke osobitosti prve dokazane urinarne infekcije u djece. Paediatr Croat.1998;42:165-72.

13. Tešović G, Batinić D. Urinary Tract Infections in Children. Medicus. 2006; 15(2): 275-82.

14. Simões e Silva AC, Oliveira EA, Makb RH. Urinary tract infection in pediatrics: an overview. J Pediatr (Rio J). 2020;96(1):65-79.

15. Gonzales A, Salmona A, Garcia A. Prevalence of urinary tract infection in infants with high fever in the emergency department An Pediatr (Engl Ed). 2019;91(6): 386-93.

16. Palacios Loro ML, Segura Ramírez DK, Ordoñez Álvarez FA, Santos Rodríguez F. Congenital anomalies of the kidney and urinary tract. A vision for the paediatrician. An Pediatr (Barc). 2015;83(6): 442.e1-442.e5.

17. Craig JC. Urinary tract infectio: new perspectives on a common disease. Curr Opin Infect Dis. 2001;14: 309-13.

18. Vyletal P, Bleyer AJ, Kmoch S. Uromodulin biology and pathophysiology - An update. Kidney Blood Press Res. 2010;33(6):456-75.

19. Peach RJ, Day WA, Ellingsen PJ, McGiven AR. Ultrastructural localization of Tamm-Horsfall protein in human kidney using immuno gold electronmicroscopy. Histochem J. 1988;20:156–64.

20. Zaucke F, Boehnlein JM, Steffens S, . Polishchuk RS, Rampoldi L, Fischer A, i sur. Uromodulin is expressed in renal primary cilia and UMOD mutations result in decreased ciliary uromodulin expression. Hum Mol Genet. 2010;19(10):1985–97.

21. Pak J, Pu Y, Zhang ZT, Hasty DL, Wu XR. Tamm-Horsfall Protein Binds to Type 1 Fimbriated Escherichia coli and Prevents E. colifrom Binding to Uroplakin Ia and Ib Receptors. J Biol Chem. 2001;276(13):9924-30.

22. Weichhart T, Zlabinger GJ, Säemann MD. The multiple functions of Tamm-Horsfall protein in human health and disease: a mystery clears up. Wien Klin Wochenschr. 2005;117(9-10):316-22.

23. Kumar V, De La Vega LP, Farell G, Lieske JC. Urinary macromolecular inhibition of crystal adhesion to renal epithelial cells is im pairedin male stone formers. Kidney Int. 2005;68(4):1784-92.

24. Kucheria R, Dasgupta P, Sacks SH, Khan MS, Sheerin NS. Urinary tract infections: new insights into a common. Postgrad Med J. 2005;81:83-6.

25. Navidinia M, TeymouriAR, Goudarzi M. Assessment of correlation between urinary secretary IgA (sIgA) levels and different types of urinary tract infection (UTI) in various age groups. J Paramed sci. 2018;9(1):45-50.

26. Fliedner M, Mehls O, Rauterberg EW, Ritz E. Urinary sIgA in children with urinary tract infection. J Pediatr. 1986;109(3):416-21.

27. Becknell B, Spencer JD, Carpenter AR, Chen X, Singh A, Ploeger S, i sur. Expression and Antimicrobial Function of Beta-Defensin 1 in the Lower Urinary Tract. PLoS One. 2013;8(10):1-10.

28. Ganz T. Defensins: Antimicrobial peptides of innate immunity. Nature Rev Immunol. 2003;3:710-20.

29. Ambite I, Rydstrom G, Schwaderer AL, Hains DS. The Genetics of Urinary Tract Infections and the Innate Defense of the Kidney and Urinary tract. J Pediatr Genet. 2016;5(1):25–32.

30. Ragnarsdóttir B, Svanborg C. Susceptibility to acute pyelonephritis or asymptomatic bacteriuria: Host–pathogen interaction in urinary tracti nfections. Pediatr Nephrol. 2012; 27:2017–29.

31. Molteni M, Gemma S,Rossetti C. The Role of Toll-Like Receptor 4 in Infectious and Non infectious Inflammation. Mediators Inflamm. 2016. Dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27293318/. Datum pristupa 16.12.2021.

32. Ragnarsdóttir B, Samuelsson M, Gustafsson M, Leijonhufvud I, Karpman D, Svanborg C. Reduced Toll-Like Receptor 4 Expression in Children with Asymptomatic Bacteriuria. J Infect Dis. 2007;196(3):475–84.

33. Anders HJ, Patole PS. Toll-like receptors recognize uropathogenic Escherichia coli and trigger inflammation in the urinary tract. Nephrology Dialysis Transplantation. 2005;20(8):1529–32.

34. Lundstedt AC, McCarthy S, Gustafsson MC, Godaly G, Jodal U, Karpman D i sur. A genetic basis of susceptibility to acute pyelonephritis. PLoS One. 2007. Dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17786197/. Datum pristupa: 10.1.2022.

35. Smithson A, Sarrias MR, Barcelo J, Suarez B, Horcajada J, Soto SM i sur. Expression of Interleukin-8 Receptors (CXCR1 and CXCR2) in Premenopausal Women with Recurrent Urinary Tract Infections. Clin Diagn Lab Immunol. 2005; 12(12):1358–63.

36. Tseng-Rogenskiand S, Liebert M. Interleukin-8 is essential for normal urothelial cell survival. Am J Physiol Renal Physiol. 2009;297:816–2.

37. Godaly G, Bergsten G, Hang L, Fischer H, Frende B, Lundstedt AC i sur. Neutrophil recruitment, chemokine receptors, and resistance to mucosal infection. J Leukoc Biol. 2001;69:899-906.

38. Lüthje P, Brauner A. Virulence Factors of Uropathogenic E. coli and Their Interaction with the Host. Adv Microb Physiol. 2014;65:337-72.

39. Mannhardt W, Becker A, Putzer M, Bork M, Zepp F, Hacker J, i sur. Host defense with in the urinary tract. I. Bacterial adhesion initiates an uroepithelial defense mechanism. Paediatr Nephrol. 1996;10:568-72.

40. Wullt B, Bergsten G, Samuelsson M, Svanborg C. Effect of P fimbriae on pyuria and bacterial colonization of the human urinary tract. Urolog A. 2003;42:233-7.

41. Terlizzi ME, Gribaudo G, Maffei ME. UroPathogenic Escherichia coli (UPEC) Infections: Virulence Factors, Bladder Responses, Antibiotic, and Non-antibiotic Antimicrobial Strategies. Front Microbiol. 2017; 8:1-23.

42. Bien J, Sokolova O, Bozko P. Role of Uropathogenic Escherichia coli Virulence Factors in Development of Urinary Tract Infection and Kidney Damage. Int J Nephrol. 2012, dostupno na adresi https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312279/pdf/IJN2012-681473.pdf. Datum pristupa: 11.1.2022.

43. Matuszewski MA, Tupikowski K, Dołowyn L, Szymańska B, Dembowski J, Zdrojowy R. Uroplakines and their potential application in Urology. Cent European J Urol. 2016;69(3):252–7.

44. Robino L, Scavone P, Araujo L, Algorta G, Zunino P, Vignoli R. Detection of intracellular bacterial communities in a child with Escherichia coli recurrent urinary tract infections. Pathog Dis. 2013;68(3):78-81.

45. Marrs CF, Zhang L, Foxman B. Escherichia coli mediated urinary tract infections: Are there distinct uropathogenic E. coli (UPEC) pathotypes? FEMS Microbiol Lett. 2005;225(2):183–90.

46. Mattoo TK, Shaikh N, Nelson CP. Contemporary Management of Urinary Tract Infection in Children. Pediatrics 2021; dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33479164/. Datum pristupa: 11.2.2022.

47. Nicolle LE. Asymptomatic bacteriuria: when to screen and when to treat. Infect Dis Clin North Am. 2003;17(2):367-94.

48. Dahiya A, Goldman RD. Management of asymptomatic bacteriuria in children. Can Fam Physician. 2018;64(11):821-4.

49. Wald ER. Cystitis and pyelonephritis.U: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL, urednici. Text book of pediatric infectious diseases, 5. Philadelphia: Saunders; 2004. str. 541-5.

50. Murugapoopathy V, McCusker C, Gupta IR. The patogenesis and management of renal scarring in children with vesicoureteric reflux and pyelonephritis. Pediatr Nephrol. 2020;35(3):349-57.

51. Park YS. Renal scar formation after urinary tract infection in children. Korean J Pediatr. 2012;55(10):367–70.

52. Markotić A, Skuhala T, Škerk V. Nespecifične imunoreakcije na uropatogenu E. coli. Croatian Journal of Infection. 2014;34(4):195–8.

53. Veauthier B, Miller MV. Urinary Tract Infections in Young Children and Infants: Common Questions and Answers. Am Fam Physician. 2020;102(5):278-85.

54. Robinson JL, Finlay JC, Lang ME, Bortolussi R, Canadian PaediatricSociety, Community Paediatrics Committee, Infectious Diseases and Immunization Committee. Urinary tract infection in infants and children: Diagnosis and management. Paediatr Child Health. 2014;19(6):315–25.

55. Wammanda RD, Aikhionbare HA, Ogala WN. West Use of nitrite dipstick test in the screening for urinary tract infection in children. Afr J Med. 2000;19(3):206-8.

56. Ünsala H, Kamanb, Tanırb G. Relationship between urinalysis findings and Responsible pathogens in children with urinary tract infections. J Pediatr Urol. 2019;15(6), 606.e1-606.e6.

57. Doern CD, Richardson SE. Diagnosis of Urinary Tract Infections in Children. J Clin Microbiol. 2016;54(9):2233-42.

58. Lee JH, Rhie S. Reconsideration of urine culture for the diagnosis of acute pyelonephritis in children: a new challenging method for diagnosing acute pyelonephritis. Korean J Pediatr. 2019;62:433-7.

59. Kaufman J, Temple-Smith M, Sanci L. Urinary tract infections in children: an overview of diagnosis and management. BMJ Paediatrics Open. 2019; dostupno na adresi https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6782125/pdf/bmjpo-2019-000487.pdf. Datum pristupa: 20.12.2021.

60. Shaikh N, Hoberman A, Hum SW, Alberty A, Muniz G, Kurs-Lasky M, i sur. Development and Validation of a Calculator for Estimating the Probability of Urinary Tract Infection in Young Febrile Children. JAMA Pediatr. 2018;172(6):550-6.

61. A 't Hoen L, Bogaert G, Radmayr C, Dogan HS, Nijman RJM, Quaedackers J, i sur. Update of the EAU/ESPU guidelines on urinary tract infections in children. J Pediatr Urol. 2021;17:200-7.

62. American Academy of Pediatrics. Urinary Tract Infection: Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Management of the Initial UTi in Febrile Infants and Children 2 to 24 Months. Pediatrics. 2011; 128 (3):585-609.

63. Herreros Fernández ML, González Merino N, Tagarro García A, Pérez Seoane B, de la Serna Martínez M, Contreras Abad MT, i sur. A new technique for fast and safe collection of urine in newborns. Arch Dis Child. 2013;98(1):27-9.

64. Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. Pediatr Infect Dis J. 1997;16:735–44.

65. Fatima I, Shahid G, Ali SS, Bhatti N. C - Reactive Protein as A Predictor of Sepsis in Children Up to 5 Years of Age. JIMDC. 2017; 6(1):22-6.

66. Shaikh KJ, Osio VA, Leeflang MM, Shaikh N. Procalcitonin, C-reactive protein, and erythrocyte sedimentation rate for the diagnosis of acute pyelonephritis in children. Cochrane Database Syst Rev. 2020; 9(9); dostupno na adresi https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7104675/. Datum pristupa: 27.12.2021.

67. Rui-Ying Xu , Hua-Wei Liu, Ji-Ling Liu, Jun-Hua Dong. Procalcitonin and C-reactive protein in urinary tract infection diagnosis. BMC Urol. 2014;14:45, dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24886302/. Datum pristupa: 20.12.2021.

68. Jung HJ, Choi MH, Pai KS, Kim HG. Diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound for acute pyelonephritis in children. Sci Rep. 2020;10(1): dostupno na adresi https://www.nature.com/articles/s41598-020-67713-z. Datum pristupa: 19.12.2021.

69. Zhang H, Yang J, Lin L, Huo B, Dai H, He Y. Diagnostic value of serum procalcitonin for acute pyelonephritis in infants and children with urinary tractinfections: an updated meta-analysis. World J Urol. 2016;34(3):431-41.

70. Leung AKC, Wong AHC, Leung AAM, Hon KL. Urinary Tract Infection in Children. Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov. 2019;13(1):2-18.

71. Bañuelos-Andrío L, Espino-Hernández M, Ruperez-Lucas M, Villar-Del Campo MC, Romero-Carrasco CI, Rodríguez-Caravaca G. Usefulness of analytical parameters in the management of paediatric patients with suspicion of acute pyelonephritis. Is procalcitonin reliable? Rev Esp Med Nucl Imagen Mol. 2017;36(1):2-6.

72. Kotoula A, Gardikis S, Tsalkidis A, Mantadakis E, Zissimopoulos A, Deftereos S, i sur. Comparative efficacies of procalcitonin and conventional inflammatory markers for prediction of renal parenchymal inflammation in pediatric first urinary tract infection. Urology. 2009;73(4):782-6.

73. Boon HA, Struyf T, Bullens D, Van den Bruel A,Verbakel JY. Diagnostic value of biomarkers for paediatric urinary tract infections in primary care: systematic review and meta-analysiss, BMC Fam Pract. 2021; 22:193, dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34565335/. Datum pristupa: 19.12.2021.

74. Pecile P, Miorin E, Romanello C, Falleti E,Valent F, Giacomuzzi F, i sur. Procalcitonin: a marker of severity of acute pyelonephritis among children. Pediatrics. 2004;114(2):e249-54.

75. Litao MKS, Kamat D. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-Reactive Protein: How Best to Use Them in Clinical Practice. Pediatr Ann. 2014;43(10):417–20.

76. Riley LK, Rupert J. Evaluation of Patients with Leukocytosis. Am Fam Physician. 2015;92(11):1004-11.

77. Pennesi M, Amoroso S, Pennesi S, Giangreco M, Cattaruzzi E, Pesce M, i sur. Is ultrasonography mandatory in all children at their first febrile urinary tract infection? Pediatr Nephrol. 2021;36:1809-16.

78. Ataei https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16082551/ - affiliation-1N, Madani A, Habibi R, Khorasani M. Evaluation of acute pyelonephritis with DMSA scans in children presenting after the age of 5 years. Pediatr Nephrol. 2005;20(10):1439-44.

79. Wang YT, Chiu NT, Chen MJ, Huang JJ, Chou HH, Chiou YY. Correlation of renal ultrasonographic findings with inflammatory volume from dimercaptosuccinicacid renal scans in children with acute pyelonephritis. J Urol. 2005;173(1):190-4.

80. Šubat-Dežulović M. Radionuklidne pretrage u pedijatrijskoj nefrologiji. Paediatr Croat. 2002;46 (1):51-8.

81. Kuzmanovska D, Šahpazova E, Bogdanovska A, Konstadinova R. Parenhimna bubrežna oštećenja u djece sa infekcijom mokraćnog sustava. Paediatr Croat. 2008;52(1):212-7.

82. Jaksic E, Bogdanovic R, Artiko V, Sobic Saranovic D, Petrasinovic Z, Petrovic M, i sur. Diagnostic role of initial renal cortical scintigraphy in children with the first episode of acute pyelonephritis. Ann Nucl Med. 2011;25(1):37-43.

83. Chroustová D, Palyzová D, Urbanová I, Kolská M. Results of a five-year study of 99mTc-DMSA renal scintigraphy in children and adolescents following acute pyelonephritis. Nucl Med Rev Cent East Eur. 2006;9(1):46–50.

84. Jang SJ. Nuclear Medicine in Pediatric Urology. Child Kidney Dis. 2015;19:14-22.

85. Majkic-Singh N. What is a Biomarker? Fromits Discovery to ClinicalApplication. J Med Biochem. 2011;30(3):186-92.

86. Strimbu K, Tavel JA. What are Biomarkers? Curr Opin HIV AIDS. 2010;5(6): 463–6.

87. Noto A, Cibecchini F, Fanos V, Mussap M. NGAL and Metabolomics: The Single Biomarker to Reveal the Metabolome Alterations in Kidney Injury. Biomed Res Int. 2013. Dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23607092/. Datum pristupa: 20.12.2021.

88. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of Acute Kidney Injury. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2008;48:463-93.

89. Chakraborty S, Kaur S, Tong Z, Batra SK, Guha S. Neutrophil gelatinase associated lipocalin: Structure, function and role in human pathogenesis. U: Veas T, urednik. Acute Phase Proteins Regulation and Functions. Croatia: InTechOpen; 2011. str. 347-60.

90. Kowsalya R, Jagatheesh K, Padarthi PK, Elangovan N. A functional approach on

Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) – lipocalin family. Int J Bioassays. 2013;2(2):483-7.

91. Clifton MC, Corrent C, Strong RK. Siderocalins: siderophore-binding proteins of the Innate immune system. Biometals. 2009;22:557-64

92. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Stong RK. The Neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore – mediated iron acquisition. Mol Cell. 2002;10:1033-43.

93. Singer E, Markó L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Müller DN, i sur. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. Acta Physiol (Oxf). 2013;207(4):663-72.

94. Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The Multifaceted Roles of Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) In Inflammation and Cancer. Biochim Biophys Acta. 2012;1826(1):129–69.

95. Zhang J, Wu YJ, Zhang Y, LeRoith D, Bernlohr DA, Chen X. The role of lipocalin 2 in the regulation of inflammation in adipocytes and macrophages. Mol Endocrinol. 2008;22:1416-26.

96. Srinivasan G, Aitken JD, Zhang B, Carvalho FA, Chassaing B, Shashidharamurthy R, i sur. Lipocalin 2 deficiency dysregulates iron homeostasis and exacerbates endotoxin –induced sepsis. J Immunol. 2012;189:1911-9.

97. Carrillo-Esper R, Castillo-Albarrán FM, Pérez-Jáuregui J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel biomarker in acute kidney injury. Cir Cir. 2011;79 (6):577-81.

98. Miao Y, Abraham SN. Kidney α – intercalated cells and lipocalin 2: defending the Urinary tract. J Clin Invest. 2014;124(7):2844-6.

99. Tanzil W, Wilar R, Mantik M, Umboh A, Tatura S. Comparison of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin to serum creatinine to assess kidney function in neonatal asphyxia. Paediatr Indones. 2016;56:356-9.

100. Naunova-Timovska S, Cekovska S, Sahpazova E, Tasić V. Neutrophil gelatine-associated lipocalin as a nearly biomarker of acute kidney injury in newborns. Acta Clin Croat. 2020;59(1):55-62.

101. Paragas N, Qiu A, Hollmen M, Nicolas TL, Devarajan P, Barasch J. NGAL – Siderocalin in kidney disease. Biochem Biophys Acta. 2012;1823:1451-8.

102. Helanovaa K, Spinara J, Parenicaa J. Diagnostic and Prognostic Utility of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) in Patients with Cardiovascular Diseases – Review. Kidney Blood Press Res. 2014;39:623-9.

103. Buonafine M, Martinez-Martinez E, Jaisser F. More than a simple biomarker: the role of NGAL in cardiovascular and renal diseases. Clin Sci (Lond)., 2018;132(9):909-23.

104. Bennett M, Dent CL, Ma Q, Dastala S, Grenier F, Workman R, i sur. Urine NGAL Predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospectiv estudy. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3:665-73.

105. Shaikh N, Martin JM, Hoberman A, Skae M, Milkovich L, McElheny C, i sur. Biomarkers that differentiate false positive Urinalyses from true urinary tract infection. Pediatr Nephrol. 2020;35:321-9.

106. Forster CS, Johnson K, Patel V, Wax R, Rodig N, Barasch J, Bachur R, Lee RS. Urinary NGAL deficiency in recurrent urinary tract infections. Pediatr Nephrol. 2017;32(6):1077-80.

107. Abbasi A, Nabizadeh F, Gardeh M, Mohamed Ali K, Yousefifard M, Hosseini M. Discriminatory Precision of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin in Detection of Urinary Tract Infection in Children: a Systematic Review and Meta-Analysis. Arch Acad Emerg Med. 2020. Dostupno na adresi: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32440667/. Datum pristupa: 20.1.2022.

108. Moon JH, Yoo KH, Yim HE. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a marker of urinary tract infection among febrile children. Clin Exp Pediatr. 2021;64(7):347-54.

109. Nickavar A, Safaeian B, Valavi E, Moradpour F. Validity of Neutrophil Gelatinase Associated Lipocaline as a Biomarker for Diagnosis of Children with Acute Pyelonephritis. Urol J. 2016;13(5):2860-3.

110. Pamuk U, Kalman S, Tascilar ME, Sertoglu E. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker for the diagnosis of urinary tract infection in children. Med-Science. 2022;11(1):70-4.

111. Shaikh N, Liu H, Kurs-Lasky M, Forster CS. Biomarkers for febrile urinary tract infection in children. Pediatr Nephrol. 2022;37(1):171-7.

112. Lee J, Woo Woo B, Kim HS. Prognostic Factors of Renal Scarring on Follow-up DMSA Scan in Children with Acute Pyelonephritis. Child Kidney Dis. 2016;20(2):74-8.

113. Levtchenko EN, Lahy C, Levy J, Ham HR. Role of Tc-99m DMSA scitigraphy in the diagnosis of culture negative pyelonephritis. Pediatr Nephrol. 2001;16:503-6.

114. Kaufman J, Temple-Smith M, Sanci L. Urinary tract infections in children: an overview of diagnosis and management. BMJ Paediatrics Open 2019. Dostupno na adresi https://bmjpaedsopen.bmj.com/content/3/1/e000487. Datum pristupa: 20.12.2021.

115. García Del Villar O, Barrios Peña K. Urinary Tract Infection in Pediatrics: Clinical Approach and Follow Up. Salud Uninorte. Barranquilla (Col.) 2018;34 (1):203-11.

116. G. M.Turner, M.G. Coulthard. Fever can cause pyuria in children. BMJ. 1995; 311(7010):924.

117. Rimal HS, Walavakar S. The role of quantitative C-reactive protein, white blood cell count and pyuria in predicting urinary tract infection among febrilne infants and children. BJHS. 2017;2(3):296-9.

118. Kilicaslan B, Noyan A, Cengiz N, Sariturk C, Parmaksiz G, Baskin E. Can We Differentiate Pyelonephritis and Cystitis without 99mTc-Dimercaptosuccinic Acid Scan in Children? Yıl. 2015;40(3):49–503.

119. Mahyar A, Ayazi P, Ahmadi R, Daneshi-Kohan MM, Hashemi HJ, Dalirani R, i sur. Are serum procalcitonin and interleukin-1 beta suitable markers for diagnosis of acute pyelonephritis in children? Prague Med Rep. 2014;115(1-2):16-23.

120. Bouguila J, Khalef I, Charfeddine B, Ben Rejeb M, Chatti K, Limam K, i sur. Comparative study of C-reactive protein and procalcitonin in the severity diagnosis of pyelonephritis in children. Pathol Biol (Paris). 2013;61(3):93-8.

121. Zhang L, Yu Q, Kuan-Peng G, Su-Wu Y, Sai L, Li-Ya M. Role of procalcitonin in the diagnosis of acute pyelonephritis in children. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi. 2013;15(2):85-7.

122. Gürgöze MK, Akarsu S, Yilmaz E, Gödekmerdan A, Akça Z, Ciftçi I, Aygün AD. Proinflammatory cytokines and procalcitonin in children with acute pyelonephritis. Pediatr Nephrol. 2005;20(10):1445-8.

123. Chen SM, Chang HM, Hung TW, Chao YH, Tsai JD, Lue KH i sur. Diagnostic performance of procalcitonin for hospitalised children with acute pyelonephritis presenting to the paediatric emergency department. Emerg Med J. 2013;30(5):406-10.

124. Girardin E, Benador D. Role of DMSA scintigraphy in managing pediatric pyelonephritis. Arch Pediatr.1998;5(3);285-9.

125. Eggli DF, Tulchinsky M, Scintigraphic evaluation of pediatric urinary tract infection, Semin Nucl Med.1993;23(3):199-218.

126. Piepsz A, Blaufox MD, Gordon I, Granerus G, Majd M, O'Reilly P, i sur. Consensus on renal cortical scitigraphy in children with urinary tract infection. Semin Nucl Med. 1999;2:160-74.

127. Donoso G, Lobo g, Arnello F, Arteaga MP, Hevia P, Rosati P, i sur. Tc99mDMSA scintigraphy in children with a first episode of acuta pyelonephritis; correlation with laboratory tests, echography and the presence of vesico-ureteral reflux. Rev Med Chil. 2004;132(1):58-64.

128. Mohkam M, Maham S, Rahmani A, Naghi I, Otokesh B, Raiiati H, i sur. Tehnetium Tc99m dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy in children with acute pyelonephritis: correlation with other imaging tests. Iran J Kidney Dis. 2010;4(4):297-301.

129. Ayazi P, Mahyar A, Noroozian E, Esmailzadehha N, Barikani A. Comparison of renal ultrasonography and dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy in febrile urinary tract infection. Le Infezioni in Medicina. 2015;4:323-9.

130. Dieter RS. Sterile pyuria: a differential diagnosis. Compr Ther. 2000;26:150–2.

131. Seo WH, Nam SW, Lee EH, Je BK, Yim HE, Choi BM. A rapid plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin assay for diagnosis of acute pyelonephritis in infants with acute febrile urinary tract infections: a preliminary study. Eur J Pediatr. 2014;173(2):229-32.

132. Yilmaz A, Sevketoglu E, Gedikbasi A, Karyagar S, Kiyak A, Mulazimoglu M, i sur. Early prediction of urinary tract infection with urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin. Pediatr Nephrol. 2009;24(12):2387-92.

133. Cangemi G, Storti S, Cantinotti M, Fortunato A, Emdin M, Bruschettini M, i sur. Reference values for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in pediatric age measured with a fully automated chemiluminescent platform. ClinChem Lab Med. 2013;51:1101–5.

134. Shaikh K, Rajakumar V, Osio VA, Shaikh N. Neutrophil gelatinase- associated lipocalin for urinary tract infection and pyelonephritis: a systematic review. Pediatr Nephrol. 2021;36(6):1481-7.

135. Voldimersson S, Jodal U, Barregard l, Hansson S. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and other biomerkers ininfants with urinary trca infection and in febrile controls. Pediatr Nephrol. 2017;32(11):2079-87.

136. Gashemi K, Esteghamati M, Borzoo S, Parvaneh E, BorzooS. Predictive Accuracy of Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for renal parenchymal involvement in Children with Acute Pyelonephritis. Electronic Physician. 2016;8(2):1911–7.

137. Rafiei A, Mohammadjafari H, Bazi S, Mirabi AM. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) might be an independent marker for anticipating scar formation in children with acute pyelonephritis. J Renal Inj Prev. 2015;4(2):39-44.

138. Forster CS, Devarajan P.Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: utility in urologic conditions. Pediatr Nephrol. 2017;32(3):377-81.

139. McWilliam SJ, Antoine DJ, Sabbisetti V, Pearce RE, Jorgensen AL, Lin Y, i sur. Reference intervals for urinary renal injury biomarkers KIM-1 and NGAL in healthy children. Biomarkers Med. 2014;8(10):1189–97.

140. Jung N, Byun HJ, Park JH, Kim JS, Kim HW, Ha JY. Diagnostic accuracy of urinary biomarkers in infants younger than 3 months with urinary tract infection. Korean J Pediatr. 2018;61(1):24-9.

141. Tomonaga Y, Szucs T, Ambuhl P, Nock S, Risch M, Risch L. Insights on urinary NGAL obtained in a primary care setting. Clin Chim Acta. 2012;413:733–9.

142. Mahtjan P, Grzybowski M, Chen X. Procalcitonin as a Marker of Serious Bacterial Infections in Febrile Children Younger Than 3 Years Old. Acad Emerg Med. 2014;21(2):171-9.

143. Ataei N, Ameli S, Yousefifard M, Oraei A, Ataei AF, Bazargani, B, i sur.. Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and Cystatin C in Early Detection of Pediatric Acute Kidney Injury; a Diagnostic Accuracy Study. Emerg (Tehran) 2018. Dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29503827/. Datum pristupa: 19.12.2021.

144. NICE. Urinary tract Infections in children and young people under 16 years. NICE Pathways. Dostupno na adresi http://pathways.nice.org.uk//pathways/urinary-tract-infections. NICE. Datum pristupa: 15.1.2022.

145. Ashkenazi-Hoffnung L, Livni G, Scheuerman O, Berger I, Eden E, Oved K, i sur. Differential Serum and Urine CRP, IP-10, and TRAIL Levels in Pediatric Urinary Tract Infection. Front. Pediatr. 2021. Dostupno na adresi https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34966702/. Datum pristupa 12.1.2022.

146. Masoumeh M. Novel Urinary Biomarkers for Diagnosis of Acute Pyelonephritis in Children. Iran J Kidney Dis. 2020;14(1):1-7.

147. Martino FK, Novara G. Asymptomatic Bacteriuria or Urinary Tract Infection? New and Old Biomarkers. Int. J. Transl. Med. 2022;2:52–65.

148. Morello W, La Scola C, Alberici I, Montin G. Acute pyelonephritis in children. Pediatr Nephrol. 2015;31(8):1253-65.

11. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 18.listopada 1963. godine u Osijeku, gdje sam završila osnovnu školu i srednju Medicinsku školu. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisala sam 1982. godine, a diplomirala sam 11. travnja 1988. godine. Pripravnički staž u trajanju od godine dana obavila sam u Kliničkoj bolnici Osijek. Nakon toga radila sam u ambulantama primarne zdravstvene zaštite pri Domu zdravlja Osijek.

Specijalizaciju iz pedijatrije u Kliničkoj bolnici Osijek započela sam 1994. godine, a specijalistički ispit položila sam u listopadu 1999. godine. Godine 2010. položila sam subspecijalistički ispit iz pedijatrijske nefrologije. Magistrirala sam 2011. godine s temom „Utjecaj tehnike uzimanja urina na procjenu značajnosti bakteriurije u djece“. Naslov primarijusa stekla sam 2016. godine.

Od položenog specijalističkog ispita aktivno sudjelujem u nastavi predmeta Pedijatrije na Medicinskom fakultetu sveučilišta u Osijeku, putem seminara i vježbi. Godine 2014. izabrana sam u naslovno suradničko zvanje asistenta na Katedri za pedijatriju Medicinskog fakulteta Osijek.

Stručno sam se usavršavala u Hrvatskoj i inozemstvu, te završila tri poslijediplomska tečaja trajnog usavršavanja: ultrazvuk abdominalnih organa, ultrazvuk abdominalnih organa u dječjoj dobi, te tečaj kontrastne mikcijske cistouretrografije. Aktivno sam sudjelovala na većem broju kongresa i simpozija sa usmenim i pisanim stručnim radovima i priopćenjima.

Od 2001. godine voditelj sam Odjela za dječju nefrologiju Klinike za pedijatriju, a od 2015. godine voditelj sam Odjela za dječju kardiologiju, nefrologiju, hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC Osijek

Član sam Hrvatskog pedijatrijskog društva, Hvatskog drušva nefrologije, dijalize i transplantacije i Hrvatskog pedijatrijskog nefrološkog društva.