

# İnsüline bağımlı diabetes mellitusta renal tutulumun erken belirlenmesi

## Early detection of renal impairment in patients with insulin dependent diabetes mellitus

Hurşit APA<sup>1</sup>, Ceyhun DİZDARER<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İzmir

<sup>2</sup>Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Endokrinoloji Kliniği, İzmir

### ÖZET

**Amaç:** İnsüline bağımlı diabetes mellituslu (IBDM) hastalarda renal tutulumun erken belirlenmesinde önemi olan mikroalbuminüri ve  $\beta_2$ -MG'nin üriner atılımını ve renal fonksiyonel rezerv (RFR) kapasitesini değerlendirmek; ayrıca mikroalbuminüri, tubuler proteinüri ve RFR'in metabolik kontrol ve hastalık süresi ile ilişkilerini araştırmak amacı ile IBDM tanısı ile takip edilen 22 hasta ve kontrol grubu olarak, yaş uyumlu 10 sağlıklı olgu çalışmaya alındı.

**Yöntemler:** Tüm olgulara RFR testi uygulandı. Test başlangıcında ve protein yüklemeye sonrası pik üriner albumin ve  $\beta_2$ -MG düzeyleri belirlendi.

**Bulgular:** Hasta grubunun test sırasındaki ortalama HbA1C düzeyi  $11.08 \pm 2.47$ , açlık kan şekeri ortalaması  $249.90 \pm 52.6$  idi. Maksimum %GFR artışı hastalarda  $31.95 \pm 27.31$ , kontrollerde  $49.09 \pm 18.99$  olarak bulundu. Hasta grubunda pik GFR ve maksimum %GFR artışı istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü ( $p < 0.05$ ). Hasta grubunda, bazal ve pik üriner albumin düzeyi ortalaması (sırası ile;  $31.71 \pm 32.96$ ,  $34.14 \pm 33.14$ ) arasında, bazal ve pik  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması (sırası ile;  $5.34 \pm 3.64$ ,  $2.15 \pm 3.02$ ) arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunda bazal ve pik üriner albumin düzeyi ortalaması (sırası ile;  $17.84 \pm 9.98$ ,  $18.04 \pm 7.54$ ) arasında, bazal ve pik  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması (sırası ile;  $1.43 \pm 0.6$ ,  $1.43 \pm 1.09$ ) arasında istatistiksel farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Her iki grubun üriner albumin ve  $\beta_2$ -MG bazal ve pik değerleri arasında fark yoktu ( $p > 0.05$ ). Hastalık süresi, HbA1C ile pik GFR ve maksimum %GFR artışı arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı ( $p < 0.05$ ). Ancak hastalık süresi, HbA1C ile üriner albumin ve  $\beta_2$ -MG arasında istatistiksel ilişki gözlenmedi ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Her iki grup arasında üriner albumin,  $\beta_2$ -MG değerleri açısından anlamlı farklılık gözlenmezken, pik GFR ve maksimum %GFR'nin hasta grubunda kontrollerden daha düşük bulunması, RFR testinin duyarlılığının oldukça yüksek olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** İnsüline bağımlı diabetes mellitus, renal fonksiyonel rezerv kapasitesi

### ABSTRACT

**Objective:** We evaluated microalbuminuria, excretion of urinary  $\beta_2$ -MG and the capacity of renal functional reserve (RFR) in patients with insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) which may be important in detecting early renal involvement. We also evaluated the relationship between microalbuminuria, tubular proteinuria, RFR and metabolic control and duration of illness in IDDM. For this purpose, we designed a case control study.

**Methods:** Renal functional reserve test was performed in all cases. Levels of peak urinary albumin and  $\beta_2$ -MG protein were measured at the beginning of test and after protein loading.

**Results:** In the patient group, mean hemoglobin A1C (HbA1C) ( $11.08 \pm 2.47\%$ ), and the fasting plasma glucose ( $249.90 \pm 52.6$  mg/dL) were also measured. Maximal glomerular filtration rate (GFR) increased at a rate of  $31.95 \pm 27.31\%$  in the patient and  $49.09 \pm 18.99\%$  in the control group. In the patient group, the peak GFR level and the maximal increase rate in GFR were statistically significantly lower. In the patient and the control group, there were no statistically difference between the mean basal and peak urinary albumin and  $\beta_2$ -MG levels. We detected significantly negative correlation between the duration of illness, HbA1C and peak GFR, maximum GFR ( $p < 0.05$ ). But, we have not found a significant correlation between the duration of illness, HbA1C and urinary albumin,  $\beta_2$ -MG.

**Conclusion:** As we have not found a significant difference between the urinary albumin and  $\beta_2$ -MG levels in the two groups, and detected lower peak GFR and maximum GFR in the patient group, we suggested that RFR test has a high sensitivity.

**Key words:** Insulin dependent diabetes mellitus, capacity of renal functional reserve

**Alındığı tarih:** 19.04.2012

**Kabul tarihi:** 05.07.2012

**Yazışma adresi:** Uzm. Dr. Hurşit Apa, Dumlupınar Cad. No:67 Gültekinler Apt. K:5, D:17, Bayraklı-İzmir

**e-mail:** hur.apa@hotmail.com

## GİRİŞ VE AMAÇ

İnsüline bağımlı diabetes mellitus (İBDM) çocukluk çağında sık görülen endokrin ve metabolik bir hastalıktır. İnsülinin rutin kullanıma girmesinden önce kısa sürede ketoasidoz tablosunda kaybedilen olgular, insülinin kullanıma girmesi ile yaşatılmış, ancak bu uygulama ile doğal olarak hastalığa ait kronik komplikasyonların görülme sıklığı artmıştır<sup>(1)</sup>. Bunların başında Diabetik Nefropati (DN) gelmektedir ve İBDM'li hastaların ortalama %30-40'ı böbrek yetmezliğinden ölmekte veya diyaliz, transplantasyon tedavileri gerektirmektedir<sup>(2,3)</sup>. Persistan MA (idrarda 20-200 µgr/dk miktarında albümin çıkışıdır) klinik DN gelişimi için en erken gösterilebilen ve en önemli risk göstergesidir<sup>(4,5)</sup>. Kısa süreli İBDM'li hastalarda tubuler disfonksiyonu düşündüren düşük molekül ağırlıklı proteinlerin (β<sub>2</sub>-MG gibi) atılımında artış saptanması DN'nin erken belirlenmesinde önemlidir<sup>(6)</sup>.

Kısa süreli protein yüklemeye ile glomerüler filtrasyon hızı (GFR) bazal düzeyin üstüne çıkabilir ve çıkabileceği en yüksek GFR düzeyi renal fonksiyonel rezerv (RFR) olarak adlandırılır. Ölçülebilen böbrek testlerinde bozukluk saptanmasa da, böbrek yetmezliğinin erken göstergesi olabilen bu test, çeşitli araştırmacılar tarafından diyabetik hastalarda da uygulanmıştır<sup>(1,7,8)</sup>.

Bu çalışmamızda İBDM'li hastalarda mikroalbumin, β<sub>2</sub>-mikroglobülin (β<sub>2</sub>-MG) gibi proteinlerin üriner atılımlarını ve protein yüklemeye ile GFR ölçülerek RFR kapasitesi değerlendirilip; mikroalbuminüri, tubuler proteinüri ve RFR'in hastalığın metabolik kontrolü ve süresi ile ilişkileri araştırılmak istenmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma; İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği'nde Eylül 1996-Nisan 1997 tarihleri arasında yapıldı. Tip 1 İBDM tanısı ile takip edilen 22 (11 erkek, 11 kız) hasta ve kontrol grubu

olarak, yaş uyumlu 10 (5 kız, 5 erkek) sağlıklı olgu çalışmaya alındı. Hastaların ortalama yaşı 11.60±3.02 (6-17) yıl, kontrol grubunun ortalama yaşı 11.35±2.56 (7-15) yıldır. Ortalama hastalık süresi 4.72±2.68 (2-10.9) yıldır. Olguların hiçbirisinde renal hastalık öyküsü yoktu, bazal serum kreatinin düzeyleri normaldi ve tümü normotansifti. İdrar muayenelerinde standart yöntemle protein saptanmadı ve idrar kültürleri sterilildi. Olguların batın ultrasonografisi bulguları normal idi ve diyabete bağlı kronik komplikasyonları yoktu. Uzmanlık tezi kapsamında yapılan çalışmanın projesi Eğitim Planlama Kurulu ve diğer ilgili birimler tarafından onaylanmıştı.

RFR testi, 3-4 kişilik gruplar halinde, hasta ve kontrol grubunda aynı şekilde uygulandı.

Sekiz saat açlığı takiben saat 8'de mesane boşaltıldı. Elde edilen idrar örneklerinde, bazal üriner albümin ve β<sub>2</sub>-MG düzeyleri belirlendi. Açlık kan şekeri ve HbA1C tayini için kan alındı. Aynı saatte, 20 ml/kg sıvı oral olarak verildi. Saat 8.30'da, hastaların insülin tedavileri yapıldı. Oral su yüklemeye takiben bir saat süreyle idrar toplandı ve saat 9'da bazal kreatinin klirensi belirlendi. Aynı saatte 2 gr/kg protein içeren pişmiş kırmızı et yedirildi. Protein yemeği sonrası 1., 2., 3., 4. saatlerde, idrar volümü ölçülüp, saat aralarında serum kreatinini için kan alındı. Her saat sonunda bir önceki saatte çıkardıkları idrar miktarı kadar su içirildi. Et yemeği sonrası 1., 2., 3., 4. saatlerde üriner albümin atılımı ve 2. saatte β<sub>2</sub>-MG'nin üriner düzeyleri belirlendi. Kreatinin klirensi her periyotta ayrı ayrı hesaplandı. Olgulardan bazal GFR değerleri hesaplandı. Protein yüklemeye sonrası bazal değere göre en yüksek GFR düzeyi, pik GFR olarak belirlendi ve bazal değerden farklar, % fark olarak bulundu. Bazal GFR düzeyi ile akut protein yüklemeye sonrası saptanan pik GFR değer arasındaki fark RFR olarak kabul edildi. Protein yüklemeye ile bazal değerdeki GFR değerinden daha düşük bir GFR bulunmuş (azalma oluşmuş) ise bu olguların renal rezervlerinin olmadığı kabul edildi<sup>(9)</sup>.

Testin başlangıcında alınan idrar örneğindeki albümin düzeyi, Boehringer-Mannheim Biochemica

MA kiti ile Array™ Proteins Systems Nephelometry cihazında nefelometrik yöntemle mikroalbumin değerleri % olarak çalışıldı. Bir saatlik idrar volümü üzerinden mikroalbumin atılım miktarı ve bundan da microgram/dk.'lık atım hızı hesaplandı. Tek idrar örneğindeki albumin düzeyi tayininde idrar volümündeki değişiklikler için düzeltici olacağı düşüncesinden hareket ile; üriner albumin atılımı, albumin/kreatinin oranı şeklinde gösterildi. Sonuçlar değerlendirilirken daha önce yapılan çalışmalar referans alınarak; 40 mg/gr.Cr. altındaki düzeyler normoalbuminüri, 40-300 mg/gr.Cr. mikroalbuminüri, 300 mg/gr.Cr.'in üzerindeki değerler albuminüri olarak değerlendirildi.

Üriner  $\beta_2$ -MG düzeyi mini VIDAS cihazıyla ELFA (Enzyme Linked Fluoresceine Assay) tekniği ile bakıldı.  $\beta_2$ -MG'nin idrardaki normal değerinin üst sınırı 0.79 mg/L olarak alındı (Vidas  $\beta_2$ -MG kiti prospektüsüne göre). Bunun üzerindeki değerler patolojik kabul edildi. Üriner  $\beta_2$ -MG düzeyi tayininde idrar volümündeki değişiklikler için düzeltici olacağı düşüncesinden hareket ile; üriner  $\beta_2$ -MG atılımı,  $\beta_2$ -MG/kreatinin oranı şeklinde gösterildi. HbA<sub>1c</sub> anyon değiştirici kromatografi yöntemi ile ölçüldü.

Hasta ve kontrollerde, bazal ve maksimum GFR düzeyleri ve her iki gruptaki %GFR artışı karşılaştırıldı. Normoalbuminürik, mikroalbuminürik olan hasta grubunun bazal GFR, pik GFR ve %GFR artışları kendi içinde karşılaştırıldı, istatistiksel olarak farklılık araştırıldı. Üriner albumin ve  $\beta_2$ -MG'nin bazal ve pik değerleri arasındaki istatistiksel farklılık araştırıldı. HbA<sub>1c</sub>, hastalık süresi ile üriner albumin,  $\beta_2$ -MG ve RFR arasında istatistiksel ilişki olup olmadığına bakıldı. Metabolik kontrol değerlendirilirken, daha önce yapılan çalışmalar referans alınarak, HbA<sub>1c</sub>  $\leq$  %9.9 olan olguları metabolik kontrolü orta ve iyi, HbA<sub>1c</sub>  $\geq$  %10 olan olgulara metabolik kontrolü kötü ve çok kötü olarak değerlendirdik. Sonuçlar ortalama ve standart deviasyon olarak belirlendi.

İstatistik çalışmalarında; ki-kare ( $\chi^2$ ) testi, bağımsız iki grup t testi (t testi), eşleştirilmiş t testi, Mann-whitney testi, Wilcoxon testi, Newman-Keuls testi

ve varyans analizi (model-tesadüf bloklar) kullanıldı. Olasılığın (p), 0.05'ten küçük olması durumunda farklar istatistiki açıdan anlamlı kabul edildi.

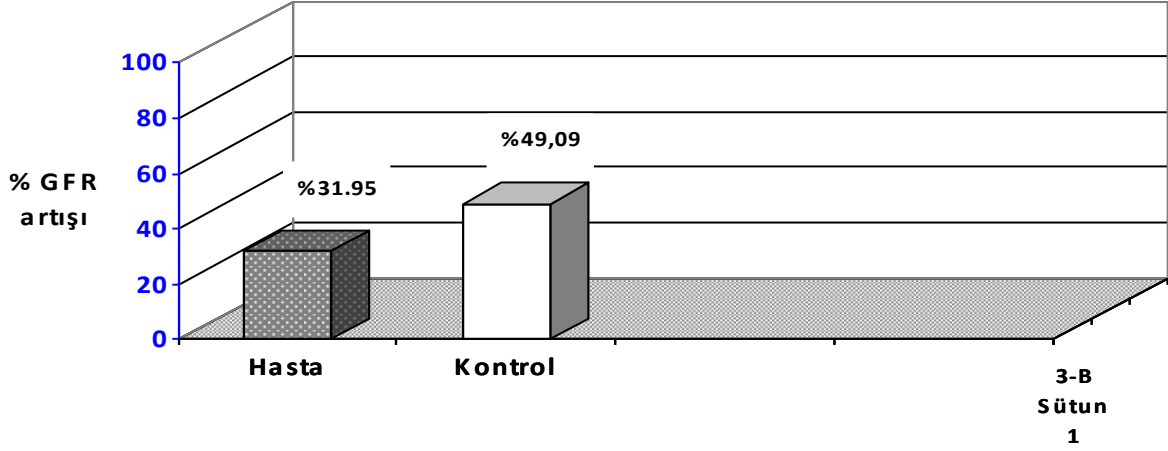
## BULGULAR

İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hastanesi Endokrinoloji Polikliniği'nde takip edilmekte olan 22 İBDM'li hasta ve kontrol grubu olarak 10 sağlıklı olguya RFR testi yapıldı. Ayrıca olguların tümünde bazal ve oral protein yüklemesi sonrası üriner albumin,  $\beta_2$ -MG düzeyleri belirlendi.

Hasta grubunun dermografik özellikleri; cins (K/E:11/11), yaş (yıl): 6-17 (11.6 $\pm$ 3.02), Ağırlık (kg): 20-56 (35.30 $\pm$ 9.95), Boy (cm): 109,5-166,5 (138.09 $\pm$ 14.74), Vücut kitle indeksleri (kg/m<sup>2</sup>): 29.05 $\pm$ 6.67, Tansiyon Arteriel (mmHg): Sistolik= 90-120 (104.55 $\pm$ 9.50), Diyastolik= 45-80 (60.68 $\pm$ 7.61), insülin dozları: 0.72 $\pm$ 0.18 Ü/kg idi. Hasta grubunun test sırasındaki ortalama HbA<sub>1c</sub> düzeyi % 11.08 $\pm$ 2.47 (6.5-16.8), açlık kan şekeri (AKŞ) ortalaması 249.9 $\pm$ 52.6 mg/dl idi. Kontrol grubunun dermografik özellikleri; cins (K/E:5/5), yaş (yıl): 7-15 (11.35 $\pm$ 2.56), Ağırlık (kg): 24-54 (37.10 $\pm$ 9.76), Boy (cm): 123-166 (142.80 $\pm$ 14.77), Vücut kitle indeksleri (kg/m<sup>2</sup>): 30.60 $\pm$ 7.93, Tansiyon Arteriel (mmHg): Sistolik= 90-120 (104.50 $\pm$ 8.64), Diyastolik= 50-70 (61.00 $\pm$ 7.38) idi. Kontrol grubunun açlık kan şekeri ortalaması 84.10 $\pm$ 3.87 mg/dl idi.

Hasta ve kontrol grubunun cins, yaş, ağırlık, boy, vücut kitle indeksi, TA değerleri arasında istatistiksel fark gözlenmedi (tüm parametreler için, p>0.05). Hasta ve kontrollerin serum kreatinin değerleri (sırası ile; 0.67 $\pm$ 0.12 mg/dl, 0.61 $\pm$ 0.09 mg/dl) arasında istatistiksel fark gözlenmez iken (p>0.05), açlık kan şekeri ortalamaları istatistiksel olarak farklı bulundu (p<0.001).

RFR testi sırasında kontrol grubunun bazal ve protein yükleme sonrası 2., 3., 4. saat GFR farkı (bazale göre) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05). Yine hasta grubunda da bazal ve protein yükleme sonrası 3., 4. saat GFR farkı (bazale göre) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05). Kontrol



Şekil 1. Her iki gruptaki ortalama maksimum %GFR artışları.

grubunda pik GFR'yi 2. saatte, diyabetik hasta grubunda ise 3. ve 4. saatlerde gözledik.

Her iki grupta bazal GFR değerleri ile pik GFR değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Hasta grubundaki bazal GFR ortalaması ( $118.05 \pm 29.35$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>) ile pik GFR ortalaması ( $151.36 \pm 29.81$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>) ve aynı şekilde kontrol grubundaki bazal GFR ortalaması ( $115.20 \pm 13.89$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>) ile pik GFR ortalaması ( $170.40 \pm 18.99$  ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>) karşılaştırıldığında, pik GFR düzeylerinde istatistiksel olarak artış gözlemlendi ( $p < 0.001$ ). Her iki gruptaki maksimum %GFR artışları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu ( $p < 0.001$ ), (Şekil 1).

RFR testi uyguladığımız 22 olgunun 19'unda normal renal rezerv, 3 olguda renal rezervin olmadığını gözledik. Normal renal rezervli 19 (%86,4) olgunun bazal GFR ortalamaları, pik GFR ortalamaları ve ortalama maksimum % GFR artışı, Renal rezervsiz 3 olgunun bazal GFR ortalamaları, pik GFR ortalamaları ve ortalama maksimum % GFR artışı Tablo 1'de görülmektedir. Renal rezervli olguların 5'inde ve renal rezervsiz olguların 1'inde mikroalbuminürik düzeyde üriner albümin atılımı saptandı. Aynı zamanda renal rezervli ve renal rezervsiz olguların ortalama bazal GFR, pik GFR ve %GFR artışları kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir. Kontrol hastaları ile normal renal

rezervli hastaların ortalama bazal GFR ve maksimum %GFR artışları arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ( $p > 0.05$ ). Ancak, kontrol hastaları ile renal rezervsiz hastaların ortalama bazal GFR ve maksimum %GFR artışı arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ).

RFR testi uyguladığımız hastaların 6'sında (%27.3) mikroalbuminürik düzeyde üriner albümin atılımı saptandı. Bu hastaların bazal GFR ortalamaları, pik GFR ortalamaları ve ortalama maksimum %GFR artışı, üriner albümin atılımı normal düzeyde olan 16 (%72.7) olgunun bazal GFR ortalaması, pik GFR ortalaması ve ortalama maksimum %GFR artışı sonuçları Tablo 1'de görülmektedir.

Normoalbuminürik hastalar ile üriner albümin atılımı mikroalbuminürik düzeyde olan hastaların ortalama bazal GFR ve maksimum %GFR artışları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (tüm parametreler için,  $p > 0.05$ ). Ancak, mikroalbuminürik seviyede üriner albümin atılımı olan hastaların ortalama maksimum %GFR artışları normoalbuminürik hastalara göre daha düşük bulundu. Ayrıca mikroalbuminürik ve normoalbuminürik hastaların ortalama bazal GFR, pik GFR ve %GFR artışı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; mikroalbuminürik hastaların pik GFR'leri kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlılıkta düşük bulundu ( $p < 0.05$ ). Sonuçlar Tablo 1'de görülmektedir.

**Tablo 1. IBDM' li olgularda RFR, üriner mikroalbümin ve  $\beta_2$ -MG sonuçlarına göre ortalama bazal, pik GFR ve ortalama maksimum %GFR artış sonuçları.**

	RFR		Üriner MA		Üriner $\beta_2$ -MG		Kontrol Grubu
	RFR(-)	RFR(+)	MA(-)	MA(+)	$\beta_2$ -MG(-)	$\beta_2$ -MG(+)	
Olgu sayısı (n)	3	19	16	6	20	2	10
%	13.6	86.4	72.7	27.3	90.9	9.1	-
Bazal GFR (ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> )	157±50.03*®	111.89±20.8*	120±32.51	112.83±19.9	117.55±29.8Φ	123±32.52	115.20±13.89¶Φ
Pik GFR (ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> )	131±50.58	154.57±25.9	155.87±26.4	139.33±37.3&	147.40±28.2¶	191±7.07¶	170.40±18.99&
%GFR artışı	-17.74±16.02#©	39.78±19.10#	37.33±22.69	24.30±30.11	28.92±24.41	61.69±48.5	49.09±18.99¶

\*  $p<0.05$ , RFR(-) ve RFR(+) olguların bazal GFR'leri arasındaki ilişki. # $p<0.05$ , RFR(-) ve RFR(+) olguların %GFR artışları arasındaki ilişki. ¶ $p<0.05$ ,  $\beta_2$ -MG(-) ve  $\beta_2$ -MG(+) olguların pik GFR'leri arasındaki ilişki. © $p<0.05$ ; RFR(-) olgular ile kontrol grubu arasındaki %GFR artışı ilişkisi.® $p<0.05$ ; RFR(-) olgular ile kontrol grubu arasındaki bazal GFR ilişkisi.& $p<0.05$ ; MA(+) olgular ile kontrol grubu arasındaki Pik GFR ilişkisi.Φ $p<0.05$ ;  $\beta_2$ -MG(-) olgular ile kontrol grubu arasındaki Pik GFR ilişkisi.

Üriner  $\beta_2$ -MG seviyesi yüksek (üst sınırın üzerinde) olan 2 (%9.1) hastanın ortalama bazal GFR'si, pik GFR'si ve ortalama maksimum %GFR artışı, üriner  $\beta_2$ -MG normal sınırlarda olan 20 (%90.9) hastanın ortalama bazal GFR'si, pik GFR'si ve ortalama maksimum %GFR artışı Tablo 1'de görülmektedir. Ortalama pik GFR'ler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Ancak, ortalama bazal GFR ve ortalama maksimum %GFR artışları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar anlamlı bulunmadı (tüm parametreler için,  $p>0.05$ ).

Hasta grubunda, bazal üriner albümin düzeyleri ortalaması (31.71±32.96 mg/grCr) ile pik üriner albümin düzeyleri ortalaması (34.14±33.14 mg/grCr) arasında; kontrol grubunda bazal üriner albümin düzeyleri ortalaması (17.84±9.98 mg/grCr) ile pik üriner albümin düzeyleri ortalaması (18.04±7.54 mg/grCr) arasında istatistiksel farklılık yoktu ( $p>0.05$ ). Her iki gruptaki bazal ve pik ortalama üriner albümin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

Hasta grubunda bazal üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması (5.34±8.64 mg/grCr) ile 2. saat üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması (2.15±3.02 mg/grCr) arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ). Aynı şekilde kontrol grubunda da bazal üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması (1.43±0.60 mg/grCr) ile 2. saat üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması

(1.43±1.09 mg/grCr) arasında istatistiksel farklılık saptanmadı ( $p>0.05$ ). Her iki grupta elde edilen bazal ve 2. saat  $\beta_2$ -MG arasında istatistiksel farklılık gözlenmedi ( $p>0.05$ ).

Metabolik kontrol orta ve iyi (HbA<sub>1C</sub> ≤ %9.9) olan 8 (%36.4) olgunun ortalama bazal GFR'si, pik GFR'si ve ortalama maksimum %GFR artışı, metabolik kontrolü kötü ve çok kötü (HbA<sub>1C</sub> ≥ %10) olan 14 (%63.6) olgunun ortalama bazal GFR'si, pik GFR'si ve ortalama maksimum %GFR artışı Tablo 2'de görülmektedir. Metabolik kontrolü iyi ve orta olan olgular ile metabolik kontrolü kötü ve çok kötü olan olguların ortalama bazal GFR'leri, pik GFR'leri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0.05$ ). Ancak, maksimum %GFR artışları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0.05$ ). Ayrıca metabolik kontrolü kötü ve çok kötü olan olguların pik GFR ve ortalama maksimum %GFR artışları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir. Genel anlamda HbA<sub>1C</sub> ile ortalama maksimum %GFR artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir negatif ilişki saptandı ( $p<0.05$ ).

Hastalık süresi 5 yıl ve altında olan 15 (%68.2) olgunun ortalama maksimum %GFR artışı, ortalama bazal mikroalbüminüri seviyesi ve ortalama bazal  $\beta_2$ -MG seviyesi, hastalık süresi 5 yılın üzerinde olan 7 (%31.8) olgunun ortalama maksimum %GFR artışı ortalama bazal üriner albümin atılımı ve ortalama

**Tablo 2. IBDM' li olgularda metabolik kontrol ve hastalık süresine göre RFR, üriner  $\beta_2$ -MG ve mikroalbüminüri sonuçları.**

	Metabolik kontrol		Hastalık süresi		Kontrol grubu
	Orta-İyi	Kötü-çok kötü	<5 yıl	>5 yıl	
Hasta sayısı (n)	8	14	15	7	10
%	36.4	63.6	68.2	31.8	-
Bazal GFR (ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> )	108.50±26.21	123.50±30.55	115.46±18.96	123.57±46.07	115.20±13.89
Pik GFR (ml/dk/1.73 m <sup>2</sup> )	159.50±29.90	146.71±29.82®	159.33±25.65#	134.28±32.79#⊥®	170.40±18.99&⊥
%GFR artışı	49.85±22.40*	21.64±24.91*©	39.09±19.63	16.58±36.17	49.09±18.99ε©
Bazal MA (mg/grCr)	24.47±24.82	35.83±37.04	27.05±21.32	41.58±50.50	17.84±9.98
Pik MA (mg/gr.Cr)	20.63±18.46	38.72±38.23	32.50±36.75	31.35±26.25	18.04±7.53
Bazal $\beta_2$ -MG (mg/gr.Cr)	8.17±12.86	3.67±4.81	6.06±9.83	3.72±5.49	1.42±0.61
2. saat $\beta_2$ -MG (mg/gr.Cr)	0.97±0.53	2.97±3.65	2.41±3.59	1.53±1.15	1.40±1.09

\* $p<0.05$ , orta-iyi ve kötü-çok kötü metabolik kontrollü olgular %GFR artışları. #  $p<0.05$ , Hastalık süresi ile Pik GFR arasındaki ilişki. ε  $p<0.05$ ; <250 mg/dl kan şekeri olan hastalar ile kontrol grubunun %GFR artışı arasındaki ilişki. &  $p<0.05$ ; >250 mg/dl kan şekeri olan hastalar ile kontrol grubunun Pik GFR'si arasındaki ilişki. ⊥  $p<0.05$ ; Hastalık süresi 5 yılın üstünde olan hastalar ile kontrol grubunun Pik GFR'si arasındaki ilişki. ©  $p<0.05$ ; Kötü metabolik kontrollü hastalar ile kontrol grubunun %GFR artışı arasındaki ilişki. ®  $p<0.05$ ; Kötü metabolik kontrollü hastalar ile kontrol grubunun Pik GFR' si arasındaki ilişki.

bazal  $\beta_2$ -MG seviyesi Tablo 2'de görülmektedir. Hastalık süresi 5 yıl ve altında olan olgular ile hastalık süresi 5 yıl üzerinde olan olguların ortalama bazal üriner albümin atılımı, ortalama bazal  $\beta_2$ -MG üriner atılımı ve maksimum %GFR artışları istatistiksel olarak karşılaştırıldığında farklılık anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Ancak, hastalık süresi 5 yıl üzerinde olan olguların ortalama maksimum %GFR artışları daha düşük bulundu. Ayrıca hastalık süresi ile protein yüklemesi sonrası pik GFR arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki vardı ( $p<0.05$ ). Klinik ve laboratuvar olarak DN'si olmayan ve ortalama 5 yıl izlem süreli 22 olgunun 9 (%40)'unda böbreğin etkilendiği saptandı.

## TARTIŞMA

IBDM çocukluk çağında sık görülen endokrin ve metabolik bir hastalıktır. IBDM'lu hastaların %30-40'ında hastalığın başlangıcından ortalama 15-20 yıl sonra proteinüri ve böbrek yetmezliği gelişebileceği gösterilmiştir (2,3).

Diyabetik nefropati patofizyolojisi multifaktöriyel etkilerin birleşerek ortaya çıkardığı kompleks ve dinamik bir olaydır. Kan şekeri yüksekliği patogenizdeki tek faktör olmayıp, anormal RAAS, insülin

kullanımı, diyabet yaşı, glisemik kontrol, hiperlipidemik, genetik faktörler gibi birçok faktörler rol oynamaktadır (1,10). Bütün bu etkenlerle oluşan hiperfiltrasyon, intraglomerüler basınç artışı, mezengeal hipertrofi ve GBM'da oluşan strüktüel anormallikler diyabetik renal hasarlanmanın ilk ve en spesifik bulgusu olan proteinüri ile sonuçlanır. Proteinürinin miktarı sıklıkla renal hasar ile korele olup, klinik sınıflamada kriter olarak kullanılır. Proteinüri başlangıçta rutin yöntemlerle tayin edilemeyen MAH'nın 20-200 mikrogram/dk. arasında olan "mikroalbüminürik dönem", "subklinik DN", "incipient DN" gibi adlar verilir. Persistan mikroalbüminüri bu gün için en ciddi ve spesifik klinik DN riski faktörüdür ve uygun tedavi ile geri dönüşümü olan son noktadır (10). Klinik DN'de artık proteinüri mikro olmaktan makro hale dönüşmüş olup, rutin yöntemlerle de tanınabilen MAH'nın 200 mikrogram/dk. üstündedir, yani artık DN dönüşümsüz hale gelmiştir.

RFR testinde bazal Ccr ölçümü, bir saatlik su diürezisi ile yapıldı. Çünkü bu literatürde daha iyi denetlenebilen bir yöntem olarak belirtilmektedir. GFR uyarıcı olarak 2 g/kg protein içeren kırmızı et proteini daha önceki çalışmalara uygun olarak 30 dk. içinde yedirildi. Oral proteinin hızlı olarak yüklenebilmesi için, önceki çalışmalarda da aynı sürede veril-

miştir<sup>(9,11,12,13)</sup>. Daha önceki çalışmalarda olduğu gibi et proteini 1.5-2.7 g/kg veya 80 g olarak seçilmiştir. Sağlıklı ve diabetik çocuklarda oral protein yüklemesi ile yapılan çalışmalarda Molina ve ark.<sup>(13)</sup> 2 g/kg, Fioretto ve ark.<sup>(14)</sup> 1,5 g/kg, Brouhard ve ark.<sup>(11)</sup> 80 g/gün ve Semiz ve ark.<sup>(15)</sup> 2 g/kg'dan kırmızı et proteini kullanmıştır. Çalışmamızda protein miktarını 2 g/kg olarak belirledik.

Yapılan çalışmalarda RFR ve GFR 30 ila 180. dk.'da maksimuma ulaştığı gözlenmiştir<sup>(9,15,16,17)</sup>. Biz de çalışmamızda protein yüklemeyen sonra RFR test süresini 4 saat olarak belirledik. Hızlı protein yüklemesi ile Bosch ve ark. 4. saatte<sup>(18)</sup> Brenner ve ark.<sup>(19)</sup> ile Hellerstein ve ark.<sup>(20)</sup> 3. ve 4. saatlerde, Fioretto ve ark.<sup>(14)</sup> 3. saatlerde, Brouhard ve ark.<sup>(11)</sup> 1. ve 3. saatlerde, Shestakova ve ark.<sup>(9)</sup> 2. saatlerde, Semiz ve ark.<sup>(15)</sup> 2. ve 4. saatlerde pik gözlemiştir. Çalışmamızda 2 gr/kg protein içeren yemekten sonra kontrol grubunda pik GFR'yi 2. saatte, diyabetik hasta grubunda ise 3. ve 4. saatlerde gözledik. Bu nedenle RFR testi için en az 4 saatlik test süresinin uygun olacağı düşüncesindeyiz.

Akut protein yüklemesi sonrası sağlıklı kişilerde %GFR artışı %10-%60 arasında değişmektedir. Protein yüklemesi ile GFR'de azalma renal rezervin yokluğunu belirtir<sup>(9)</sup>. Test sırasında su diürezisi ile elde edilen bazal GFR düzeyleri diyabetlilerde ortalama 118.04±29.35 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, kontrol grubunda 115.20±13.89 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> idi. Her iki grup da bazal GFR ortalaması yönünden istatistiksel farklılık gözlenmedi (p>0.05). Ortalama pik GFR ve maksimum %GFR artışı kontrol grubunda sırasıyla 170.40±18.99 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, %49.09±18.99, hasta grubunda 151.36±29.81 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, 31.95±27.31 idi. Her iki grupta bazal GFR düzeyleri farksız iken, ortalama pik GFR düzeyleri istatistiksel olarak farklı bulundu (p<0.05). Dolayısı ile hasta grubundaki maksimum %GFR artışını istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu gözledik (p<0.05). Brouhard ve ark.<sup>(11)</sup>, en az 10 yıllık diyabet süresine sahip normotansif nonproteinürik IBDM'lu hastalarda 80 g protein yemeği sonrası RFR'yi %12-69 arasında bul-

duklarını bildirmiştir. Aynı araştırmacılar, mikroalbuminürik 10 IBDM'lu hasta grubunda ortalama bazal GFR'yi 95.1±12.1 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, ortalama maksimum %GFR artışını %59 olarak bulmuştur<sup>(12)</sup>. Fioretto ve ark.<sup>(14)</sup> normoalbuminürik, normotansif, diyabet süresi ortalama 8 yıl olan 35 hastada bazal GFR 125±7 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup> iken, ortalama maksimum %GFR artışını %14 olarak bulmuştur. Aynı araştırmacılar kontrol grubunda bazal GFR'yi 110±4 ml/dk/1.73m<sup>2</sup>, ortalama maksimum %GFR artışını %18 olarak bulmuştur. Çalışmamızdaki ortalama maksimum %GFR artış düzeyi Brouhard ve ark.'nın sonuçlarına uygunluk göstermektedir.

Shestakova ve ark.<sup>(9)</sup>, GFR ve üriner albümin atılımı üzerine protein alımının akut etkilerini 23 Tip-1 DM'li (klinik nefropatisi olmayan) hasta üzerinde incelemiş, aynı zamanda sonuçları renal morfolojik verilerle karşılaştırmışlardır. On dört hastada (normoalbuminürik) ve kontrol grubunda (7 olgu) ortalama maksimum %GFR artışını %27 ila %37 arasında saptamışlar, fakat 9 hastada (olguların %50'si mikroalbuminürik) ortalama maksimum %GFR artışı %-20 olarak bulunmuştur. Normoalbuminürik hastalarda bazal GFR 131.4±12.1 ml/dk/1.73m<sup>2</sup>, ortalama maksimum %GFR artışı %36.5±5.5 iken, mikroalbuminürisi olan hastaların bazal GFR 195.3±15.9 ml/dk/1.73 m<sup>2</sup>, ortalama maksimum %GFR artışı % -19.6±7.4 olarak bulunmuştur. Biz de çalışmamızda mikroalbuminürik hastalarda ortalama maksimum %GFR artışı, pik GFR düzeyini normoalbuminürik hastalara ve kontrol grubuna göre daha düşük bulduk. Mikroalbuminürik hastalarda daha da düşük düzeylerde GFR yanıtı elde etmemiz, IBDM'lu hastalarda renal hasarın artması ile, RFR'de azalmanın birlikteliği görüşüne uygundur. Semiz ve ark.<sup>(15)</sup> da mikroalbuminürik hastalarda ortalama maksimum %GFR artışını düşük bulmuştur. Yine Bosch ve ark.<sup>(18)</sup> mikroalbuminürik ve normal bazal GFR'li hastalarda ortalama maksimum %GFR artışını bazale göre düşük (-) bulmuştur. Çalışmamızdaki sonuçlar yukarıdakilerle uyumludur.

Protein yüklemesi öncesi alınan bazal idrar örne-

ğindeki üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri ortalaması kontrol-lerde  $1.43 \pm 0.60$  mg/grCr, hastalarda  $5.34 \pm 8.64$  mg/grCr idi. Her iki grupta bazal üriner  $\beta_2$ -MG düzeyi yönünden istatistiksel farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Ortalama pik GFR'ler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Ancak, ortalama bazal GFR ve ortalama maksimum %GFR artışları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sonuçlar anlamlı bulunmadı (tüm parametreler için,  $p > 0.05$ ). Miltenyi ve ark. <sup>(21)</sup> ortalama 2,5 yıl diyabet süresine sahip 13 iyi-orta metabolik kontrollü ve 18 kontrol hastasında üriner  $\beta_2$ -MG düzeyinde artış saptamazken, 11 diyabetik ketoasidozlu çocukta idrarda artmış  $\beta_2$ -MG atılımı saptamışlardır. Bu hastaların ketoasidozu düzeldikten 10 gün sonra yine değerlendirildiklerinde bu düzeyin normale döndüğünü göstermişlerdir. Watanabe ve ark. <sup>(22)</sup> diyabetiklerde kontrollere göre artmış  $\beta_2$ -MG üriner düzeyi saptamışlar ve bu artışın en çok 2,5 yıldan daha az diyabet süresine sahip hastalarda görüldüğünü bildirmişlerdir. Yazarlar, yeni tanıli hastalarda üriner glukozun direkt ve indirekt etki ile renal tubullerden protein reabsorpsiyonunu inhibe etmesi nedeni ile veya ozmotik diürez ya da filtrasyon oranındaki artış sonucu,  $\beta_2$ -MG'in üriner atılımının arttığını savunmuştur. Çalışmamızda üriner  $\beta_2$ -MG düzeyleri normal olan olguların hastalık süresini ortalama  $4.86 \pm 2.44$  yıl, üriner  $\beta_2$ -MG düzeyi artmış olan olguların (2 olgu) hastalık süresini ortalama 2 yıl olarak saptadık ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Olgu sayısının az olması bu sonucun güvenilirliğini azaltmaktadır ve olgu sayısının artırılarak yine değerlendirilmesi gerekmektedir.

Çalışmamıza alınan hastaların büyük bölümü orta veya kötü derecede metabolik kontrollü idi ve test sabahı ortalama kan glukoz düzeyleri yüksekti. IBDM'li hastaların kontrollere göre daha düşük düzeyde GFR yanıtı vermeleri, bu hastaların hiperfiltre durumda olmaları ile açıklanabilir. Çalışmamızda HbA<sub>1c</sub> düzeyi arttıkça (metabolik kontrol kötüleştikçe) ortalama maksimum %GFR artışının düştüğünü

istatistiksel olarak gözledik ( $p < 0,05$ ). Ayrıca metabolik kontrolü kötü olan olguların ortalama pik GFR ve maksimal %GFR artışını hem kontrol grubuna hem de metabolik kontrolü orta-iyi olan olgulara göre düşük bulduk. Joseph ve ark. <sup>(23)</sup> HbA<sub>1c</sub> düzeyi  $< 8\%$  altında olanları iyi kontrol,  $8-10\%$  arası olanları yetersiz kontrol,  $10\%$ 'nun üzeri olanları kötü kontrol olarak belirtmiştir. Biz de çalışmamızda HbA<sub>1c</sub> seviyesini  $\leq 9.9\%$  olan olguları metabolik kontrolü orta ve iyi,  $10\%$  ve üzeri olanları metabolik kontrolü kötü ve çok kötü olarak sınıflandırdık. Bosch ve ark. <sup>(18)</sup>, RFR testi uygulandığı sırada hastanın metabolik kontrolünün önemli olduğunu; kötü metabolik kontrollü hastalarda, RFR'nin azaldığını bildirmiştir. Semiz ve ark. <sup>(15)</sup> RFR ile metabolik kontrol arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamamıştır.

Brouhard ve ark. <sup>(11)</sup> 10 yıllık diyabet süresi olan hastalar üzerinde yaptıkları araştırmada; GFR artışında glukagon ve büyüme hormonunun rol oynadığını göstermiştir. Creyer ve ark. <sup>(24)</sup> diyabet süresinin artışı ile glukagon sekresyonunun bozulduğunu bildirmiştir. Protein alımı sonrası glukagon yanıtındaki azalma ve bu hastalarda GFR yanıtında azalmaya neden olabilir. Biz hastalık süresi ile RFR arasında istatistiksel anlamlılıkta bir ilişki bulamadık ( $p > 0.05$ ). Ancak, hastalık süresi 5 yılın üzerinde olan olgularda daha düşük %GFR artışı gözledik (Tablo 2). Ayrıca hastalık süresi arttıkça pik GFR'nin düştüğünü istatistiksel olarak anlamlı bulduk ( $p < 0.05$ ).

IBDM'li 22 olgudan 2'sinde RFR(-), 1 olguda üriner  $\beta_2$ -MG artmış, 4 olguda üriner mikroalbuminüri artmış olarak saptandı. Bir olgu hem mikroalbuminürik hem de RFR(-) ve 1 olguda hem üriner  $\beta_2$ -MG hem de üriner mikroalbuminüride artış saptandı. Klinik ve laboratuvar bulgularla diyabetik nefropatisi olmayan, ortalama 5 yıl izlenen 22 olgudan 9 ( $40\%$ )'unda böbreğin etkilendiği görüldü. Hemodinamik değişiklikler nedeni ile böbreğin baştan itibaren risk altında olan diyabetik hastaların tanı ve izlenmesinde RFR, üriner mikroalbumin ve  $\beta_2$ -MG testlerinin yapılmasının DN gelişimini erkenden saptamada yararı olacaktır. Bu şekilde de diyabetik olgu-



ların tanı konulduğundan itibaren kronik komplikasyonlar açısından destekleyici tedavilerin planlanması ile DN gelişimi geciktirilebilir veya engellenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Viberti G, Wiseman M J, Pinto J R, Messert J: Diabetic Nephropathy. In: Joslin's Diabetes Mellitus;Ed(s) Kahn CR, Wein GC. 13 th edition. Lea & Febiger Co. 1994:692-724.
2. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, et al: Diabetic nephropathy in type-I (insulin dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia* 1983;25:496.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00284458>
3. Krolowski AS, Warram JH, Christleib AR, et al. The changing natural history of nephropathy in type-I diabetes. *Am J Med* 1985;73:785.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(85\)90284-0](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(85)90284-0)
4. Raes A, Donckerwolcke R, Craen M, Hussein MC, Vande Walle J. Renal hemodynamic changes and renal functional reserve in children with type I diabetes mellitus. *Pediatr Nephrol* 2007;22(11):1903-9.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00467-007-0502-6>  
PMid:17638025
5. Park CH, Maack T: Albumin absorption and catabolism by isolated and perfused proximal tubule of rabbit. *J Clin Invest* 1984;73:767-77.  
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI111270>  
PMid:6707203 PMCid:425079
6. Bernard A, Viau C, Ouled A, Lawerys R: Competition between Low and high molecular weight proteins for renal tubular uptake. *Nephron* 1987;45:115-18.  
<http://dx.doi.org/10.1159/000184090>  
PMid:3031520
7. Rahn KH, Heidenreich S, Brückner D. How to assess glomerular function and damage in humans. *J Hypertens* 1999;17(3):309-17.  
<http://dx.doi.org/10.1097/00004872-199917030-00002>  
PMid:10100067
8. Barai S, Gambhir S, Prasad N, Sharma RK, Ora M. Functional renal reserve capacity in different stages of chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2010;15(3):350-3.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1797.2010.01291.x>  
PMid:20470306
9. Shestakova AV, Mukhin NA, Dedov II, et al. Protein-loading test, urinary albumin excretion and renal morphology in diagnosis of subclinical diabetic nephropathy. *Journal of Internal Medicine* 1992;231:213-7.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.1992.tb00526.x>  
PMid:1556519
10. Fioretto P, Mogensen CE, Mauer SM: Diabetic Nephropathy. In: Pediatric Nephrology. Ed(s) Holliday MA, Barratt TM, Avner ED. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 1994: 576-85.
11. Brouhard BH, LaGrone LF, Richard GE, et al: Short-term protein loading in diabetics with ten year duration of disease. *Am J Dis Child* 1986;140:473-6.  
PMid:3962943
12. Brouhard BH, LaGrone LF, Richard GE: Somatostatin limits rise in glomerular filtration rate after protein meal. *J Pediatr* 1987;112:729-34.  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(87\)80011-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(87)80011-2)
13. Molina E, Herrera J, Rodriguez B. The renal functional reserve in health and renal disease in school age children. *Kidney International* 1988;34:809-16.  
<http://dx.doi.org/10.1038/ki.1988.254>  
PMid:3210543
14. Fioretto P, Trevisan R, Valerio A, Avogaro A, et al. Impaired renal response to a meat meal in insulin-dependent diabetes: role of glucagon and prostaglandins. *American Physiological Society* 1990; F675-83.
15. Semiz S, Bircan I, Yilmaz GG, Karayalcin B, Guven AG. Renal functional reserve in insulin dependent diabetic children. *Acta Paediatr Jpn.* 1998 Aug;40(4):341-4.  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1442-200X.1998.tb01944.x>
16. Bruno GO, Diéguez SM, Voyer LE. Renal functional reserve in children with a history of hemolytic uremic syndrome through technetium-99m diethylene-triamine-penta-acetic acid clearance. *Arch Argent Pediatr* 2012;110(1):60-3.  
<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2012.60>  
PMid:22307424
17. Zaletel J, Cerne D, Lenart K, Zitta S, Jürgens G, Estelberger W, Kocijancic A. Renal functional reserve in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Wien Klin Wochenschr.* 2004 Apr 30;116(7-8):246-51.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF03041055>  
PMid:15143864
18. Bosch P, Saccaggi A, Lauer A, Ronco C, Belledone M, Glabman S: Renal functional reserve in humans. *Am J Med* 1983;75:943-50.  
[http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343\(83\)90873-2](http://dx.doi.org/10.1016/0002-9343(83)90873-2)
19. Brenner BM, Meyer TW, Hostetler TH: Dietary protein intake and progressive nature of renal disease. *N Eng J Med* 1982; 307: 652-659.  
<http://dx.doi.org/10.1056/NEJM198209093071104>  
PMid:7050706
20. Hellerstein S, Hunter JL, Warady BA. Creatinin excretion rate for the evaluation of kidney function in children. *Pediatr Nephrol* 1988;2:419-24.  
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00853435>  
PMid:3153054
21. Miltenyi M, Körner A, Tulassay T, et al. Tubular dysfunction in type I diabetes mellitus. *Archives of Disease in Childhood* 1985;60:929-31.  
<http://dx.doi.org/10.1136/adc.60.10.929>  
PMid:3933437 PMCid:1777521
22. Watanabe Y, Nunou K, maki Y, et al: Contribution of glycaemic control to the levels of urinary NAG, total protein,  $\beta$ 2-MG and serum NAG in insulin dependent diabetes mellitus without macroalbuminuria. *Clin Nephrol* 1987;28(5):227-31.  
PMid:3322619
23. Josept M, Clare LH, Mark F, Luke B, Robert C. Potential short-term economic benefits of improved glycaemic control. *Diabetes care* 2001;24:51-5.  
<http://dx.doi.org/10.2337/diacare.24.1.51>  
PMid:11194241
24. Creyer PE, White NH, Santiago JV: The relevans of glucose counter regulatory systems in patients with insulin dependent diabetes mellitus. *Endocr Rev* 1986;7:131-39.