



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНА
КАТЕДРА „ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ“

Д-Р БОРИСЛАВ ИВАНОВ ИГНАТОВ

**ПАТОГЕНЕТИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА НЯКОИ БИОМАРКЕРИ ЗА
ПРОГРЕСИЯТА НА ХРОНИЧНОТО БЪБРЕЧНО ЗАБОЛЯВАНЕ И
АСОЦИИРАНИТЕ СЪРДЕЧНО-СЪДОВИ УСЛОЖНЕНИЯ**

АВТОРЕФЕРАТ

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Докторска програма „Патофизиология“

Научен ръководител

Доц. д-р Красимир Костов Гинев, д.м.

Официални рецензенти

Проф. д-р Благой Иванов Маринов, д.м.

Проф. Д-р Бисер Кирилов Борисов, д.м.

Плевен

2026

Дисертационният труд съдържа 154 страници, от които: увод, цел и задачи – 4 страници, литературен обзор – 45 страници, клиничен контингент, материали и методи – 9 страници, собствени резултати – 29 страници, обсъждане 27 страници, изводи и приноси – 3 страници. Онагледен е с 16 таблици и 22 фигури. Библиографията включва 361 източника.

Дисертационният труд е обсъден на заседание на разширен катедрен съвет на Катедрата по „Физиология и патофизиология“ на Медицинския Университет - Плевен (Заповед № 1916 от 23.06.2026 г. на Ректора) и е насочен за защита пред научно жури.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 28.09.2026 г. от 12.00 ч. в зала „Амброаз Паре“ на МУ – Плевен.

Материалите по защитата са на разположение в Научния отдел и са публикувани на интернет страницата на МУ – Плевен: www.mu-pleven.bg

СЪКРАЩЕНИЯ

АДБПБ	Автозомно-доминантна бъбречна поликистозна болест
ВАОС	Вродена аномалия на отделителната система
ИБС	Исхемична болест на сърцето
ИТМ	Индекс на телесната маса
КСК	Калцификация на сърдечните клапи
КРС	Кардио-ренален синдром
ССЗ	Сърдечно-съдови заболявания
СН	Сърдечна недостатъчност
ХАНК	Хронична артериална недостатъчност на крайниците
ХБЗ	Хронично бъбречно заболяване
ХБЗ-МКБ	Минерална и костна болест при хронично бъбречно заболяване
ALP	Алкална фосфатаза
BNP	Мозъчен натриуретичен пептид
BUN	Уреен азот в кръвта
Ca	Серумен калций
Ca×P	Калциево-фосфатен продукт
CRP	С-реактивен протеин
CKD-EPI	Уравнение от „Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration“ за изчисляване на GFR
dp-ucMGP	Дефосфорилиран некарбоксилиран матриксен Gla-протеин
eGFR	Изчислена скорост на гломерулна филтрация
ECLIA	Електрохемилюминисцентен имуноанализ
ELISA	Ензимно-свързан имуносорбентен анализ
FGF23	Фибробластен растежен фактор 23
GFR	Гломерулна филтрация
hs-CRP	Високочувствителен С-реактивен протеин
IL-6	Интерлевкин-6
KDIGO	Глобални насоки за подобряване на резултатите при бъбречните заболявания
Klotho	Протеин Klotho
MGP	Матриксен Gla-протеин
NGAL	Неутрофилно-желатиназа-асоцииран липокалин
Pi	Неорганичен фосфат
PTH	Паратиреоиден хормон
SCr	Серумен креатинин
UA	Пикочна киселина
ucMGP	Некарбоксилиран матриксен Gla-протеин
WBC	Левкоцити

СЪДЪРЖАНИЕ

ВЪВЕДЕНИЕ	5
ЦЕЛ	6
ЗАДАЧИ	6
КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ	7
МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	9
1. Клинични методи – анамнеза и физикално изследване	9
2. Антропометрия	9
3. Социологически методи	9
4. Лабораторни изследвания	10
4.1. Биохимични изследвания	10
4.2. Имунологични изследвания	10
5. Математически метод	12
6. Статистически методи	12
РЕЗУЛТАТИ	14
1. Минерален метаболизъм и сърдечно-съдов риск	14
2. Оценка на индивидуалния сърдечно-съдов риск при пациенти с ХБЗ чрез използване на съотношението на $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$	16
3. Некарбоксилираният MGP като биомаркер за сърдечно-съдов риск	20
4. NGAL като маркер за тубулна увреда, хронично възпаление и прогресия на ХБЗ	29
5. NGAL като биомаркер за ранна бъбречна увреда	33
ОБСЪЖДАНЕ	35
ИЗВОДИ	46
ПРИНОСИ	47
ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ	49

ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничното бъбречно заболяване (ХБЗ) представлява прогресивно състояние, характеризиращо се с трайно увреждане на бъбречната структура и/или функция с продължителност над три месеца. Заболяването често протича безсимптомно в ранните си стадии и се характеризира с бавна прогресия, водеща до постепенно намаляване на бъбречната функция и развитие на терминална бъбречна недостатъчност. Поради липсата на ранна клинична изява значителна част от пациентите остават недиагностицирани дори в напредналите стадии, което ограничава възможностите за ефективна превенция и своевременно лечение.

Ранната диагноза и адекватното проследяване на пациентите с ХБЗ имат ключово значение за забавяне на прогресията на заболяването и намаляване на риска от усложнения. Това е от особено значение предвид значителната социално-икономическа тежест на ХБЗ. Заболяването води до намалена трудоспособност, влошено качество на живот и повишена смъртност. Напредналите стадии изискват прилагане на високоспециализирани и скъпоструващи методи на лечение, включително диализна терапия и бъбречна трансплантация, които са свързани със съществено финансово натоварване за здравните системи.

Въпреки значителния напредък в терапевтичните стратегии, прогресията на ХБЗ и развитието на сърдечно-съдови усложнения остават трудно прогнозируеми при отделния пациент. В този контекст съвременната нефрология все по-ясно се фокусира върху идентифицирането и валидирането на надеждни, чувствителни и минимално инвазивни биомаркери, които биха позволили не само ранното откриване на бъбречно увреждане, но и прецизна стратификация на риска и по-точна прогноза на скоростта на прогресията на заболяването, включително в рамките на кардио-реналните взаимодействия.

Особен интерес представляват молекули, участващи пряко в патогенетичните механизми на ХБЗ и свързаните с него сърдечно-съдови усложнения. Сред тях матриксният Gla-протеин (MGP) се разглежда като ключов инхибитор на съдовата калцификация, докато неутрофилният желатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) се утвърждава като чувствителен маркер за тубулно увреждане и възпаление. Изследването на тези биомаркери ще подобри разбирането на патогенетичните механизми, свързващи бъбречната дисфункция и сърдечно-съдовите усложнения и ще подпомогне разработването на нови диагностични и терапевтични стратегии. Възможностите за по-ранна диагностика и персонализиран терапевтичен подход ще позволят подобряване на прогнозата при пациентите с ХБЗ.

ЦЕЛ

Целта на настоящия дисертационен труд е да се изследват серумните нива на некарбоксилирания матриксен Gla протеин (ucMGP), неутрофилния желатиназа-асоцииран липокалин (NGAL) и показателите на калциево-фосфорния метаболизъм, както и да се оцени тяхната диагностична и прогностична стойност като биомаркери за прогресията на бъбречната дисфункция и сърдечно-съдовия риск при пациенти в преддиализни стадии на ХБЗ.

ЗАДАЧИ

1. Да се сформира изследвана група от пациенти в преддиализните стадии G1–G4 на ХБЗ съгласно съвременните класификационни критерии.
2. Да се изследват показателите на калциево-фосфорния метаболизъм чрез определяне на серумните нива на калций, фосфор, паратхормон и алкална фосфатаза и да се анализира тяхната връзка с бъбречната функция.
3. Да се определят серумните нива на некарбоксилираната фракция на MGP (ucMGP) и да се оцени връзката им с нарушенията в минералния метаболизъм и сърдечно-съдовия риск.
4. Да се изследват серумните нива на неутрофилния желатиназа асоцииран липокалин (NGAL), високочувствителния C-реактивен протеин (hsCRP) и интерлевкин-6 (IL-6) като маркери на тубулно увреждане и хронично възпаление, и да се анализират взаимовръзките им с показателите на калциево-фосфорния метаболизъм.
5. Да се оцени диагностичната и прогностична стойност на MGP, NGAL и показателите на калциево-фосфорния метаболизъм по отношение на прогресията на бъбречната дисфункция и сърдечно-съдовия риск.

КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Клиничен контингент

За постигане на целта и изпълнение на поставените задачи на дисертационния труд в периода от януари 2020 г. до юни 2024 г. в МЦ „Екзакта Медика” – Плевен, бяха подбрани 167 участници отговарящи на предварително определени критерии.

Изследванията бяха осъществени със средства по три научни проекта финансирани от Медицински университет – Плевен:

- Проект № 9/2020 год. „Проучване серумните нива на витамин К2 при пациенти с хронично бъбречно заболяване в преддиализен период“
- Проект №15/2023 год. „Минерален метаболизъм, биомаркери за възпаление и взаимовръзката им с витамин К2 статуса при пациенти с хронично бъбречно заболяване“
- Проект №12/2024 год. „Изследване ролята на липокалин-2 (LCN-2), матриксните металопротеинази-3, -8 (MMP-3, -8) и техните тъканни инхибитори-2, -3 (TIMP-2, -3), като биомаркери за оценка на бъбречната функция при пациенти с хронично бъбречно заболяване“

Проектите бяха одобрени от етичната комисия на МУ – Плевен.

Критерии за включване на участниците в работните групи:

- Възраст между 20 и 85 години;
- Доказано ХБЗ в стадии G1 – G4 (KDIGO);
- Подписано информирано съгласие.

Критерии за изключване:

- Бременност;
- Остро бъбречно увруждане;
- ХБЗ в стадий G5 (KDIGO);
- Бъбречна трансплантация;
- Остри инфекциозни заболявания;
- Тежка застойна сърдечна недостатъчност;
- Чернодробна недостатъчност;
- Злокачествени заболявания;
- Системни заболявания на съединителната тъкан;
- Отказ за подписване на информирано съгласие.

Критерии за включване на участниците в контролните групи:

- Лица без данни за бъбречно заболяване на възраст между 20 и 85 год.;
- Подписано информирано съгласие.

Оформяне на групите

ХБЗ е класифицирано съгласно критериите на KDIGO, като пациентите са разпределени в стадии G1 – G4 въз основа на стойностите на eGFR и наличието на маркери за бъбречно увреждане (албуминурия и/или протеинурия). eGFR е изчислена по формулата CKD-EPI и стандартизирана спрямо телесна повърхност 1.73 m² (mL/min/1.73 m²).

За оценка на взаимовръзката между нивата на усMGP, минералния метаболизъм и сърдечно-съдовия риск (задачи 2 и 3) бяха изследвани общо 84 лица, разделени в три групи:

- Група I – контроли: лица без данни за бъбречно заболяване,
- (eGFR $\geq$ 90 mL/min; n = 15)
- Група II – пациенти с ХБЗ с леко до умерено намалена ГФ,
- (G2 + G3a, eGFR 45 – 89 mL/min; n = 42)
- Група III – пациенти с ХБЗ с умерено до силно намалена ГФ,
- (G3b + G4, eGFR 15 – 44 mL/min; n = 27)

С цел оценка на NGAL като маркер за прогресия на ХБЗ и ранен биомаркер за бъбречна увреда (задачи 4 и 5) бяха изследвани общо 83 лица – 12 здрави контроли и 71 пациенти в стадии G1 – G4 на ХБЗ съгласно KDIGO.

Пациентите с ХБЗ бяха разделени в три работни групи:

- Група I (G1, eGFR $\geq$ 90 mL/min; n = 16) – идентифицирани въз основа на микроалбуминурия (n = 14) и протеинурия (n = 2)
- Група II (G2 + G3a, eGFR 89 – 45 mL/min; n = 33)
- Група III (G3b + G4, eGFR 44 – 15 mL/min; n = 22)

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Клинични методи – анамнеза и физикално изследване

На всички участници беше снета подробна анамнеза относно наличието на субективни оплаквания, сърдечно-съдови рискови фактори, придружаващи заболявания и провеждана терапия. Събрани бяха данни за давността на хроничното бъбречно заболяване, стойностите на артериалното налягане и провежданото лечение. При пациентите с артериална хипертония и захарен диабет тип 2, бе събрана допълнителна информация относно давността на заболяването, терапевтичното поведение и наличието на съдови усложнения. Извършен беше анализ на наличната медицинска документация. При част от участниците беше проведена и допълнителна консултация с кардиолог с оглед уточняване на сърдечно-съдовия статус и придружаващата патология.

2. Антропометрия

Телесната маса беше измерена по утвърдена стандартна методика с калибрирана електронна везна, а ръстът, посредством стандартен ръстомер. Въз основа на телесната маса (kg) и ръста (m) беше изчислен индексът на телесната маса (ИТМ) по формулата: $\text{ИТМ} = \text{kg/m}^2$. За интерпретация на получените стойности бяха използвани критериите на Световната здравна организация (СЗО), възприети и в България:

- поднормено телесно тегло: $< 18.5 \text{ kg/m}^2$
- нормално телесно тегло: $18.5 - 24.99 \text{ kg/m}^2$
- наднормено телесно тегло: $25.0 - 29.99 \text{ kg/m}^2$
- затлъстяване (обезитет): $\geq 30 \text{ kg/m}^2$

3. Социологически методи

3.1. Документален метод

За всяка от изследваните групи беше разработена стандартизирана анкетна карта, включваща данни за възрастта на участниците, антропометричните показатели, анамнезата на заболяването, наличната придружаваща патология, както и провежданата медикаментозна терапия.

4. Лабораторни изследвания

За изследване на биохимичните и имунологични показатели (BUN, SCr, UA, Ca, Pi, ALP, PTH, hs-CRP, IL-6, ucMGP и NGAL) беше използвана венозна кръв, взета сутрин (8:00–9:30 ч.) след 12-часово гладуване. Серумът беше отделян чрез центрофугиране при 2500 rpm за 10 минути, а анализите бяха извършени в деня на

вземането в сертифицирана медико-диагностична лаборатория при спазване на стандартните лабораторни протоколи. Пълната кръвна картина беше изследвана от венозна кръв с EDTA като антикоагулант чрез автоматизиран хематологичен анализатор Sysmex XP.

4.1. Биохимични изследвания

- **Показатели за бъбречна функция:** Серумният креатинин (SCr) беше определен чрез кинетичен компенсиран Jaffe метод, а кръвният уреен азот (BUN) – чрез ензимен метод на автоматичен биохимичен анализатор Cobas C 311 (Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland). Скоростта на гломерулна филтрация (eGFR) беше изчислена чрез уравнението CKD-EPI и стандартизирана спрямо телесна повърхност 1.73 m².
- **Биохимични и метаболитни маркери:** Серумните концентрации на калций (Ca), неорганичен фосфат (Pi), алкална фосфатаза (ALP) и пикочна киселина (UA) бяха определени чрез стандартизирани методи на автоматичен биохимичен анализатор Cobas C 311 (Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland).
- **Възпалителни маркери:** Високочувствителният С-реактивен протеин (hs-CRP) беше изследван чрез турбидиметричен имуноанализ, а интерлевкин-6 (IL-6) – чрез електрохемилюминесцентен имуноанализ (ECLIA) с автоматизиран имуноанализатор Cobas E 411 (Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland), съгласно инструкциите на производителя.

4.2. Имунологични изследвания

4.2.1. РТН

- Паратиреоидният хормон (PTH) бе измерен чрез електрохемилюминесцентен имуноанализ (ECLIA) на автоматизиран имуноанализатор Cobas E 411 (Roche Diagnostics GmbH, Basel, Switzerland). Използван беше комплект Elecsys PTH (каталожен номер: 11972103122), съгласно инструкциите на производителя.

Референтните стойности на показателите, в съответствие с използваните лабораторни анализи, са показани в Таблица 1.

Таблица 1. Референтни стойности на изследваните показатели.

Показател	Референтни стойности
SCr	Мъже: 62 – 106 $\mu\text{mol/L}$; Жени: 44 – 80 $\mu\text{mol/L}$
BUN	Мъже: 3.2 – 7.4 mmol/L ; Жени: 2.5 – 6.7 mmol/L
UA	Мъже: 202 – 416 $\mu\text{mol/L}$; Жени: 143 – 339 $\mu\text{mol/L}$
Ca	2.15 – 2.55 mmol/L
Pi	0.87 – 1.45 mmol/L
ALP	$\leq 128 \text{ U/L}$
PTH	15 – 65 pg/mL
hs-CRP	$\leq 3.0 \text{ mmol/L}$
IL-6	$< 7 \text{ pg/mL}$
WBC	3.2 – 10.5 G/L

4.2.2. ELISA методи

В сутрешните часове между 8 и 9.30 ч., 12 часа след последното хранене, беше взета 5 mL венозна кръв в стерилни вакутейнери за серум, без антикоагулант. Полученият след центрофугиране при 1500 rpm серум беше разделен на по-малки обеми и съхраняван при -80°C до момента на извършване на имунологичните анализи

- **Определяне на ucMGP чрез ELISA**

Серумните концентрации на ucMGP бяха определени чрез количествен sandwich ELISA метод с търговски комплект Human Undercarboxylated Matrix Gla Protein ELISA Kit (Abbexa Ltd., Cambridge, UK; кат. № abx257511). Измерването беше извършено съгласно протокола на производителя, като оптичната плътност беше отчетена при 450 nm и концентрациите на ucMGP бяха изчислени чрез стандартна калибрационна крива.

- **Определяне на NGAL чрез ELISA**

Серумните концентрации на NGAL бяха определени чрез количествен sandwich ELISA метод с комплект Human Lipocalin-2/NGAL Immunoassay ELISA Kit (R&D Systems, USA; кат. № DLCN20). Анализът беше проведен съгласно протокола на производителя, като оптичната плътност беше измерена при 450 nm, а концентрациите на NGAL бяха изчислени чрез стандартна калибрационна крива.

5. Математически метод

- Изчисляване на съотношението $\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$.

$$\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR Ratio} = \frac{\text{Ca} \times \text{P}}{\text{eGFR}} = \frac{(\text{mmol/L})^2}{(\text{mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2)} \quad (1)$$

$$\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR Ratio (Percentage)} = \frac{\text{Ca} \times \text{P}}{\text{eGFR}} \times 100 = \frac{(\text{mmol/L})^2 \times 100}{(\text{mL}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2)} \quad (2)$$

- Като се имат предвид малките числени стойности на съотношението $\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$, изразяването му като процент (показано във втората формула) подобрява интерпретацията на резултатите и осигурява по-добро представяне на данните.

6. Статистически методи

Експерименталните данни бяха обработени със статистическа програма SPSS v27.0. Резултатите са представени чрез таблици, графики и числови показатели. Непрекъснатите променливи са изразени като средна стойност ($\bar{X}$) $\pm$ стандартно отклонение (SD) и като медиана с интерквартилен диапазон (IQR). Категорийните променливи са представени като брой (n) и проценти (%).

Разпределението на данните е оценено чрез тестовете на Колмогоров–Смирнов (Kolmogorov–Smirnov) и Шапиро–Уилк (Shapiro–Wilk). За статистически значими са приети стойности на $p < 0.05$.

Статистическата обработка на данните е извършена чрез дескриптивен, сравнителен, корелационен, регресионен и ROC анализ.

Дескриптивен анализ:

- Честотен анализ на качествените променливи величини, който включва абсолютни и относителни честоти в проценти.
- Вариационен анализ на количествените променливи, включващ средна аритметична стойност, стандартно отклонение, стандартна грешка на средната стойност и медиана.

Сравнителен анализ: Данните с нормално разпределение са представени като средна стойност $\pm$ стандартно отклонение ($\bar{X} \pm \text{SD}$), а данните с ненормално разпределение като медиана и интерквартилен диапазон (IQR).

- При нормално разпределени данни статистическата значимост между групите е оценена чрез еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA) с post-hoc тест на Tukey, както и t-тест за независими и зависими извадки.
- При отклонение от нормалното разпределение са използвани непараметричните тестове на Крускал–Уолис (Kruskal–Wallis) за повече от две групи и Ман–Уитни (Mann–Whitney U test) за две независими групи.

Корелационен анализ:

- Корелационен анализ на Пирсън (Pearson) за изследване на връзката между две непрекъснати, нормално разпределени променливи.
- Рангов корелационен анализ на Спирман (Spearman's rho) за ненормално разпределени и/или ординални променливи.

Степента на корелациите е оценена според корелационния коефициент (r) при тристепенна скала, както следва: слаба корелация ($r < 0.3$), умерена корелация ($0.3 \leq r < 0.7$) и силна корелация ($0.7 \leq r \leq 1$).

Регресионен анализ:

Беше използвана бинарна логистична регресия за идентифициране на независими предиктори за риск от ССЗ. След проверка за мултиколинеарност, статистически значимите променливи бяха включени в мултивариантен модел чрез стъпков (forward stepwise) подбор. Резултатите са представени като odds ratio (OR), 95% доверителен интервал (CI) и p -стойност.

ROC анализ:

ROC (Receiver Operating Characteristic) анализът беше използван за оценка на диагностичната ефективност на ucMGP и съотношенията $\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$, ucMGP/eGFR при предсказване на риска от ССЗ, както и за оценка на диагностичната ефективност на NGAL за ранно откриване на бъбречна увреда. Резултатите са изразени чрез площ под кривата (AUC), p -стойност и 95% CI. Оптималната гранична стойност е определена чрез индекса на Youden.

РЕЗУЛТАТИ

1. Минерален метаболизъм и сърдечно-съдов риск

В проучването бяха включени и изследвани 84 участници на възраст между 31 и 87 години; 32 мъже и 52 жени, от които 15 лица със запазена бъбречна функция и 69 пациенти в преддиализни стадии на ХБЗ (G2 – G4), съгласно критериите на KDIGO. Стадият на заболяването беше определен въз основа на eGFR. Поради ограничения брой пациенти в отделните KDIGO стадии и с цел повишаване надеждността на статистическия анализ, пациентите с ХБЗ бяха обединени в две по-широки категории, отразяващи леко до умерено (eGFR 89 – 45 mL/min) и умерено до тежко (eGFR 44 – 15 mL/min) нарушение на бъбречната функция.

Разпределението по диагнози в групите беше както следва:

- Група I (GFR $\geq$ 90 mL/min; n = 15): лица без данни за бъбречно заболяване.
- Група II (GFR 89 – 45 mL/min; n = 42): хипертонична нефропатия (n = 16), диабетна нефропатия (n = 13), хроничен пиелонефрит (n = 5), хроничен гломерулонефрит (n = 2), хроничен интерстициален нефрит (n = 2), АДБПБ (n = 2), ВАОС (n = 2).
- Група III (GFR 44 – 15 mL/min; n = 27): хипертонична нефропатия (n = 10), диабетна нефропатия (n = 8), хроничен пиелонефрит (n = 4), хроничен гломерулонефрит (n = 2), хроничен интерстициален нефрит (n = 2), АДБПБ (n = 1).

Демографските, клинико-лабораторните и имунологични показатели на изследваните лица са отразени в Таблица 2.

Таблица 2. Сравнителен анализ на клиничните, лабораторните и имунологични показатели при трите групи пациенти според степента на гломерулната филтрация.

Параметри	Група I (eGFR $\geq$ 90) (n = 15)	Група II (eGFR 89 - 45) (n = 42)	Група III (eGFR 44 - 15) (n = 27)	p =
Мъже/Жени (брой)	4/11	15/27	13/14	
Възраст (години) ¹	58.20 $\pm$ 15.49	65.38 $\pm$ 12.89	67.29 $\pm$ 10.57	0.012
Ca (mmol/L) ²	2.47 (2.43 - 2.54)	2.47 (2.42 - 2.53)	2.49 (2.45 - 2.57)	0.494
Pi (mmol/L) ¹	1.15 $\pm$ 0.14	1.12 $\pm$ 0.15	1.22 $\pm$ 0.19	0.080
Ca $\times$ P (mmol /L) ¹	2.86 $\pm$ 0.41	2.76 $\pm$ 0.40	3.11 $\pm$ 0.63	0.018
SCr (μ mol/L) ²	60 (56 - 67)	95 (70 - 109)	169 (150 - 211)	< 0.001
BUN (mmol/L) ¹	5.87 $\pm$ 1.32	6.60 $\pm$ 1.74	12.22 $\pm$ 3.99	< 0.001
eGFR (mL/min) ²	102 (92 - 106)	67 (52 - 82)	31 (25 - 41)	< 0.001
ALP (U/L) ¹	62.00 $\pm$ 15,25	71.79 $\pm$ 16	79.26 $\pm$ 24.06	0.020
PTH (pg/mL) ²	73.6 (28 - 87)	65.2 (51.9 - 100)	84.3 (56.2 - 132.65)	0.493
ucMGP (ng/mL) ²	2.37 (1.86 - 3.70)	2.14 (1.74 - 2.44)	2.14 (1.75 - 3.71)	0.948
CC3 (Не/Да)	12/3	23/19	6/21	

¹ Средна стойност $\pm$ SD; ² Медиана и IQR. Съкращения: Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; Са $\times$ Р – калциево-фосфатен продукт; SCr – серумен креатинин; BUN – уреен азот в кръвта, eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; uc-MGP – некарбоксилиран матриксен Gla-протеин. p < 0.05 – статистическа значимост.

Установи се статистически значима разлика във възрастта, като пациентите в групи II и III бяха по-възрастни от контролната група (p = 0.012). Не се наблюдаваха значими разлики за Ca (p = 0.494) и Pi (p = 0.080), въпреки тенденцията към по-високи стойности на Pi в група III. Са $\times$ Р и ALP се повишаваха с влошаване на бъбречната функция (съответно p = 0.018 и p = 0.020). SCr, BUN и eGFR показваха прогресивна промяна между групите (всички p < 0.001), докато PTH и ucMGP не се различаваха значимо (p = 0.493 и p = 0.948). Делът на пациентите със ССЗ нарастваше с влошаване на бъбречната функция (група I: 3/15; група II: 19/42; група III: 21/27).

2. Оценка на индивидуалния сърдечно-съдов риск при пациенти с ХБЗ чрез използване на съотношението на $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$

За изследване на взаимовръзките между минералния метаболизъм и ССЗ участниците бяха разделени на две групи: група без ССЗ и група със ССЗ. Артериална хипертония се наблюдаваше при всички пациенти със ССЗ (100%), следвана от ИБС (44%), КСК (42%), СН (30%), ХАНК (19%) и аритмии (9%), като поради налична коморбидност категориите не бяха взаимно изключващи се.

В Таблица 3 са представени основните характеристики на проучваните лица, разделени в две групи според наличието или липсата на ССЗ.

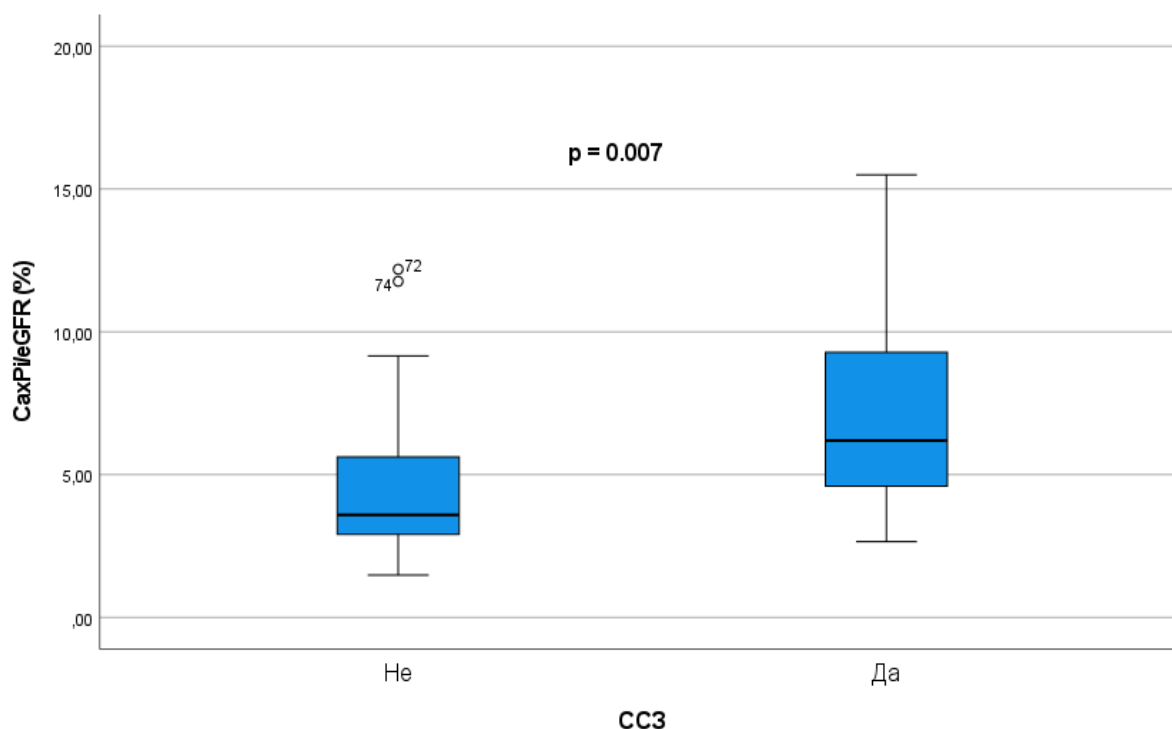
Таблица 3. Демографски, клинични и лабораторни показатели на пациентите разделени според наличието или отсъствието на ССЗ.

Параметри	Всички пациенти (n = 84)	Група без ССЗ (n = 41)	Група със ССЗ (n = 43)	p =
Мъже/Жени (брой)	32/52	11/30	21/22	–
Възраст (години) ¹	64.71 ± 12.95	64.70 ± 13.82	64.72 ± 12.22	0.996
SCr (μmol/L) ¹	114.65 ± 52.92	93.73 ± 52.03	134.60 ± 46.06	< 0,001
BUN (mmol/L) ¹	8.27 ± 3.78	6.79 ± 2.79	9.69 ± 4.08	< 0,001
UA (μmol/L) ¹	313.22 ± 97.23	283.43 ± 87.15	332.25 ± 99.68	0.059
eGFR (mL/min/1.73 m ²) ¹	61.60 ± 27.79	74.09 ± 27.42	49.69 ± 22.63	< 0,001
Ca (mmol/L) ¹	2.49 ± 0.21	2.51 ± 0.29	2.48 ± 0.10	0.444
Pi (mmol/L) ¹	1.16 ± 0.17	1.13 ± 0.15	1.18 ± 0.18	0.202
Ca×P (mmol ² /L ²) ¹	2.90 ± 0.51	2.86 ± 0.53	2.94 ± 0.50	0.480
PTH (pg/mL) ¹	84.39 ± 50.39	89.07 ± 67.41	82.13 ± 41.02	0.677
ALP (U/L) ¹	72.44 ± 19.54	70.53 ± 18.98	74.25 ± 20.11	0.387

¹ Средна стойност ± SD; Съкращения: SCr – серумен креатинин; BUN – уреен азот в кръвта; UA – пикочна киселина; eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; Ca×P – калциево-фосфатен продукт; PTH – паратиреоиден хормон; ALP – алкална фосфатаза. p < 0,05 – статистически значимо.

Не се установи статистически значима разлика във възрастта между пациентите със и без ССЗ (p = 0.996). Пациентите със ССЗ имаха значимо по-високи стойности на SCr и BUN и по-ниски стойности на eGFR (всички p < 0.001), докато UA показва тенденция към повишение без статистическа значимост (p = 0.059). Не бяха установени значими разлики за Ca, Pi, Ca×P, PTH и ALP (всички p > 0.05).

Съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ при пациенти със и без ССЗ е показано на Фигура 1.



Фигура 1. Boxplot диаграма за сравнение на съотношението $Ca \times P/eGFR$ между пациенти със и без CC3 в цялата кохорта с ХБЗ. $Ca \times P/eGFR$ е представено в $(mmol/L)^2 / (мл/мин/1,73 m^2)$. Не – група без CC3, Да – група със CC3, $p < 0,05$ – статистическа значимост.

Съотношението $Ca \times P/eGFR$ беше статистически значимо по-високо при пациентите със CC3 спрямо тези без CC3 (0.07 ± 0.04 срещу 0.05 ± 0.04 $(mmol/L)^2 / (мл/мин/1.73 m^2)$; $p = 0.007$), което предполага потенциална връзка между повишеното съотношение $Ca \times P/eGFR$ и повишения сърдечно-съдов риск.

С цел идентифициране на предикторите за сърдечно-съдов риск при изследваните пациенти, бе проведен бинарен логистичен регресионен анализ. Резултатите са представени в Таблица 4.

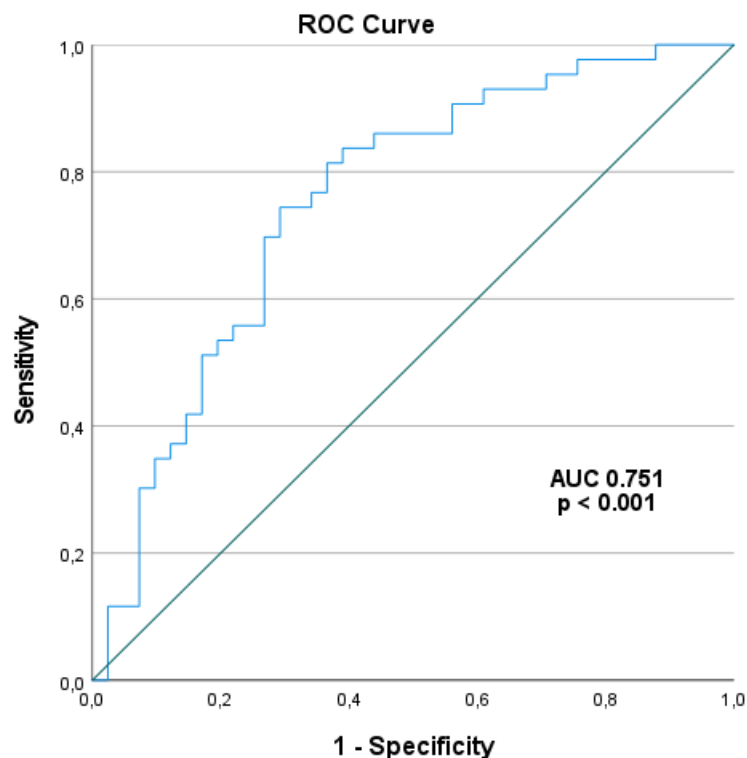
Таблица 4. Бинарен логистичен регресионен анализ, идентифициращ предиктори за сърдечно-съдов риск в общата кохорта с ХБЗ.

Променливи	Унивариатен анализ * (Единични предсказващи фактори)			Многовариантен анализ ** (Предиктори в модела)		
	Коефициент (В)	OR (95% CI)	p =	Коефициент (В)	OR (95% CI)	p =
BUN (mmol/L)	0.275	1.317 (1.109 – 1.563)	0.002	–	–	–
SCr (μmol/L)	0.018	1.018 (1.007 – 1.029)	0.001	–	–	–
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	– 0.038	0.963 (0.944 – 0.982)	< 0.001	– 0.038	0.963 (0.944 – 0.982)	< 0.001
Ca×P/eGFR (mmol/L) ² / (мл/мин/1.73 м ²)	0.187	1.206 (1.042 – 1.395)	0.012	–	–	–

* Метод = Enter, ** Метод = forward stepwise (likelihood ratio). Съкращения: OR – коефициент на вероятност; CI – доверителен интервал; BUN – уреен азот в кръвта; SCr – серумен креатинин; eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; Ca×P – калциево-фосфорен продукт. p < 0,05 – статистическа значимост.

При унивариатния анализ бяха установени статистически значими асоциации между риска от ССЗ и редица клинични показатели. Повишените нива на BUN (p = 0.002, OR = 1.317; 95% CI: 1.109 – 1.563) и SCr (p = 0.001, OR = 1.018; 95% CI: 1.007 – 1.029) са свързани с по-висок риск от ССЗ. Обратно, по-ниските стойности на eGFR са асоциирани с повишен риск (p < 0.001, OR = 0.963; 95% CI: 0.944 – 0.982). Също така, съотношението Ca×P/eGFR показва статистически значима връзка с риска от ССЗ (p = 0.012; OR = 1.206; 95% CI: 1.042 – 1.395). При мултивариантния анализ само eGFR остана независим предиктор за риск от ССЗ (p < 0.001, OR = 0.963; 95% CI: 0.944 – 0.982), като по-ниските му стойности са свързани с по-висока вероятност за наличие на ССЗ.

За оценка на диагностичната способност на съотношението Ca×P/eGFR за предсказване на сърдечно-съдовия риск при пациентите в преддиализен стадий на ХБЗ беше приложен ROC анализ (Фигура 2).



Фигура 2. ROC крива, илюстрираща диагностичната способност на съотношението $\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$ за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациенти в преддиализен стадий на ХБЗ. Съкращения: ROC - Receiver Operating Characteristic; AUC - площ под кривата; p - вероятностна стойност.

ROC кривата показва добра дискриминационна способност за разграничаване между пациенти с висок и нисък риск от ССЗ, с AUC от 0.751 ($p < 0.001$, 95% CI: 0.645 – 0.857). Гранична стойност от 0.048 (mmol/L)/(мл/мин/1.73 м²) беше определена като оптимална с чувствителност от 74.4% и специфичност от 70.7%. Това означава, че при тази стойност тестът идентифицира правилно 74.4% от пациентите, които развиват ССЗ (истински положителни), и правилно идентифицира 70.7% от пациентите, които не развиват ССЗ (истински отрицателни). Тези резултати подкрепят потенциалната клинична приложимост на съотношението $\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$ за стратификация на сърдечно-съдовия риск при пациенти в преддиализен стадий на ХБЗ.

В Таблица 5 са представени резултатите от корелационния анализ, оценяващ връзката на съотношението $\text{Ca} \times \text{P}/\text{GFR}$ с бъбречната функция.

Таблица 5. Корелации между съотношението Ca×P/eGFR и различни показатели на бъбречната функция.

Корелации	Корелация на Пирсън Коефициент (r)	p =
Ca×P/eGFR и SCr	0.841 **	< 0.001
Ca×P/eGFR и eGFR	– 0.796 **	< 0.001
Ca×P/eGFR и BUN	0.723 **	< 0.001
Ca×P/eGFR и UA	0.264 *	0.043
Ca×P/eGFR и Ca	0.491 **	< 0.001
Ca×P/eGFR и Pi	0.458 **	< 0.001
Ca×P/eGFR и PTH	0.366 *	0.016
Ca×P/eGFR и ALP	0.399 **	< 0.001

* Корелацията е значима на ниво 0.05, ** Корелацията е значима на ниво 0.01. Съкращения: Ca×P/eGFR – съотношение на калций-фосфатния продукт към изчислената скорост на гломерулната филтрация; SCr – серумен креатинин; BUN – уреен азот в кръвта; UA – пикочна киселина; Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; PTH – паратиреоиден хормон; ALP – алкална фосфатаза.

Анализът на Пирсън разкри редица значими корелации. Най-силна положителна корелация беше наблюдавана между съотношението Ca×P/eGFR и SCr ($r = 0.841$, $p < 0.001$). Беше установена силна отрицателна корелация между съотношението Ca×P/eGFR и eGFR ($r = -0.796$, $p < 0.001$). Значителни положителни корелации бяха наблюдавани и между съотношението Ca×P/eGFR и BUN ($r = 0.723$, $p < 0.001$), Ca ($r = 0.491$, $p < 0.001$), Pi ($r = 0.458$, $p < 0.001$) и ALP ($r = 0.399$, $p < 0.001$). Бяха наблюдавани умерени положителни корелации между съотношението Ca×P/eGFR и UA ($r = 0.264$, $p = 0.043$) и PTH ($r = 0.366$, $p = 0.016$). Отбелязаните корелации между съотношението Ca×P/eGFR и различни параметри на бъбречната функция подчертават потенциала на съотношението Ca×P/eGFR като важен индикатор за оценка на бъбречната функция и нейното влияние върху сърдечно-съдовото здраве при пациенти с ХБЗ.

3. Некарбоксилираният MGP като биомаркер за сърдечно-съдов риск

За изследване на връзката между ucMGP, ХБЗ и сърдечно-съдовите заболявания, пациентите бяха разделени на две групи съгласно KDIGO класификацията:

- Група I (GFR ≥ 90 ml/min; $n = 15$) – контролна група, лица без данни за бъбречно заболяване. При трима от участниците бе установена артериална хипертония.
- Група II (GFR 15 – 89 ml/min; $n = 69$) – пациенти с диагностицирано ХБЗ.

На Таблица 6 са представени клиничните, лабораторните и имунологичните показатели на пациентите в двете изследвани групи, стратифицирани според стойностите на eGFR.

Таблица 6. Сравнителен анализ на основните показатели в изследваните групи.

Параметър	Група I (GFR $\geq$ 90 ml/min) (n = 15)	Група II (GFR 15–89 ml/min) (n = 69)	p =
Възраст (години)	58.2 $\pm$ 15.5	66.13 $\pm$ 11.2	
Ca (mmol/L)	2.48 $\pm$ 0.10	2.5 $\pm$ 0.24	0.806
Pi (mmol/L)	1.15 $\pm$ 0.15	1.16 $\pm$ 0.18	0.902
BUN (mmol/L)	5.87 $\pm$ 1.32	8.80 $\pm$ 3.95	0.002
SCr (μ mol/L)	62.8 $\pm$ 12.28	125.93 $\pm$ 51.63	< 0.001
eGFR (ml/min)	102.87 $\pm$ 15.05	52.64 $\pm$ 20.99	< 0.001
ucMGP (ng/mL)	2.31 $\pm$ 1.13	2.29 $\pm$ 0.9	0.888

Резултатите са представени като средна стойност $\pm$ SD. Ca – серумен калций, Pi – неорганичен фосфат, BUN – уреен азот в кръвта, SCr – серумен креатинин, eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация, ucMGP – некарбоксилиран MGP. p < 0.05 – статистическа значимост

Средната възраст на пациентите в група II беше по-висока в сравнение с контролната група (66.13 $\pm$ 11.2 спрямо 58.2 $\pm$ 15.5 години). Нивата на Ca и Pi не показаха статистически значими различия между двете групи. В група II бяха установени статистически значимо по-високи стойности на BUN и SCr (съответно p = 0.002 и p < 0.001), както и значимо по-ниски стойности на eGFR (p < 0.001), което отразява нарушената бъбречна функция при пациентите с ХБЗ. Средните нива на ucMGP не показаха статистически значима разлика между пациентите с ХБЗ и контролната група (2.29 $\pm$ 0.9 спрямо 2.31 $\pm$ 1.13 ng/mL, p = 0.888), като не беше установена зависимост между серумните нива на ucMGP и степента на бъбречната функция в изследваната популация.

Резултатите от сравнението на клиничните и лабораторни показатели според наличието на съпътстващи ССЗ в двете групи са представени в Таблица 7.

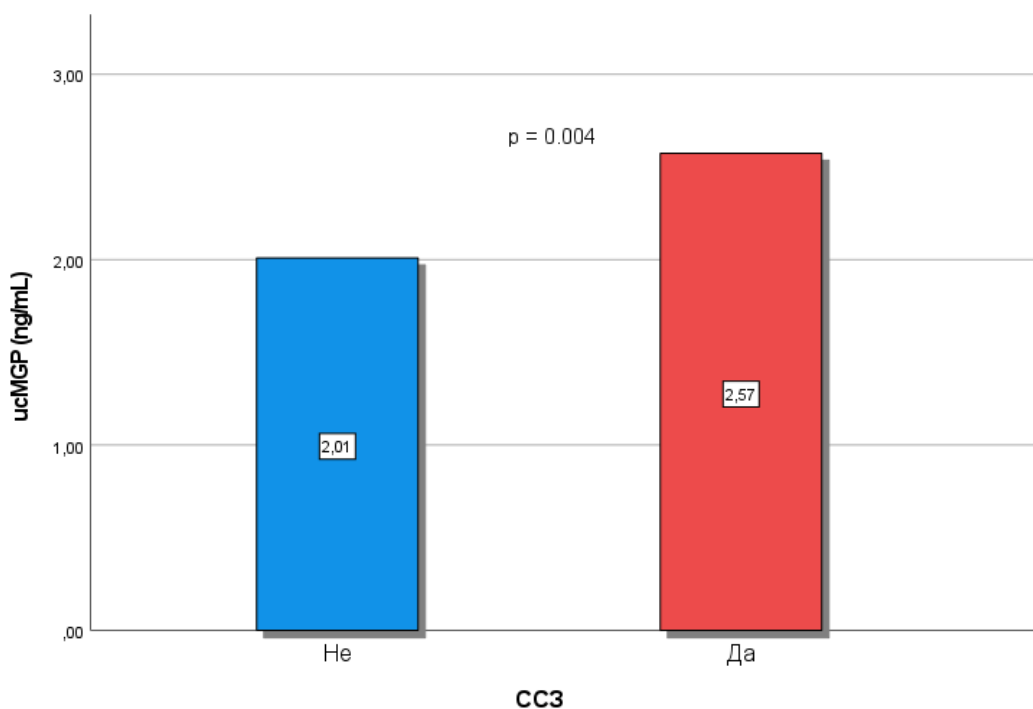
Таблица 7. Разпределение на изследваните лабораторни показатели и ucMGP спрямо сърдечно-съдовия статус на пациентите в двете групи.

Параметър	Група I (eGFR $\geq$ 90 ml/min)			Група II (eGFR 15 – 89 ml/min)		
	Не (80%) (n = 12)	Да (20%) (n = 3)	p =	Не (42%) (n = 29)	Да (58%) (n = 40)	p =
CC3 (%)						
Ca (mmol/L)	2.48 $\pm$ 0.12	2.5 $\pm$ 0.05	0.784	2.53 $\pm$ 0.34	2.48 $\pm$ 0.11	0.469
Pi (mmol/L)	1.11 $\pm$ 0.12	1.31 $\pm$ 0.17	0.043	1.15 $\pm$ 0.16	1.17 $\pm$ 0.18	0.761
BUN (mmol/L)	5.85 $\pm$ 1.48	5.97 $\pm$ 0.38	0.665	7.18 $\pm$ 3.13	9.98 $\pm$ 4.1	0.003
SCr (μ mol/L)	59.92 $\pm$ 11.6	74.33 $\pm$ 8.02	0.001	107.72 $\pm$ 55.88	139.13 $\pm$ 44.51	0.043
eGFR (ml/min)	102.67 $\pm$ 16.24	103.67 $\pm$ 11.6	0.612	62.28 $\pm$ 21.8	45.65 $\pm$ 17.44	0.002
ucMGP (ng/mL)	2.07 $\pm$ 1.1	3.28 $\pm$ 0.79	0.060	1.98 $\pm$ 0.73	2.52 $\pm$ 0.96	0.009

Резултатите са представени като средна стойност $\pm$ SD. CC3 – сърдечно-съдово заболяване, Ca – серумен калций, Pi – неорганичен фосфат, BUN – уреен азот в кръвта, SCr – серумен креатинин, eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация, ucMGP – некарбоксилиран MGP. $p < 0,05$ – статистическа значимост

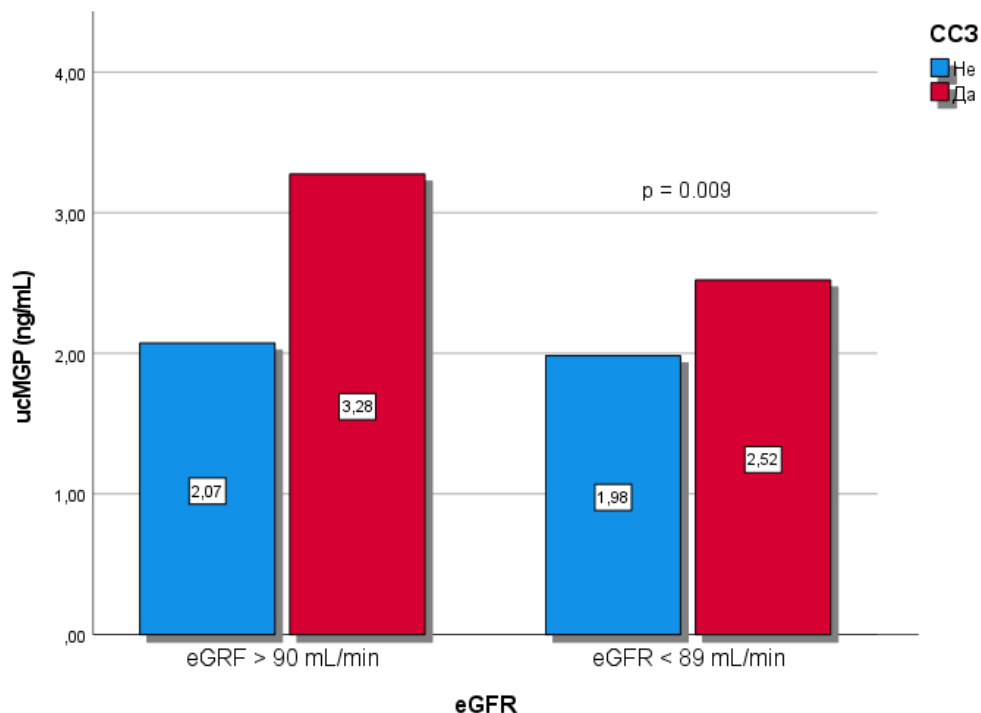
В група I (eGFR $\geq$ 90 mL/min) 20% от участниците бяха със CC3, а 80% бяха без CC3. Не се установиха статистически значими различия между двете подгрупи по отношение на серумните Ca и eGFR ($p = 0.784$ и $p = 0.612$). При участниците със CC3 се наблюдаваха статистически значимо по-високи стойности на Pi ($p = 0.043$) и SCr ($p = 0.001$). Нивата на ucMGP бяха по-високи при участниците със CC3, без да достигнат статистическа значимост ($p = 0.060$). В група II (eGFR 15 – 89 mL/min) 58% от участниците бяха със CC3, а 42% бяха без CC3. Не се установиха статистически значими различия между двете подгрупи по отношение на Ca и Pi ($p = 0.469$ и $p = 0.761$). Наблюдаваха се статистически значимо по-високи стойности на BUN ($p = 0.003$), SCr ($p = 0.043$) и по-ниски стойности на eGFR ($p = 0.002$) при участниците със CC3. Нивата на ucMGP също бяха статистически значимо по-високи при участниците със CC3 ($p = 0.009$).

Повишените нива на ucMGP са асоциирани с наличието на сърдечно-съдови заболявания, както в общата популация така и в групите със и без ХБЗ което подкрепя ролята на ucMGP като потенциален биомаркер за сърдечно-съдов риск в тази популация (Фигури 3 и 4).



Фигура 3. Стълбова диаграма илюстрираща средната концентрация на ucMGP в общата популация пациенти според наличието или липсата на CC3.

Лицата в групата със CC3 показаха статистически значимо по-високи нива на ucMGP в сравнение с тези без CC3 ($p = 0.004$).



Фигура 4. Стълбова диаграма илюстрираща средната концентрация на ucMGP при лицата със запазена и намалена бъбречна функция в двете групи според наличието или липсата на CC3.

В групата със запазена бъбречна функция средните нива на ucMGP бяха значително по-високи при пациенти със CC3 (3.28 ng/mL) в сравнение с тези без CC3

(2.07 ng/mL). В група II също беше наблюдавано повишение на ucMGP при пациентите със ССЗ (2.52 ng/mL) спрямо тези без ССЗ (1.98 ng/mL), като разликите бяха статистически значими ($p = 0.009$).

Резултатите от сравнителния анализ на изследваните показатели в зависимост от пола на пациентите в двете групи са представени в Таблица 8.

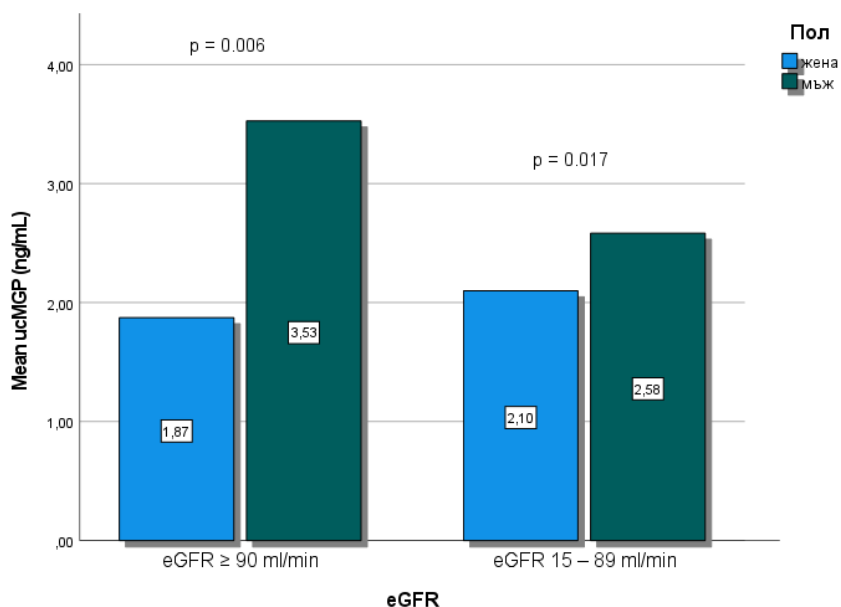
Таблица 8. Сравнителна характеристика на клинично-лабораторните параметри и нивата ucMGP при мъже и жени в двете изследвани групи.

Параметър	Група I (eGFR ≥ 90 mL/min)			Група II (eGFR 15 – 89 mL/min)		
	Мъже (n = 4)	Жени (n = 11)	p =	Мъже (n = 28)	Жени (n = 41)	p =
Ca (mmol/L)	2.54 $\pm$ 0.08	2.46 $\pm$ 0.11	0.089	2.44 $\pm$ 0.1	2.53 $\pm$ 0.29	0.131
Pi (mmol/L)	1.13 $\pm$ 0.15	1.19 $\pm$ 0.19	0.005	1.31 $\pm$ 0.14	1.1 $\pm$ 0.19	0.054
BUN (mmol/L)	5.78 $\pm$ 0.65	5.91 $\pm$ 1.52	0.948	9.05 $\pm$ 3.98	8.63 $\pm$ 3.98	0.582
SCr (μ mol/L)	74.0 $\pm$ 10.17	58.73 $\pm$ 10.56	0.013	149 $\pm$ 53.34	110.17 $\pm$ 44.55	0.002
eGFR (mL/min)	103.25 $\pm$ 10.7	102.73 $\pm$ 16.8	0.844	49.21 $\pm$ 18.73	54.98 $\pm$ 22.26	0.346
ucMGP (ng/mL)	3.53 $\pm$ 0.4	1,87 $\pm$ 0.97	0.006	2.28 $\pm$ 0.85	2.09 $\pm$ 0.89	0.017

Резултатите са представени като средна стойност $\pm$ SD. Ca – серумен калций, Pi – неорганичен фосфат, BUN – уреен азот в кръвта, SCr – серумен креатинин, eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация, ucMGP – некарбоксилиран MGP. $p < 0.05$ – статистическа значимост

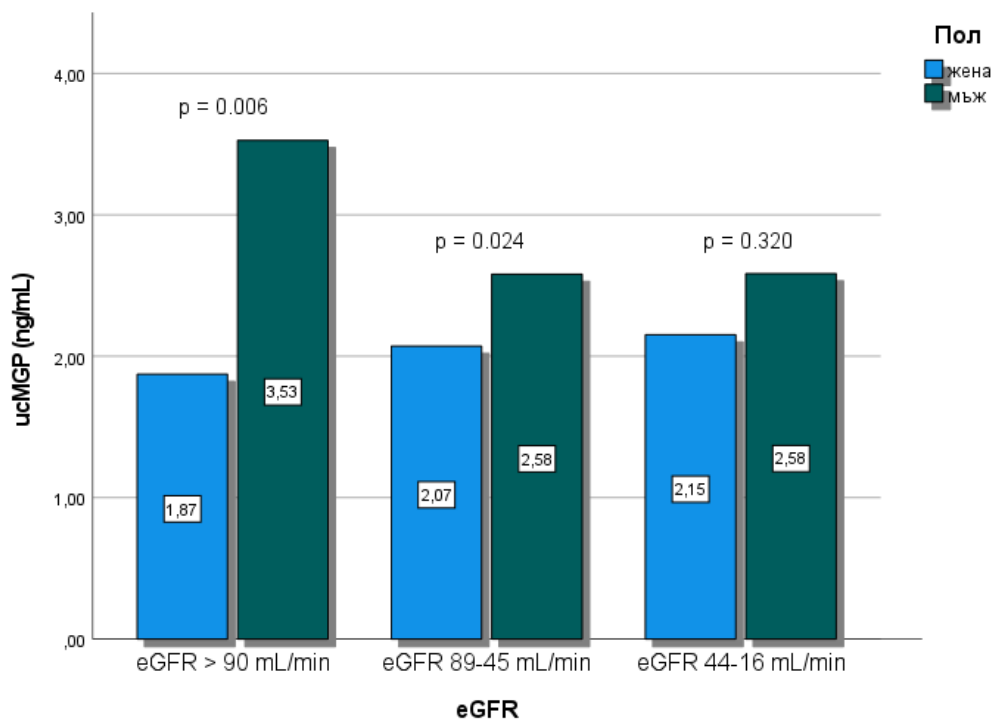
В група I (eGFR ≥ 90 mL/min) не бяха установени статистически значими различия между половете по отношение на серумните нива на Ca, BUN и eGFR (съответно $p = 0.089$; $p = 0.948$ и $p = 0.844$). Наблюдаваха се статистически значимо по-високи стойности на Pi при жените в сравнение с мъжете ($p = 0.005$), както и по-високи нива на SCr при мъжете ($p = 0.013$). Концентрациите на ucMGP също бяха значимо по-високи при мъжете спрямо жените ($p = 0.006$). В група II (eGFR 15 – 89 mL/min) не бяха установени статистически значими разлики между мъжете и жените по отношение на нивата на Ca, Pi, BUN и eGFR (съответно $p = 0.131$; $p = 0.054$; $p = 0.582$ и $p = 0.346$). Серумният креатинин беше значимо по-висок при мъжете в сравнение с жените ($p = 0.002$). Нивата на ucMGP също показаха статистически значима разлика между двата пола, като по-високи стойности бяха наблюдавани при мъжете ($p = 0.017$).

Получените резултати показват наличие на полови различия при някои биохимични показатели, като най-изразени са разликите при SCr и ucMGP. Средните концентрации на ucMGP (ng/mL) при жените и мъжете, според степента на бъбречна функция са показани на Фигури 5 и 6.



Фигура 5. Стълбова диаграма илюстрираща средните нива на ucMGP (ng/mL) при жените и мъжете, разпределени в зависимост от степента на бъбречната дисфункция.

В групата със запазена бъбречна функция беше наблюдавана статистически значима разлика между половете, като при мъжете стойностите бяха по-високи (3.53 ng/mL) в сравнение с жените (1.87 ng/mL, $p = 0.006$). В групата с ХБЗ също беше установена значима разлика между половете, като отново при мъжете нивата бяха по-високи (2.58 ng/mL) спрямо жените (2.10 ng/mL, $p = 0.017$).



Фигура 6. Стълбова диаграма илюстрираща средните нива на ucMGP (ng/mL) при жените и мъжете, в зависимост от степента на бъбречната дисфункция в основната кохорта разделена на три групи (таблица 2).

В групата със запазена бъбречна функция беше установена статистически значима разлика между половете ($p = 0.006$). Мъжете имаха значително по-високи средни стойности на $ucMGP$ (3.53 ng/mL) в сравнение с жените (1.87 ng/mL). Това предполага изразен полов диморфизъм на $ucMGP$ при запазена бъбречна функция, вероятно свързан с различия в хормоналния статус или съдовия метаболизъм. В групата с $eGFR$ ($89 - 45 \text{ mL/min}$) разликата между половете също беше статистически значима ($p = 0.024$), макар и с по-малък коефициент на значимост, като нивата на $ucMGP$ при мъжете (2.58 ng/mL) бяха по-високи в сравнение с тези при жените (2.07 ng/mL). При пациентите с напреднало бъбречно увреждане ($eGFR$ $44 - 16 \text{ mL/min}$) стойностите на $ucMGP$ при мъжете (2.58 ng/mL) отново бяха по-високи от тези при жените (2.15 ng/mL) без обаче да достигат статистическа значимост ($p = 0.320$).

Резултатите от проведените корелационни анализи за оценка на връзката между нивата $ucMGP$ и изследваните демографски и клинични показатели са представени на Таблица 9.

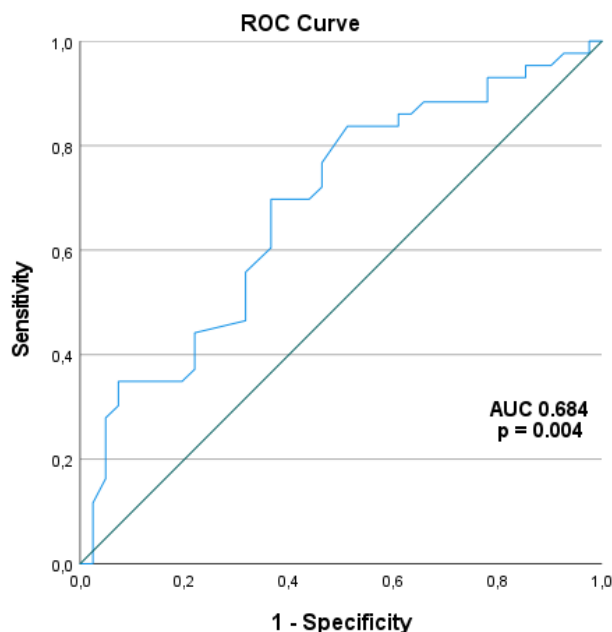
Таблица 9. Корелации между нивата на $ucMGP$, демографските и клинични показатели в групите според $eGFR$.

Групи	Корелации	Spearman's rho	p =
Група I ($eGFR \geq 90 \text{ mL/min}$)	$ucMGP$ / Пол	0.734**	0.002
Група II ($eGFR$ $89 - 15 \text{ mL/min}$)	$ucMGP$ / ССЗ	0.315**	0.008
	$ucMGP$ / Възраст	0.265*	0.028
	$ucMGP$ / Пол	0.290*	0.016

*Корелацията е значима на ниво 0.05, ** Корелацията е значима на ниво 0.01. Съкращения: ССЗ – сърдечно-съдови заболявания, $eGFR$ – изчислена скорост на гломерулна филтрация, $ucMGP$ – некарбосилиран MGP .

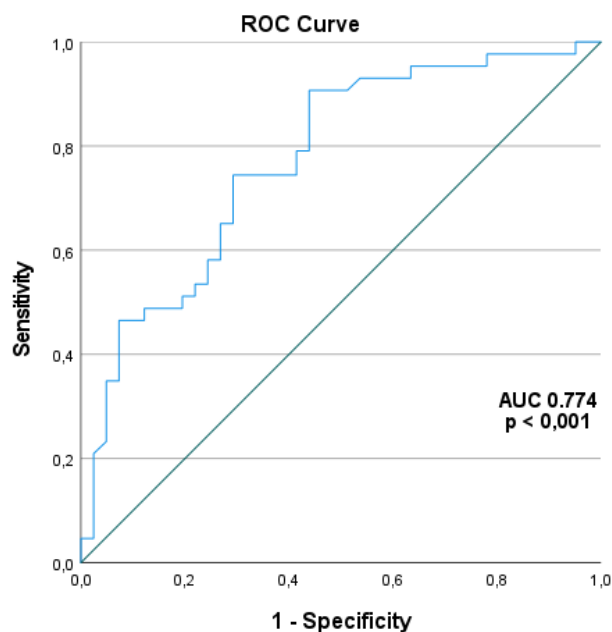
Корелационният анализ установи статистически значими зависимости между серумните нива на $ucMGP$ и изследваните клинични показатели. В група I ($eGFR \geq 90 \text{ mL/min}$) се установи значима положителна корелация между $ucMGP$ и пола ($p = 0.002$). В група II ($eGFR$ $89-15 \text{ mL/min}$) $ucMGP$ показва значими положителни корелации с наличието на ССЗ ($p = 0.008$), възрастта ($p = 0.028$) и пола ($p = 0.016$). Резултатите показват, че при понижена бъбречна функция нивата на $ucMGP$ са свързани с демографски фактори и сърдечно-съдови заболявания, докато при запазена бъбречна функция значима зависимост се наблюдава единствено с пола.

С оглед на установените корелации между $ucMGP$ и ССЗ, диагностичната му стойност като маркер за сърдечно-съдов риск бе тествана допълнително чрез ROC анализи. Беше направена оценка както на $ucMGP$ като самостоятелен маркер, така и на съотношението му спрямо $eGFR$ ($ucMGP/eGFR$) (фигури 7 и 8).



Фигура 7. ROC анализ на usMGP като биомаркер за сърдечно-съдов риск при пациенти с хронично бъбречно заболяване.

ROC анализът на usMGP като биомаркер за сърдечно-съдов риск при пациенти с ХБЗ показва наличие на статистически значима дискриминационна способност. Площта под кривата (AUC) беше 0.684 (95% CI: 0.569 – 0.798; $p = 0.004$), което съответства на умерена точност на показателя. Получените резултати показаха, че usMGP има статистически значима, но умерена предсказваща стойност за сърдечно-съдов риск. Практическата интерпретация на тези данни предположи, че биомаркерът има ограничена самостоятелна диагностична стойност за оценка на риска при ХБЗ.



Фигура 8. ROC анализ на съотношението usMGP/eGFR като биомаркер за сърдечно-съдов риск при пациенти с ХБЗ.

Съотношението ucMGP/eGFR показва по-добра диагностична стойност за сърдечно-съдов риск ($\text{AUC} = 0.774$; $p < 0.001$). Резултатите подчертават превъзходството му спрямо ucMGP като самостоятелен биомаркер.

За идентифициране на независимите фактори за сърдечно-съдов риск в общата кохорта с ХБЗ беше приложен бинарен логистичен регресионен анализ. Резултатите са представени в Таблицы 10 и 11.

Таблица 10. Бинарен логистичен регресионен анализ за оценка на ucMGP като предиктор за риск от ССЗ в общата кохорта пациенти с ХБЗ.

Променливи	Единични предсказващи фактори *			Предсказващи фактори в модела ** (Nagelkerke $R^2 = 0.504$)		
	Коефициент (B)	OR (95% CI)	p =	Коефициент (B)	OR (95% CI)	p =
Възраст (години)	0.000	1.000 (0.967 - 1.034)	0.996	- 0.067	0.935 (0.888 - 0.984)	0.010
Пол	- 0.957	0.384 (0.154 - 0.958)	0.040	- 1.899	0.150 (0.031 - 0.720)	0.018
SCr ($\mu\text{mol/L}$)	0.018	1.018 (1.007 - 1.029)	0.001	- 0.050	0.951 (0.918 - 0.985)	0.005
eGFR, (mL/min/1.73 m^2)	- 0,038	0.963 (0.944 - 0.982)	< 0.001	- 0,109	0.896 (0.841 - 0.955)	0.001
BUN (mmol/L)	0.275	1.317 (1.109 - 1.563)	0.002	0.332	1.393 (1.066 - 1.821)	0.015
ucMGP (ng/mL)	0.699	2.012 (1.201 - 3.371)	0.008	1.071	2.919 (1.344 - 6.342)	0.007

* Метод = Enter, ** Метод = forward stepwise (likelihood ratio). Съкращения: OR – коефициент на вероятност; CI – доверителен интервал; SCr – серумен креатинин; eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; BUN – уреен азот в кръвта; ucMGP – некарбоксилиран матриксен Gla-протеин. $p < 0,05$ – статистическа значимост.

При унивариантния анализ статистически значима асоциация със ССЗ беше установена за пола ($p = 0.040$), SCr ($p = 0.001$), eGFR ($p < 0.001$), BUN ($p = 0.002$) и ucMGP ($p = 0.008$). Възрастта не показва статистически значима връзка със сърдечно-съдовия риск ($p = 0.996$). В мултивариантния модел (Nagelkerke $R^2 = 0.504$) като независими предиктори за наличие на ССЗ останаха възрастта, полът, SCr, eGFR, BUN и ucMGP . Най-висока стойност на odds ratio беше наблюдавана за ucMGP ($\text{OR} = 2.919$; 95% CI: 1.344–6.342; $p = 0.007$). Статистически значими асоциации бяха установени също за възрастта ($p = 0.010$), пола ($p = 0.018$), SCr ($p = 0.005$), eGFR ($p = 0.001$) и BUN ($p = 0.015$).

Таблица 11. Бинарен логистичен регресионен анализ за оценка на съотношението ucMGP/eGFR като предиктор за риск от ССЗ в общата кохорта пациенти с ХБЗ.

Променливи	Единични предсказващи фактори *			Предсказващи фактори в модела ** (Nagelkerke R ² = 0.464)		
	Коефициент (В)	OR (95% CI)	p =	Коефициент (В)	OR (95% CI)	p =
Възраст (години)	0.000	1.000 (0.967 - 1.034)	0.996	- 0.063	0.939 (0.894 - 0.987)	0.012
Пол	- 0.957	0.384 (0.154 - 0.958)	0.040	- 2.289	0.101 (0.022 - 0.469)	0.003
SCr (μmol/L)	0.018	1.018 (1.007 - 1.029)	0.001	- 0.057	0.945 (0.910 - 0.980)	0.002
GFR, (mL/min/1.73 m ²)	- 0,038	0.963 (0.944 - 0.982)	< 0.001	- 0.090	0.914 (0.862 - 0.969)	0.002
BUN (mmol/L)	0.275	1.317 (1.109 - 1.563)	0.002	0.324	1.383 (1.064 - 1.797)	0.015
ucMGP/eGFR	0.357	1.429 (1.159 - 1.762)	0.001	0.319	1.375 (1.007 - 1.877)	0.045

* Метод = Enter, ** Метод = forward stepwise (likelihood ratio). Съкращения: OR – коефициент на вероятност; CI – доверителен интервал; SCr – серумен креатинин; eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; BUN – уреен азот в кръвта; ucMGP/eGFR – съотношение некарбоксилиран матриксен Gla-протеин/ изчислена скорост на гломерулна филтрация. p < 0,05 – статистическа значимост.

При унивариантния анализ статистически значима асоциация със ССЗ беше установена за пола (p = 0.040), SCr (p = 0.001), eGFR (p < 0.001), BUN (p = 0.002) и съотношението ucMGP/eGFR (p = 0.001). Възрастта не показва статистически значима връзка със сърдечно-съдовия риск (p = 0.996). В мултивариантния модел (Nagelkerke R² = 0.464) като независими предиктори за наличие на ССЗ останаха възрастта, полът, SCr, eGFR, BUN и съотношението ucMGP/eGFR. Статистически значими асоциации бяха установени за възрастта (p = 0.012), пола (p = 0.003), SCr (p = 0.002), eGFR (p = 0.002), BUN (p = 0.015) и съотношението ucMGP/eGFR (OR = 1.375; 95% CI: 1.007–1.877; p = 0.045).

4. NGAL като маркер за тубулна увреда, хронично възпаление и прогресия на ХБЗ

За оценка на връзката между нивата на NGAL, показателите на минералния метаболизъм, хроничното възпаление и прогресията на ХБЗ бяха анализирани данни от 71 пациенти с ХБЗ в стадии G1 – G4 съгласно класификацията на KDIGO. При всички пациенти бяха определени следните биохимични и имунологични показатели: Ca, Pi, SCr, BUN, UA, hsCRP, IL-6, WBC, PTH, ALP, NGAL.

Разпределението на пациентите с ХБЗ по групи и диагнози беше както следва:

- Група I (eGFR ≥ 90 mL/min; n = 16) включваща: диабетна нефропатия (n = 11), хипертонична нефропатия (n = 3), хроничен пиелонефрит (n = 2).
- Група II (eGFR 89 – 45 mL/min; n = 33) включваща: хипертонична нефропатия (n = 12), диабетна нефропатия (n = 9), хроничен пиелонефрит (n = 5), хроничен гломерулонефрит (n = 3), хроничен интерстициален нефрит (n = 2), АДБПБ (n = 1), бъбречна амилоидоза (n = 1).
- Група III (eGFR 44 – 15 mL/min; n = 22) включваща: хипертонична нефропатия (n = 6), диабетна нефропатия (n = 7), хроничен пиелонефрит (n = 3), хроничен гломерулонефрит (n = 2), хроничен интерстициален нефрит (n = 2), АДБПБ (n = 1), рентгенконтрастна нефропатия (n = 1).

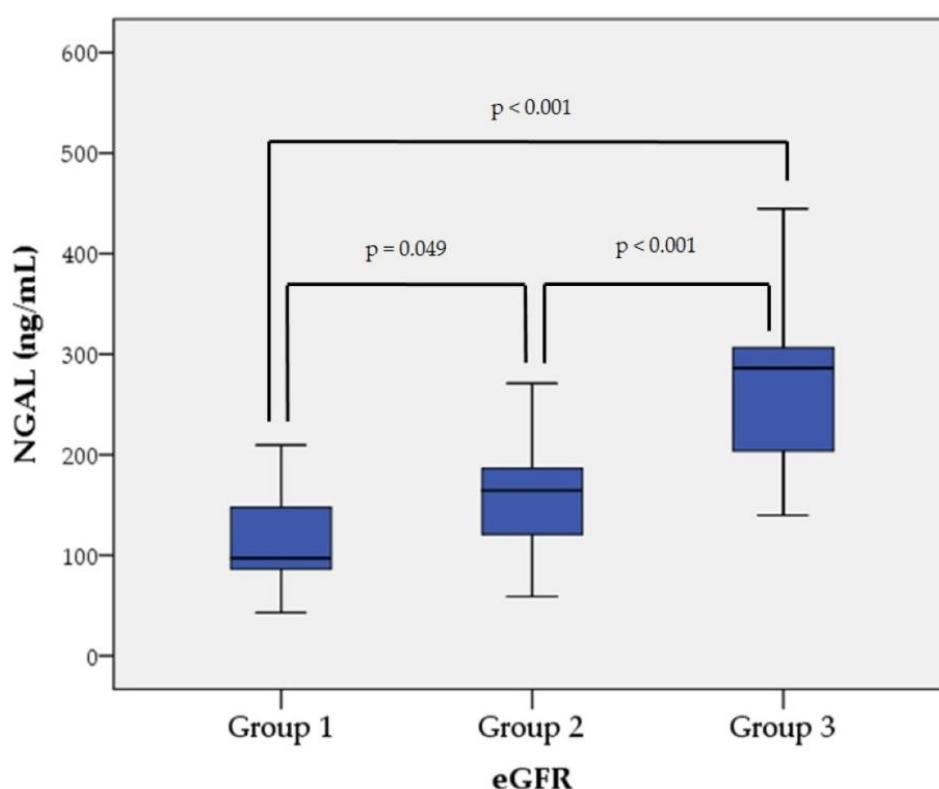
Демографските, клиничните, лабораторните и имунологични показатели на пациентите в трите изследвани групи са представени на Таблица 12.

Таблица 12. Характеристики на пациентите в изследваните групи.

Параметър	Група I (eGFR ≥ 90) (n = 16)	Група II (eGFR 89-45) (n = 33)	Група III (eGFR 44-15) (n = 22)	p =
Мъже/Жени (брой)	5/11	23/10	11/11	
Възраст (години) ¹	48.81 $\pm$ 16.97	67.03 $\pm$ 9.69	68.09 $\pm$ 11.48	< 0.001
eGFR (mL/min) ¹	102.31 $\pm$ 11.75	60.94 $\pm$ 11.61	25.82 $\pm$ 9.71	< 0.001
SCr (μ mol/L) ²	61.00 (59.25 - 78.75)	105.00 (91.50 - 131.50)	244.00 (164.50 - 281.25)	< 0.001
UA (μ mol/L) ¹	275.00 $\pm$ 80.73	340.15 $\pm$ 71.44	351.86 $\pm$ 78.62	0.010
Ca (mmol/L) ¹	2.42 $\pm$ 0.11	2.39 $\pm$ 0.09	2.32 $\pm$ 0.15	0.029
Pi (mmol/L) ¹	1.11 $\pm$ 0.15	1.15 $\pm$ 0.20	1.28 $\pm$ 0.27	0.041
PTH (pg/mL) ²	21.77 (17.89 - 34.92)	29.10 (20.38 - 41.92)	61.73 (32.80 - 130.80)	< 0.001
ALP (U/L) ¹	74.38 $\pm$ 25.51	73.58 $\pm$ 19.79	94.32 $\pm$ 33.06	0.011
hs-CRP (mg/L) ²	1.69 (1.13 - 2.96)	2.97 (2.31 - 5.60)	3.72 (2.47 - 10.55)	0.009
IL-6 (pg/mL) ²	1.50 (1.50 - 1.50)	1.50 (1.50 - 3.21)	3.08 (1.50 - 9.46)	0.007
WBC (G/L) ²	7.40 (5.70 - 10.40)	7.85 (6.73 - 8.67)	8.40 (7.10 - 10.15)	0.340
NGAL (ng/mL) ¹	113.40 $\pm$ 46.47	155.35 $\pm$ 50.18	267.80 $\pm$ 72.50	< 0.001

¹ Средна стойност $\pm$ SD; ² Медиана и IQR. Съкращения: eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; SCr – серумен креатинин; UA – пикочна киселина; Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; PTH – паратироиден хормон; ALP – алкална фосфатаза; hs-CRP – високочувствителен C-реактивен протеин; IL-6 – интерлевкин-6; WBC – левкоцити; NGAL – неутрофил желатиназа асоцииран липокалин; p < 0,05 – статистическа значимост.

Установени бяха статистически значими различия между групите по отношение на показатели, отразяващи прогресията на ХБЗ. С напредване на заболяването eGFR значимо намалява ($p < 0.001$), докато SCr и UA се повишават ($p < 0.001$ и $p = 0.010$). Наблюдава се понижение на Ca ($p = 0.029$) и увеличение на Pi ($p = 0.041$), PTH ($p < 0.001$) и ALP ($p = 0.011$), като най-високи стойности на PTH са отчетени при пациентите с напреднал стадий на ХБЗ. Възпалителните маркери hs-CRP и IL-6 показаха значимо повишение (съответно $p = 0.009$ и $p = 0.007$), като IL-6 се увеличи най-изразено в третата група. Броят на левкоцитите показва тенденция към повишение без статистическа значимост ($p = 0.340$). Нивата на NGAL се повишиха значително с напредването на бъбречната дисфункция ($p < 0.001$), като най-високи стойности бяха установени в група III (Фигура 18).



Фигура 9. Сравнителен анализ на серумните нива на NGAL в трите изследвани групи в зависимост от eGFR.

Концентрациите на NGAL показаха прогресивно повишение с намаляването на eGFR, като най-ниски стойности бяха установени в контролната група, а най-високи – при пациентите с напреднала ХБЗ. Статистически значими различия се установиха между група I и II ($p = 0.049$), група II и III ($p < 0.001$) и група I и III ($p < 0.001$). Наблюдаваното постепенно увеличение на NGAL съответства на прогресията на бъбречната дисфункция и показва връзката между повишените нива на маркера и степента на бъбречното увреждане. Разпределението на стойностите демонстрира по-голяма вариабилност при пациентите с напреднала ХБЗ, което вероятно отразява хетерогенност в тежестта на тубулното увреждане.

Резултатите от проведените корелационни анализи за оценка на връзката между серумния NGAL и изследваните клинично-лабораторни показатели са представени в Таблица 13.

Таблица 13. Корелационни зависимости на NGAL с ключови клинични и биохимични параметри в общата кохорта.

Корелации	Spearman's rho	p =
NGAL and Age	0.284 *	0.016
NGAL and eGFR	– 0.730 **	< 0.001
NGAL and SCr	0.736 **	< 0.001
NGAL and UA	0.260 *	0.029
NGAL and Ca	– 0.334 **	0.004
NGAL and Pi	0.265 *	0.025
NGAL and PTH	0.494 **	< 0.001
NGAL and ALP	0.370 **	0.001
NGAL and hs-CRP	0.334 **	0.004
NGAL and IL-6	0.509 **	< 0.001
NGAL and WBC	0.362 **	0.005

* Корелацията е значима на ниво 0,05, ** Корелацията е значима на ниво 0,01. Съкращения: NGAL – неутрофил желатиназа асоцииран липокалин; eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; SCr – серумен креатинин; UA – пикочна киселина; Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; PTH – паратироиден хормон; ALP – алкална фосфатаза; hs-CRP – високочувствителен С-реактивен протеин; IL-6 – интерлевкин-6; WBC – левкоцити.

Корелационният анализ установи статистически значими връзки между серумните нива на NGAL и редица клинични и биохимични показатели. Установена беше силна отрицателна корелация между NGAL и eGFR ($\rho = -0.730$, $p < 0.001$), както и умерена отрицателна корелация с нивата на Ca ($\rho = -0.334$, $p = 0.004$). Наблюдавана беше силна положителна корелация между NGAL и SCr ($\rho = 0.736$, $p < 0.001$). Положителни корелации бяха установени също между NGAL и възрастта ($\rho = 0.284$, $p = 0.016$), UA ($\rho = 0.260$, $p = 0.029$), Pi ($\rho = 0.265$, $p = 0.025$), PTH ($\rho = 0.494$, $p < 0.001$) и ALP ($\rho = 0.370$, $p = 0.001$). По отношение на възпалителните показатели, NGAL корелираше положително с hs-CRP ($\rho = 0.334$, $p = 0.004$), IL-6 ($\rho = 0.509$, $p < 0.001$) и броя на левкоцитите ($\rho = 0.362$, $p = 0.005$).

5. NGAL като биомаркер за ранна бъбречна увреда

За оценка на NGAL като маркер за ранна бъбречна увреда бяха изследвани общо 28 лица, включващи 12 здрави контроли и 16 пациенти в стадий G1 на ХБЗ, с нормални стойности на eGFR и запазена бъбречна функция. Бъбречното увреждане беше установено въз основа наличието на албуминурия ($n = 14$) или протеинурия ($n = 2$). Диагнозите включваха диабетна нефропатия ($n = 11$), хипертонична нефропатия ($n = 3$) и хроничен пиелонефрит ($n = 2$).

Сравнителният анализ на клиничните и лабораторни показатели между здравите контроли и пациентите в стадий G1 на ХБЗ е представен в Таблица 14.

Таблица 14. Клинични и лабораторни характеристики на лицата в двете изследвани групи.

Показатели	Контроли ($n = 12$)	Група G1 ($eGFR \geq 90 \text{ ml/min}$) ($n = 16$)	p =
Мъже/Жени (n/n)	4/8	5/11	
Възраст (години) ¹	51.17 $\pm$ 10.49	48.81 $\pm$ 16.97	0.676
eGFR (mL/min) ²	103 (93 - 117)	98 (92 - 116)	0.607
SCr ($\mu\text{mol/L}$) ¹	77.50 $\pm$ 10.42	68.75 $\pm$ 13.91	0.080
UA ($\mu\text{mol/L}$) ¹	315.00 $\pm$ 82.00	275.00 $\pm$ 80.73	0.209
Ca (mmol/L) ¹	2.50 $\pm$ 0.09	2.42 $\pm$ 0.11	0.044
Pi (mmol/L) ¹	1.18 (1.16 - 1.26)	1.15 (0.97 - 1.22)	0.056
PTH (pg/mL) ¹	26.82 $\pm$ 6.09	26.32 $\pm$ 14.33	0.911
ALP (U/L) ¹	60.50 $\pm$ 21.17	74.38 $\pm$ 25.51	0.138
hs-CRP (mg/L) ²	1.67 (1.23 - 2.45)	1.69 (1.13 - 2.96)	0.576
IL-6 (pg/mL) ²	1.50 (1.50 - 1.50)	1.50 (1.50 - 1.50)	0.212
NGAL (ng/mL) ¹	76.29 $\pm$ 20.12	113.41 $\pm$ 46.46	0.016

¹ Средна стойност $\pm$ SD; ² Медиана и IQR. Съкращения: eGFR – изчислена скорост на гломерулната филтрация; SCr – серумен креатинин; UA – пикочна киселина; Ca – серумен калций; Pi – неорганичен фосфат; PTH – паратироиден хормон; ALP – алкална фосфатаза; hs-CRP – високочувствителен C-реактивен протеин; IL-6 – интерлевкин-6; NGAL – неутрофил желатиназа асоцииран липокалин; $p < 0,05$ – статистическа значимост.

Контролната група и група G1 бяха сравними по възраст, полово разпределение, както и по повечето изследвани клинични и лабораторни показатели, включително показателите за бъбречна функция, минерален метаболизъм и възпалителните маркери. Не се установиха статистически значими разлики по отношение на eGFR, SCr, UA, Ca,

Pi, PTH, ALP, hs-CRP и IL-6. В група G1 бяха установени статистически значимо по-високи серумни концентрации на NGAL, ($p = 0.016$).

За оценка на прогностичната стойност на NGAL като ранен маркер за бъбречна дисфункция беше извършен унивариантен бинарен логистичен регресионен анализ (Таблица 15).

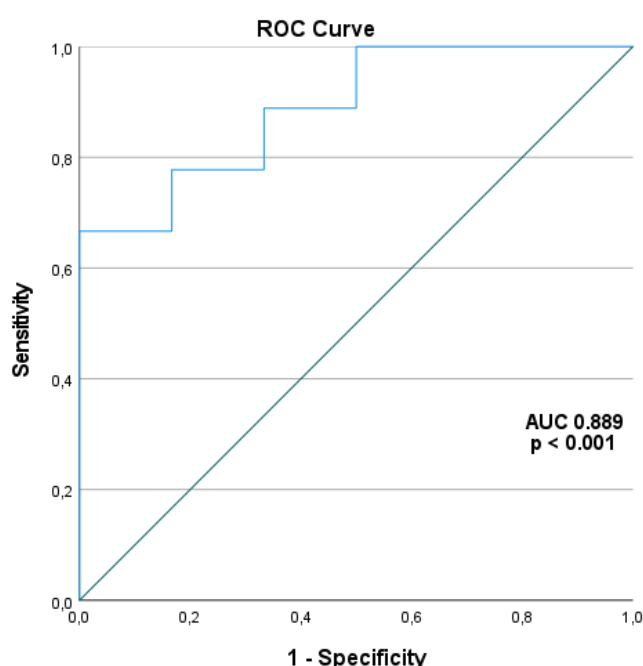
Таблица 15. Унивариантен бинарен логистичен регресионен анализ.

Променливи	Единични предсказващи фактори		
	Коефициент (B)	OR (95% CI)	p =
NGAL (ng/mL)	0.119	1.126 (1.002 - 1.265)	0.045

Съкращения: OR – коефициент на вероятност; CI – доверителен интервал; NGAL – неутрофил желатиназа асоцииран липокалин. $p < 0.05$ – статистическа значимост.

Унивариантния анализ показва значителна асоциация на биомаркера със стадий G1 (OR = 1,126, $p = 0,045$). OR = 1,126 показва, че при увеличение на NGAL с една единица, шансът за настъпване на събитието се увеличава с около 12.6%.

За оценка на диагностичната способност на NGAL като маркер за ранно бъбречно увреждане в G1 стадий на ХБЗ беше използван ROC анализ (Фигура 22).



Фигура 22. ROC анализ на NGAL като ултраниран биомаркер за тубулна увреда при пациенти с ХБЗ.

ROC анализа също демонстрира отлична дискриминационна способност на NGAL за разграничаване на стадий G1 спрямо контролната група (AUC = 0.889, $p < 0.001$).

ОБСЪЖДАНЕ

Сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) са водещата причина за заболяемост и смъртност при пациентите с ХБЗ, като в напредналите стадии са причина за приблизително половината от смъртните случаи. Рискът от исхемична болест на сърцето, сърдечна недостатъчност, аритмии и внезапна сърдечна смърт е значително по-висок при тези пациенти и нараства прогресивно с влошаването на бъбречната функция. Наред с традиционните сърдечно-съдови рискови фактори, съществен принос имат и специфичните за ХБЗ нарушения в минерално-костния метаболизъм, които стоят в основата на синдрома ХБЗ–МКБ и играят ключова роля за развитието на съдова калцификация.

Съдовата калцификация представлява един от основните патогенетични механизми, свързващи хроничното бъбречно увреждане с повишения сърдечно-съдов риск. При пациентите с ХБЗ тя се проявява под формата на медиална и интимална калцификация. Медиалната форма е доминираща при пациенти с напреднало бъбречно увреждане и може да се развива независимо от класическите атеросклеротични рискови фактори, като е тясно свързана с нарушенията в калциево-фосфорния баланс. Този процес води до повишена артериална ригидност, намален съдов комплайънс и увеличено следнатоварване на сърцето. Интималната калцификация е свързана с атеросклеротични и възпалителни процеси и повишава риска от остри сърдечно-съдови събития. Данните от последните години показват съществуването на обратна връзка между степента на съдовата калцификация и костната минерална плътност, което едновременно увеличава риска от фрактури и сърдечно-съдовия риск при пациентите с ХБЗ.

Анализът на резултатите, представени в Таблица 2, демонстрира закономерното прогресиране на бъбречната дисфункция с напредване на стадия на ХБЗ. Това се характеризира със статистически значимо повишаване на SCr и BUN, както и с прогресивно намаляване на скоростта на гломерулна филтрация ($p < 0.001$). Установи се и статистически значимо увеличение на средната възраст между отделните групи ($p = 0.012$). По отношение на минералния метаболизъм серумната концентрация на Ca беше относително стабилна между групите, докато нивата на Pi показаха тенденция към повишаване. Установихме статистически значимо увеличение както на $\text{Ca} \times \text{P}$ ($p = 0.018$), така и на ALP ($p = 0.020$), което отразява прогресиращото нарушение на минералния метаболизъм при напредване на ХБЗ и съответства на известните механизми за развитие на съдова калцификация. Не се установиха статистически значими различия в серумните концентрации на PTH и ucMGP. Особено внимание заслужава липсата на значими различия в нивата на ucMGP между групите ($p = 0.948$), което предполага, че

този маркер не отразява директно стадия на бъбречно увреждане и по-вероятно е свързан със съдови локални процеси, отколкото с бъбречната функция.

По отношение на сърдечно-съдовия статус беше наблюдавана ясна прогресивна тенденция към увеличаване честотата на сърдечно-съдовите заболявания с напредване стадия на ХБЗ, като тя нарастваше от 20% при контролната група до 45% при пациентите с ХБЗ G2 + G3a и достигна 78% при пациентите с ХБЗ G3b + G4. Тези данни потвърждават тясната взаимовръзка между бъбречната и сърдечно-съдовата патология.

Резултатите показват класически модел на прогресия на ХБЗ със значимо влошаване на бъбречната функция и ранни, частично компенсирани промени в минералния метаболизъм, паралелно с нарастване на сърдечно-съдовия риск.

Нарушенията в минералния метаболизъм при ХБЗ представляват не само биохимични маркери на заболяването, но и самостоятелни патогенетични фактори за развитието на сърдечно-съдови усложнения. Те допринасят за развитието на съдова калцификация, ендотелна дисфункция, повишена артериална ригидност и миокардно ремоделиране и по този начин заемат централно място в развитието на кардио-реналния синдром (КРС) тип 4. При този синдром хроничната бъбречна дисфункция предизвиква структурни и функционални промени в сърдечно-съдовата система.

Развитието на КРС тип 4 най-често се свързва със следните четири патофизиологични механизма: (1) нарушения в калциево-фосфорния метаболизъм, водещи до медиална съдова калцификация и калцификация на сърдечните клапи; (2) хронични провъзпалителни и профибротични процеси, които допринасят за развитието на атеросклероза, коронарна артериална болест, миокардна фиброза, сърдечна недостатъчност и аритмии; (3) усложнения на бъбречната хипертония, засягащи сърдечно-съдовата система, включително миокарден инфаркт, инсулт и сърдечна недостатъчност; и (4) други съпътстващи нарушения, като анемия, обемно претоварване и електролитен дисбаланс, водещи до повишено сърдечно натоварване и повишен риск от аритмии.

Поради сложния характер на тези процеси идентифицирането на подходящи биомаркери остава сериозно предизвикателство. Използваните към момента маркери отразяват отделни аспекти на патофизиологията на КРС тип 4, включително неврохормонална активация, хронично възпаление, оксидативен стрес, ендотелна дисфункция и миокардна фиброза. Сред най-изследваните са BNP, NT-proBNP, сърдечните тропонини, галектин-3, уротензин II, цистатин С, микроалбуминурията, пикочната киселина, хомоцистеинът и алдостеронът. Въпреки доказаната им диагностична и прогностична стойност, нито един от тези показатели не интегрира едновременно информация за бъбречната функция и нарушенията в минералния метаболизъм, които са определящи за развитието на ХБЗ–МКБ.

При оценката на сърдечно-съдовия риск при пациентите с ХБЗ традиционно се използват показатели като SCr, eGFR, протеинурия, липиден профил, С-реактивен протеин (CRP), хомоцистеин и други маркери на бъбречната функция, метаболитните

нарушения и системното възпаление. Всеки от тях предоставя ценна информация за отделни аспекти на заболяването, но нито един не отразява едновременно нарушенията в минералния метаболизъм и прогресиращото намаляване на бъбречната функция, двата основни механизма, определящи развитието на съдовата калцификация при ХБЗ. През последните години значително внимание се отделя на биомаркери като FGF-23 и Klotho, които участват съвместно в регулацията на фосфатния баланс и развитието на съдова калцификация. Въпреки тяхната доказана патофизиологична значимост, приложението им в рутинната клинична практика остава ограничено поради високата цена, липсата на стандартизирани методи и ограничената им достъпност. Това обуславя необходимостта от търсене на по-достъпни и лесно приложими показатели, които да предоставят интегрирана информация за риска от сърдечно-съдови усложнения.

В този контекст предложеното от нас съотношение $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ представлява нов интегративен показател, който обединява информация за нарушенията в калциево-фосфорния метаболизъм и степента на бъбречната дисфункция. Концепцията на този индекс се основава на добре установените патофизиологични механизми при ХБЗ. Повишеният $\text{Ca} \times \text{P}$ продукт отразява условията, благоприятстващи развитието на съдова и клапна калцификация, докато намаляването на eGFR е доказан независим предиктор за неблагоприятни сърдечно-съдови събития. Комбинирането на двата показателя позволява по-комплексна оценка на сърдечно-съдовия риск в сравнение с използването на всеки от тях поотделно.

Резултатите от настоящото проучване потвърждават тази хипотеза. При сравнение на пациентите със и без ССЗ установихме статистически значими различия единствено в показателите, характеризиращи бъбречната функция: eGFR ($p < 0.001$), SCr ($p < 0.001$) и BUN ($p < 0.001$). За разлика от тях не се наблюдаваха значими различия в концентрациите на Ca, Pi, $\text{Ca} \times \text{P}$, UA, PTH и ALP (Таблица 3). Тези резултати подчертават водещата роля на прогресиращото бъбречно увреждане при развитието на сърдечно-съдовите усложнения. Мултивариантният логистичен регресионен анализ потвърди, че намалената бъбречна функция, оценена чрез eGFR, е основният независим предиктор за наличие на сърдечно-съдово заболяване при пациентите с ХБЗ ($p < 0.001$; OR = 0.963) (Таблица 4). Въпреки това анализът показва, че съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ също носи значима прогностична информация. То е статистически значимо по-високо при пациентите със ССЗ ($p = 0.007$) (Фигура 1). Средната стойност на индекса е $0.05 \pm 0.04 \text{ (mmol/L)}^2 / (\text{ml/min}/1.73 \text{ m}^2)$ при пациентите без ССЗ и $0.07 \pm 0.04 \text{ (mmol/L)}^2 / (\text{ml/min}/1.73 \text{ m}^2)$ при пациентите със ССЗ. Унивариантният логистичен регресионен анализ идентифицира съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ като статистически значим предиктор за наличие на сърдечно-съдово заболяване ($p = 0.012$; OR = 1.206), което подкрепя потенциала му като нов интегративен биомаркер за оценка на сърдечно-съдовия риск (Таблица 4). Макар че eGFR остава най-силният независим предиктор, добавянето на информация за минералния метаболизъм чрез $\text{Ca} \times \text{P}$ позволява по-пълна характеристика на патофизиологичните процеси, свързани с развитието на съдовата

калцификация. Допълнително доказателство за диагностичната стойност на индекса предоставя ROC анализът. Получената площ под ROC кривата ($AUC = 0.751$; $p < 0.001$) показва добра дискриминационна способност за разграничаване на пациентите със и без ССЗ. При оптималната гранична стойност $0.048 \text{ (mmol/L)/(мл/мин/1.73 m}^2\text{)}$, чувствителността достига 74.4%, а специфичността 70.7% (Фигура 2). Тези показатели показват, че съотношението $Ca \times P/eGFR$ има потенциал да подпомогне ранната стратификация на сърдечно-съдовия риск при пациентите с преддиализни стадии на ХБЗ.

Корелационният анализ потвърди, че индексът $Ca \times P/eGFR$ е тясно свързан както с бъбречната функция, така и с нарушенията в минерално-костния метаболизъм (Таблица 5). Най-силни зависимости установихме със SCr ($r = 0.841$; $p < 0.001$), $eGFR$ ($r = -0.796$; $p < 0.001$) и BUN ($r = 0.723$; $p < 0.001$). Тези резултати показват, че с прогресиране на бъбречната дисфункция стойностите на индекса нарастват закономерно, като голяма част от неговата вариабилност се определя именно от степента на бъбречното увреждане.

Освен с показателите за бъбречната функция, индексът демонстрира статистически значими положителни корелации с основните параметри на минерално-костния метаболизъм: Ca ($r = 0.491$; $p < 0.001$), Pi ($r = 0.458$; $p < 0.001$), ALP ($r = 0.399$; $p < 0.001$) и PTH ($r = 0.366$; $p = 0.016$). Тези зависимости съответстват на известните патофизиологични промени при синдрома ХБЗ–МКБ и показват, че индексът отразява не само степента на бъбречната дисфункция, но и нарушенията в калциево-фосфорната хомеостаза. Единствено пикочната киселина показва слаба, макар и статистически значима, корелация ($r = 0.264$; $p = 0.043$), което предполага ограничен принос към вариабилността на индекса.

Получените резултати показват, че съотношението $Ca \times P/eGFR$ представлява интегрален показател, който обединява информация за два ключови патофизиологични процеса при ХБЗ, прогресиращото намаляване на бъбречната функция и нарушенията в минералния метаболизъм. Именно това вероятно обяснява по-добрата му способност да характеризира сърдечно-съдовия риск в сравнение с отделното използване на традиционните лабораторни показатели.

Въз основа на получените резултати за съотношението $Ca \times P/eGFR$, разработихме скала за измерване на сърдечно-съдовия риск при пациенти в преддиализни стадии на ХБЗ. Тази скала включва шест рискови категории, вариращи от „много нисък риск“ до „изключително висок риск“ (Таблица 16).

Таблица 16: Скала за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациенти с ХБН преди диализа въз основа на съотношението Ca×P/eGFR.

Класификация на риска	Съотношение Ca×P/eGFR *	Съотношение Ca×P/eGFR (%) *	Описание на риска
Много нисък риск	< 0.03	< 3	Много ниска вероятност от сърдечно-съдови усложнения
Нисък риск	0.03 – 0.05	3 – 5	Ниска вероятност от сърдечно-съдови усложнения
Умерен риск	0.05 – 0.10	5 – 10	Умерена вероятност от сърдечно-съдови усложнения
Висок риск	0.10 – 0.15	10 – 15	Повишена вероятност от сърдечно-съдови усложнения
Много висок риск	0.15 – 0.20	15 – 20	Значителна вероятност за сериозни сърдечно-съдови събития
Изключително висок риск	> 0.20	> 20	Критична вероятност за тежки сърдечно-съдови събития

* Съотношението Ca×P/eGFR и съотношението Ca×P/eGFR (процент) са представени в (mmol/L)²/(мл/мин/1.73 м²) и (mmol/L)² × 100/(мл/мин/1.73 м²), съответно.

Предложената скала следва да се разглежда като предварителен модел за стратификация на риска, разработен въз основа на резултатите от настоящото проучване. Въпреки че демонстрира потенциална клинична приложимост, нейната диагностична и прогностична стойност трябва да бъде потвърдена чрез проспективни изследвания в независими и по-големи пациентски кохорти. Необходимо е също така да бъдат оценени нейната калибрация, възпроизводимост и добавена прогностична стойност спрямо утвърдените модели за оценка на сърдечно-съдовия риск. При бъдещо валидиране скалата би могла да намери приложение като лесен и достъпен инструмент за ранна стратификация на сърдечно-съдовия риск при пациенти с преддиализни стадии на ХБЗ. Използването ѝ може да подпомогне идентифицирането на високорисковите пациенти, индивидуализирането на терапевтичния подход, оптимизирането на проследяването и своевременното предприемане на превантивни мерки. Освен това динамичното проследяване на съотношението Ca×P/eGFR би могло да предостави информация за прогресията на заболяването и ефекта от провежданото лечение.

Доколкото ни е известно, настоящото изследване е първото, което предлага използването на съотношението Ca×P/eGFR като интегративен биомаркер за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациенти с преддиализни стадии на ХБЗ. Основното предимство на този показател е, че използва широко достъпни лабораторни параметри, които се изследват рутинно в клиничната практика, без да са необходими допълнителни специализирани изследвания. Това създава предпоставки за лесното му внедряване в ежедневната клинична работа при потвърждаване на неговата прогностична стойност.

Наред с това, резултатите от настоящото проучване следва да бъдат интерпретирани с оглед на някои ограничения. На първо място, сравнително малкият размер на изследваната популация ограничава статистическата значимост и възможността за обобщаване на резултатите. Освен това напречният дизайн на проучването не позволява установяване на причинно-следствени зависимости и оценка на прогностичната стойност на индекса по отношение на бъдещи сърдечно-съдови събития. Следва да се отчете и фактът, че мултивариантният анализ идентифицира eGFR като основен независим предиктор за наличие на ССЗ. Поради това са необходими допълнителни проспективни проучвания, които да определят независимия принос на съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ и неговата добавена стойност към съществуващите модели за прогнозиране на риска. Въпреки тези ограничения получените резултати показват, че съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ представлява обещаващ интегративен показател за оценка на сърдечно-съдовия риск при пациенти с преддиализни стадии на ХБЗ. Чрез комбиниране на информация за бъбречната функция и нарушенията в минерално-костния метаболизъм индексът отразява два взаимосвързани патофизиологични механизма, определящи развитието на кардио-реналните усложнения. Получените данни показват добра диагностична способност и подкрепят потенциала му като допълващ инструмент за ранна стратификация на риска.

Настоящото проучване поставя основите за бъдещи проспективни изследвания, насочени към валидиране на съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ в по-големи и независими популации, както и към определяне на неговото място в алгоритмите за оценка и проследяване на сърдечно-съдовия риск при пациентите с ХБЗ.

Освен оценка на сърдечно-съдовия риск чрез интегративния индекс $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$, изследвахме и молекулни биомаркери, отразяващи процесите на съдовата калцификация и минералния дисбаланс при пациенти с ХБЗ. В рамките на същото проучване бяха анализирани серумните нива на ucMGP чрез клинични, лабораторни, корелационни, ROC и регресионни анализи. Целта беше да се оцени връзката на протеина с бъбречната функция и ССЗ, както и потенциалният му принос към комплексната оценка на риска при КРС тип 4.

Сърдечно-съдовите усложнения при ХБЗ се развиват рано и са водеща причина за повишената заболяемост и смъртност. Важна роля за тяхното развитие имат нарушенията в калциево-фосфорния метаболизъм, вторичният хиперпаратиреоидизъм и активирането на механизми потенциращи съдовата калцификация. MGP е един от основните ендогенни инхибитори на съдовата калцификация, като неговата биологична активност зависи от витамин К-зависимата карбоксилация. Некарбоксилираният MGP (ucMGP) представлява функционално неактивната форма на протеина, като повишаването на серумните му нива се приемат за индиректен маркер на нарушена карбоксилация и повишен риск от съдова калцификация.

Нашите резултати не установиха статистически значими различия в серумните нива на ucMGP между пациентите със запазена и намалена бъбречна функция (Таблицы

2 и 6), което показва, че той не би трябвало да се разглежда като маркер за степента на бъбречно увреждане.

Анализът на резултатите от Таблица 7 показва съществена връзка между серумните нива на $ucMGP$ и наличието на ССЗ както при пациентите със запазена бъбречна функция, така и при тези с ХБЗ. В контролната група пациентите със ССЗ имаха статистически по-високи стойности на Pi ($p = 0.043$) и SCr ($p = 0.001$) и тенденция към повишени нива на $ucMGP$ ($p = 0.060$), което предполага участие на този биомаркер още в най-ранните етапи на съдовото увреждане. При пациентите с ХБЗ (Група II), ССЗ се асоциираха с по-високи стойности на BUN ($p = 0.003$), SCr ($p = 0.043$), по-ниска $eGFR$ ($p = 0.002$) и статистически значимо повишени концентрации на $ucMGP$ ($p = 0.009$).

Корелационният анализ (Таблица 9) установи различни модели според наличието на бъбречно увреждане. При участниците със запазена бъбречна функция $ucMGP$ корелира единствено с пола ($\rho = 0.734$; $p = 0.002$), докато при пациентите с ХБЗ беше установена положителна връзка с наличието на ССЗ ($\rho = 0.315$; $p = 0.008$), възрастта ($\rho = 0.265$; $p = 0.028$) и пола ($\rho = 0.290$; $p = 0.016$).

Като цяло резултатите показват, че при запазена бъбречна функция $ucMGP$ е по-силно повлиян от пола, докато с напредването на ХБЗ се появяват допълнителни зависимости, включително с възрастта и наличието на ССЗ. Тези наблюдения предполагат, че бъбречната дисфункция променя клиничния контекст на $ucMGP$ и може да засилва връзката му със сърдечно-съдовия риск.

Получените резултати са в съответствие с литературните данни, според които повишените нива на $ucMGP$ се асоциират с мъжкия пол, напредналата възраст, повишен ИТМ, понижената $eGFR$, артериалната ригидност, ендотелната дисфункция, артериална хипертония, ИБС и неблагоприятното сърдечно ремоделиране.

В подкрепа на тези наблюдения ROC анализът (Фигури 7 и 8) показва умерена дискриминативна способност на $ucMGP$ за разграничаване на пациентите със и без ССЗ ($AUC = 0.684$; $p = 0.004$). Бинарната логистична регресия (Таблицы 10 и 11) потвърди, че както $ucMGP$, така и съотношението $ucMGP/eGFR$ са значими предиктори за наличие на ССЗ. След корекция за възраст, пол и бъбречна функция и двата показателя запазиха статистическата си значимост, което подкрепя независимата им асоциация със сърдечно-съдовия риск. Поради напречния дизайн на проучването обаче тези резултати следва да се интерпретират като доказателство за асоциация, а не за причинно-следствена връзка.

Особен интерес представлява комбинираният показател $ucMGP/eGFR$. ROC анализът (Фигури 7 и 8) демонстрира по-висока диагностична точност и чувствителност на интегрирания индекс ($AUC = 0.774$; $p < 0.001$) в сравнение със самостоятелния $ucMGP$, което показва, че комбинирането на маркер за съдова калцификация с показател за бъбречна функция позволява по-прецизна стратификация на сърдечно-съдовия риск.

Интересен аспект от настоящото изследване са установените изразени полови различия в серумните нива на $ucMGP$, като мъжете показаха значително по-високи

стойности във всички изследвани групи (Таблица 8, Фигури 5 и 6). Тези различия вероятно се дължат на по-високата честота на съдовата калцификация при мъжете, съответстваща на по-висок синтез на MGP, различия във хранителния режим, витамин К-зависимата карбоксилация и влиянието на половите хормони върху калциево-фосфорния метаболизъм на ниво съдова стена.

В обобщение, серумните нива на ucMGP са значимо асоциирани със ССЗ при пациентите с ХБЗ, без да зависят от стадия на бъбречното заболяване или показателите за бъбречна функция. Липсата на различия между отделните стадии на ХБЗ (Таблицы 2 и 6), съчетана с връзките на ucMGP със сърдечно-съдовия статус, възрастта и пола (Таблица 9), подкрепя ролята му като маркер на системните съдови промени. ROC анализът (Фигури 7 и 8) и регресионните модели (Таблицы 10 и 11) показват умерена дискриминативна способност на ucMGP и потенциален принос към стратификацията на сърдечно-съдовия риск. Тези данни предполагат, че ucMGP не следва да се разглежда като самостоятелен диагностичен маркер, а като част от интегриран модел, отразяващ съдовата калцификация, нарушенията в минералния метаболизъм и кардио-реналните взаимодействия при ХБЗ. Комбинирането му с eGFR може да подобри оценката на риска, но клиничната стойност на този подход изисква потвърждение в по-големи проспективни проучвания.

Докато показателите, свързани с минералния метаболизъм и съдовата калцификация ($\text{Ca} \times \text{P}/\text{eGFR}$ и ucMGP), отразяват предимно системните и васкуларни аспекти на КРС, тубулоинтерстициалното увреждане представлява ключов и често поранен компонент на прогресията на ХБЗ. Оценката му остава предизвикателство, тъй като традиционните показатели за бъбречна функция, SCr, eGFR и протеинурия не отразяват надеждно ранните структурни промени в бъбречния паренхим. Ограниченията на тези показатели, повлияни от възраст, пол, мускулна маса, хидратационен статус и други фактори, обуславят необходимостта от биомаркери, които да идентифицират субклиничното тубулно увреждане преди настъпването на значима загуба на гломерулна функция.

Сред тях NGAL се утвърждава като чувствителен маркер на тубулния стрес и възпалителната активация. Макар първоначално да е въведен като биомаркер при остро бъбречно увреждане, през последните години се натрупват убедителни данни за ролята му и при ХБЗ. Серумните и уринните му концентрации се повишават значително по-рано от SCr, което го прави перспективен показател за ранно откриване на тубулно увреждане. Въпреки високата си чувствителност, NGAL не е напълно органоспецифичен, тъй като нивата му могат да бъдат повишени и при системно възпаление, инфекции и други извънбъбречни състояния, поради което резултатите следва да се интерпретират индивидуално в зависимост от клиничната ситуация и изследваната популация.

В настоящото проучване серумните нива на NGAL се различават статистически значимо между изследваните групи ($p < 0.001$) (Таблица 12). Те нарастват прогресивно

от група I (113.40 ng/mL) през група II (155.35 ng/mL) до група III (267.80 ng/mL), успоредно с понижаването на eGFR и повишаването на SCr. В група III концентрациите на NGAL са почти два пъти по-високи спрямо група I, което показва висока чувствителност на биомаркера към прогресията на бъбречното увреждане.

Корелационният анализ установи силна отрицателна връзка между NGAL и eGFR ($\rho = -0.730$; $p < 0.001$) и положителна корелация със SCr ($\rho = 0.736$; $p < 0.001$), което потвърждава връзката му с влошаването на бъбречната функция. Освен това NGAL корелира положително с hs-CRP ($\rho = 0.334$; $p = 0.004$), IL-6 ($\rho = 0.509$; $p < 0.001$) и броя на левкоцитите ($\rho = 0.362$; $p = 0.005$), което подкрепя ролята на хроничното възпаление в прогресията на ХБЗ. Бяха установени значими положителни корелации и с Pi ($\rho = 0.265$; $p = 0.025$), PTH ($\rho = 0.494$; $p < 0.001$), ALP ($\rho = 0.370$; $p = 0.001$), както и обратна корелация със серумния Ca ($\rho = -0.334$; $p = 0.004$), което предполага участие на NGAL и в нарушенията на минерално-костния метаболизъм. Получените резултати подкрепят потенциала на NGAL като интегрален биомаркер, отразяващ едновременно бъбречното увреждане, възпалителната активност и нарушенията в минералния метаболизъм (Таблица 13).

Не може да се изключи, че част от наблюдаваното повишение на NGAL отразява системна възпалителна активация, а не изключително специфично бъбречно увреждане. Въпреки това, наличието на значима отрицателна корелация с eGFR и положителна корелация с класически показател за бъбречна функция като SCr предполага, че NGAL отразява поне частично и бъбречно-специфични процеси.

Увреждането на бъбречните тубули играе решаваща патогенна роля в прогресията на ХБЗ. Това се наблюдава и при заболявания, характеризиращи се с първично гломерулно увреждане. Литературните данни показват, че NGAL се повишава още в ранните стадии на диабетната нефропатия, IgA нефропатия, хипертоничната нефропатия и други форми на хронично бъбречно увреждане, като серумните му нива корелират с тежестта на тубулоинтерстициалните промени и интерстициалната фиброза.

Нашето проучване установи също значими връзки между NGAL, PTH, Ca и Pi, които предполагат наличие на взаимовръзка между тубулното увреждане и нарушенията в минерално-костния метаболизъм при ХБЗ. Съвременните експериментални данни предполагат възможно участие на NGAL в регулацията на костния метаболизъм чрез взаимодействие с FGF23-зависими механизми, както и влияние върху фосфатната хомеостаза и активирането на витамин D. Макар тези механизми все още да не са окончателно изяснени, получените резултати разширяват представите за ролята на NGAL извън класическата му функция като маркер за тубулно увреждане.

Установихме също положителна корелация между NGAL и възрастта ($\rho = 0.284$; $p = 0.016$), което вероятно отразява възрастово обусловеното намаляване на бъбречната функция и по-високата честота на хронични възпалителни процеси (Таблица 13).

Последващият анализ между пациентите в стадий G1 и здравите контроли предостави допълнителна информация за ролята на NGAL като ранен диагностичен маркер (Таблица 14). Двете групи не се различаваха статистически по възраст, eGFR и SCr, което потвърждава запазената гломерулна функция при пациентите със стадий G1. Единствено серумният калций беше статистически значимо по-нисък в групата G1, докато P_i показва тенденция към по-ниски стойности без статистическа значимост. Не се установиха различия в PTH, ALP, hs-CRP и IL-6, което говори за липса на изразено системно възпаление и вторичен хиперпаратиреоидизъм в ранния стадий на заболяването. Най-същественият резултат беше статистически значимо повишената концентрация на NGAL при пациентите със стадий G1 (113.41 ± 46.46 ng/mL срещу 76.29 ± 20.12 ng/mL при контролите; $p = 0.016$). Това предполага наличие на ранно тубулно увреждане, което не се установява чрез традиционните показатели за бъбречна функция.

Получените данни подкрепят схващането, че функционалните показатели и структурното увреждане не винаги протичат паралелно. Бъбрекът притежава значителен функционален резерв и компенсаторен капацитет, поради което ранното тубулоинтерстициално увреждане може да остане незабелязано при използване единствено на SCr и eGFR. Бинарната логистична регресия показва значима асоциация между NGAL и наличието на стадий G1 ($OR = 1.126$; $p = 0.045$), а ROC анализът демонстрира отлична дискриминационна способност на биомаркера ($AUC = 0.889$; $p < 0.001$) (Таблица 15, Фигура 10). Макар мултивариантен анализ да не беше възможен поради ограничения брой пациенти, тези резултати подкрепят потенциала на NGAL за ранно откриване на ХБЗ.

Комбинираният анализ на всички изследвани групи показва последователно нарастване на NGAL още в субклиничната фаза на заболяването и прогресивно увеличение с напредването на ХБЗ. В ранните стадии той отразява предимно тубулна клетъчна активация и увреждане, а в по-късните, персистиращо възпаление, интерстициална фиброза и прогресивна загуба на нефронна маса. Този модел подкрепя концепцията, че тубулоинтерстициалното увреждане представлява централен механизъм в патогенезата на ХБЗ, а NGAL е не само маркер за прогресия, но и потенциален ранен индикатор за започващ патологичен процес.

Практическото значение на този интегриран подход е съществено. Докато традиционните показатели като серумен креатинин и eGFR отразяват предимно загубата на гломерулна функция в по-късните етапи, NGAL предоставя възможности за: ранно откриване на тубулно увреждане, по-прецизна оценка на активността на заболяването и по-добра стратификация на риска за прогресия. Следователно, последователното използване на NGAL в различните стадии на ХБЗ позволява преминаване от реактивен към проактивен диагностичен подход, при който увреждането може да се идентифицира още преди настъпването на необратими функционални промени.

В заключение, резултатите от настоящото проучване подкрепят потенциала на NGAL като чувствителен биомаркер за ранно тубулно увреждане и прогресия на ХБЗ. За разлика от традиционните показатели, NGAL предоставя допълнителна информация за тубулното увреждане, възпалителната активност и нарушенията в минералния метаболизъм. Въпреки това интерпретацията му изисква предпазливост поради влиянието на системното възпаление и други извънбъбречни фактори. Ограниченията на настоящото проучване, включително относително малкият размер на извадката и липсата на мултивариантен анализ, налагат провеждането на по-големи проспективни мултицентрови изследвания за окончателно валидиране на диагностичната и прогностичната стойност на NGAL в клиничната практика.

В обобщение настоящият дисертационен труд показва, че при ХБЗ съществува ясно изразена взаимовръзка между бъбречната дисфункция, нарушенията в минералния метаболизъм и сърдечно-съдовия риск, която може да бъде по-добре характеризирана чрез интегративен подход, включващ както функционални, така и молекулни биомаркери. В този аспект съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ отразява комбинирания ефект на нарушения минерален баланс и редуцираната бъбречна функция и демонстрира добра дискриминационна способност за стратификация на сърдечно-съдовия риск. От своя страна серумният ucMGP се асоциира със ССЗ независимо от степента на бъбречната функция и вероятно отразява активността на витамин К-зависимите процеси, свързани със съдовата калцификация и съдовото ремоделиране. Паралелно с това NGAL предоставя чувствителна оценка на тубулоинтерстициалното увреждане още в ранните стадии на ХБЗ и показва връзка с възпалителната активност и прогресията на бъбречната дисфункция.

В тяхната съвкупност тези показатели очертават мултифакторен патофизиологичен модел на КРС тип 4, при който гломерулното увреждане, тубулната дисфункция и съдовата калцификация не протичат изолирано, а взаимодействат и взаимно се потенцират. Получените резултати подкрепят концепцията, че комбинирането на функционални (eGFR), метаболитни (Ca, P) и молекулни (ucMGP, NGAL) биомаркери може да допринесе за по-прецизна ранна идентификация и стратификация на пациенти с повишен сърдечно-съдов риск. Въпреки това, тези наблюдения следва да се интерпретират с необходимата предпазливост и изискват допълнителна валидация в проспективни и мултицентрови проучвания преди потенциално приложение в клиничната практика.

ИЗВОДИ

1. При пациентите в преддиализни стадии G1–G4 на ХБЗ се установи прогресивно влошаване на калциево-фосфорния метаболизъм, което корелира със степента на бъбречната дисфункция и сърдечно-съдовия риск.
2. Съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ интегрира информация за нарушенията в минералния метаболизъм и показва добра способност за стратификация на сърдечно-съдовия риск в зависимост от степента на бъбречната дисфункция.
3. Серумните нива на ucMGP показаха асоциация със сърдечно-съдовите заболявания независимо от степента на бъбречната дисфункция, което подкрепи ролята на показателя като потенциален биомаркер за сърдечно-съдов риск.
4. Серумните нива на NGAL нарастваха с прогресията на бъбречното увреждане и показаха значима връзка с показателите на бъбречната функция, което потвърди стойността му на чувствителен маркер за тубулоинтерстициално увреждане.
5. Намерените взаимовръзки между NGAL , възпалителните маркери и нарушенията в минералния метаболизъм потвърдиха участието на хроничното възпаление в патогенезата и прогресията на ХБЗ.

ПРИНОСИ С ОРИГИНАЛЕН ХАРАКТЕР

1. Беше проведено комплексно изследване, интегриращо биомаркери на съдова калцификация (ucMGP), тубулно увреждане (NGAL), възпаление (hsCRP, IL-6) и нарушения в минералния метаболизъм при пациенти в преддиализни стадии (G1 – G4) на ХБЗ.
2. Беше въведено съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$ като интегративен показател за минерални нарушения и бъбречна дисфункция, като се установи пряката му връзка със сърдечно-съдовия риск.
3. Беше разработена шестстепенна скала за стратификация на риска въз основа на съотношението $\text{Ca} \times \text{P} / \text{eGFR}$, позволяваща категоризиране на пациентите от много нисък до изключително висок риск.
4. Беше показано, че ucMGP е маркер, асоцииран предимно със съдовата патология, пола и възрастта и няма пряка връзка със степента на бъбречното увреждане.
5. Беше установено, че NGAL се повишава още в ранните (субклинични) стадии на ХБЗ при запазена бъбречна функция ($\text{eGFR} \geq 90 \text{ mL/min}$), което го определя като ултранисен биомаркер за бъбречно увреждане.
6. Беше установено, че комбинираните биомаркери ucMGP/eGFR и $\text{Ca} \times \text{P/eGFR}$ демонстрират по-висока точност при стратификацията на сърдечно-съдовия риск от самостоятелното им прилагане.

ПРИНОСИ С ПОТВЪРДИТЕЛЕН ХАРАКТЕР

1. Беше потвърдена връзката между нарушенията в калциево-фосфорния метаболизъм и повишения сърдечно-съдов риск при пациенти с ХБЗ.
2. Беше потвърдена асоциацията между повишените серумни нива на ucMGP и наличието на сърдечно-съдови заболявания, което подкрепи ролята му като биомаркер за сърдечно-съдовия риск.
3. Беше потвърдено, че серумните нива на NGAL нарастват с прогресията на бъбречното увреждане и корелират с класическите показатели на бъбречната функция.
4. Беше потвърдена връзката между NGAL, системното възпаление и нарушенията в минералния метаболизъм при ХБЗ.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ

ПУБЛИКАЦИИ

1. **Borislav Ignatov**, Tatyana Simeonova, Tsvetelina Eftimova, Anelia Dimitrova, Krasimir Kostov. The relationship between undercarboxylated matrix Gla protein and cardiovascular diseases in pre-dialysis chronic kidney disease patients. Journal of Biomedical and Clinical Research 18(1): 81–89 (2025), ISSN 1313-9053
2. **Borislav Ignatov**, Krasimir Kostov. The role of Lipocalin-2 and Galectin-3 in the pathogenesis of chronic kidney disease.
First National Conference of Pathophysiology, Tsigov Chark/25-27.04.2025,
ISBN: 978-619-237-151-7
3. Tatyana Simeonova, **Borislav Ignatov**, Tsvetelina Eftimova, Krasimir Kostov. Is Undercarboxylated Matrix Gla Protein a Reliable Biomarker of Vitamin K2 Status in Patients with Chronic Kidney Disease? Journal of IMAB - Annual Proceeding (Scientific Papers) 31(2):6179-6184, ISSN: 1312-773X,
IF: 0.2, Q4 (Web of Science, Scopus)

УЧАСТИЯ

1. **Борислав Игнатов**, Цветелина Ефтимова, Татяна Симеонова, Петя Драгомирова, Павлина Йорданова-Лалева, Сергей Костадинов, Анелия Димитрова. Изследване на циркулиращия некарбоксилиран матриксен Gla-протеин като биомаркер за витамин K2 статус на пациенти с хронично бъбречно заболяване.
Юбилейна научна конференция „60 години Патофизиология“, Медицински университет – Варна, 24 – 25 септември 2021 г.
2. **Борислав Игнатов**, Цветелина Ефтимова, Татяна Симеонова, Петя Драгомирова, Павлина Йорданова-Лалева, Анелия Димитрова. Витамин K2 статус при пациенти с Хронично бъбречно заболяване.
12-th South-East European Conference of chemotherapy, infections and cancer & 32-st Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria 20-23 October, 2022, Trakia University – Stara Zagora

3. **Borislav Ignatov**, Tsvetelina Eftimova, Tatyana Simeonova, Petya Dragomirova, Pavlina Yordanova-Laleva, Sergey Kostadinov, Aneliya Dimitrova. Is undercarboxylated MGP a potential marker for vitamin K2 status or vascular calcification in patients with CKD?
Национален конгрес по физиология с международно участие, Старозагорски минерални бани, Спа хотел „Армира“, 30.10–01.11.2022 г.
4. **Б. Игнатов**, Ц. Ефтимова, Т. Симеонова, П. Драгомирова, А. Димитрова, К. Костов. Взаимовръзка между нивата на некарбоксилирания матриксен Гла-протеин, пола, възрастта и сърдечно-съдовия риск при пациенти с хронично бъбречно заболяване в преддиализен период. Национална конференция по нефрология, 11-13 октомври 2024 г., КК “Албена”.
5. **Б. Игнатов**, Т. Симеонова, В. Райкова, Г. Игнатов, Ц. Ефтимова, К. Костов. Циркулиращият некарбоксилиран матриксен Гла протеин като потенциален биомаркер за сърдечно-съдов риск при пациенти с хронични бъбречни заболявания.
Юбилейна научна конференция „50 години медицинско образование и наука в Плевен“, 1-3 ноември 2024 г.
6. **Б. Игнатов**, К. Костов. Ролята на Липокалин 2 и Галектин 3 в патогенезата на хроничното бъбречно заболяване.
Първа национална конференция по патофизиология, 25 - 27 април 2025 г., Цигов чарк.
7. Alexander Blazhev, Krasimir Kostov, **Borislav Ignatov**, Velizar Mitev, Svetla Blazheva, Tatyana Simeonova. Characterizing endothelin isoforms, uric acid, and systemic inflammation in progressive chronic kidney disease.
Balkan.bio 2025 – 6th Balkan Conference on BioSciences, October 30–31, 2025, Plovdiv
8. **Б. Игнатов**, Ц. Ефтимова, Т. Симеонова, А. Блажев, К. Костов. Витамин K2 статус при пациенти с хронично бъбречно заболяване в преддиализен период.
Национална конференция по нефрология, 17 - 19 октомври 2025 г., КК “Албена”.
9. **Borislav Ignatov**, Krasimir Kostov. Matrix Gla Protein as a Key Regulator of Vascular Biology: Molecular Forms, Functional Activity, and Role as a Biomarker.
Second National Conference of Pathophysiology, Apriltsi/08-10.05.2026