

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
Катедра по вътрешни болести
Клиника по нефрология
УМБАЛ "Александровска,,**

Д-р Владислава Миленова Тодорова

**СЕРУМНИ И УРИННИ БИОЛОГИЧНИ МАРКЕРИ ПРИ ОСТРО
БЪБРЕЧНО УВРЕЖДАНЕ**

АВТОРЕФЕРАТ

**на дисертационен труд за получаване на образователна и
научна степен "доктор,,**

**Докторска програма –“Нефрология”
Професионално направление – 7.1 Медицина
Област на висшето образование – 7. Здравеопазване и спорт**

**Научен ръководител:
Доц. д-р Румяна Панайотова Кръстева-Лолова, дм**

София

2017

Дисертационният труд е изложен на 174 стандартни страници и е онагледен с 48 таблици и 28 фигури. Библиографията съдържа 275 литературни източника: 15 на кирилица и 260 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за публична защита от Катедрен съвет на Катедрата по вътрешни болести при Медицински факултет на Медицински университет – София, на 15 май 2017 година.

Официалната защита на дисертационния труд ще се проведе на 25 септември 2017 година от 14:30 часа в Аудиторията на Клиниката по нервни болести на УМБАЛ „Александровска“ ЕАД, пред научно жури, определено със заповед на Ректора на МУ-София, №РК36-1108/07.07.2017 г.

Научно жури

Председател:

Доц. д-р Румяна Панайотова Кръстева-Лолова, дм – вътрешен член

Членове:

Проф. д-р Борис Илиев Богов, дм – вътрешен член

Проф. д-р Васил Величков Тодоров, дмн – външен член

Доц. Велислава Димитрова Димитрова, дм – външен член

Доц. Емил Павлов Кумчев, дм – външен член

Резервни членове:

Доц. Режина Жак Джераси, дм – вътрешен член

Проф. Валентина Христова Маджова, дм – външен член

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на Медицински университет-София, и са на разположение в Секретариата на Катедрата по вътрешни болести на Медицински факултет: УМБАЛ “Александровска”, бул. „Г. Софийски“ №1, София 1431.

СЪДЪРЖАНИЕ

УВОД.....	6
ЦЕЛ.....	8
ЗАДАЧИ..	8
МАТЕРИАЛ.....	9
МЕТОДИ.....	10
РЕЗУЛТАТИ.....	17
ОБСЪЖДАНЕ..	44
ИЗВОДИ..	56
ПРИНОСИ.....	57
НАУЧНИ ПУБЛИКАЦИИ И СЪОБЩЕНИЯ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД.....	58

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АКЕ инхибитори- Инхибитори на ангиотензин конвертирация ензим
АН-Артериално налягане
АРБ-Ангиотензин рецепторни блокери
АХ-Артериална хипертония
БМ- Биологични маркери, Биомаркери
ДАН-Диастолно артериално налягане
ЗД-Захарен диабет
ИБС-Исхемична болест на сърцето
ТК-Тубулни клетки
ГН- Гломерулонефрити
ГФ- Гломерулна филтрация
КИН- Контраст индуцирана нефропатия
КС- Кортикостероиди
КРС-Кардиоренален синдром
ММ-Мултиплен миелом
НСПВС- Нестероидни противовъзпалителни средства
ОБН- Остра бъбречна недостатъчност
ОБУ- Остро бъбречно увреждане
ОИН- Остър интерстициален нефрит
ОМИ- Остър миокарден инфаркт
ОТН- Остра тубулна некроза
ПМ-Предсърдно мъждене
ПББ- Пункционна бъбречна биопсия
САН-Систолно артериално налягане
СУЕ-Скорост на утаяване на еритроцитите
СН-Сърдечна недостатъчност
ХБЗ- Хронично бъбречно заболяване
ХБН- Хронична бъбречна недостатъчност
ХД -Хемодиализа
ACS- abdominal compartment syndrome
ADQI- Acute Dialysis Quality Initiative Group
AKIN- Acute Kidney Injury Network
ANCA-Anti-neutrophil cytoplasmic antibody
ATP- Adenosine triphosphate
BMI -Индекс на телесната маса
CKD epi- Study Group and the Chronic Kidney Disease Epidemiology
Collaboration
CRP- C-reactive protein
GFR-Creatinine Clearance, Креатининов клирънс

CysC-Cystatin C
ELISA- enzyme-linked immunosorbent assay
EMA- European Medicines Evaluation Agency
GFR- Glomerular filtration rate
ICNARC- Intensive Care National Adult Research Centre
IL-6- Interleukin-6
IL-18- Interleukin-18
IQR-Interquartile range
HES- hydroxyethyl starch
HRP- пероксидаза от хрян
KDIGO- Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM-1- Kidney injury molecule-1
LCDD- Light-Chain Deposition Disease (не-амилоидни моноклонални лековерижни депозити)
MDRD- Modification of Diet in Renal Disease
NAG- N-acetyl- β -D-glucozaminidase
NCEPOD- National Confidential Enquiry into Patient Outcome and Death
NF- κ B- Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NGAL- Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NO- Nitrogen oxide
PGI₂- Prostaglandin 2
RAAS- Renin-angiotensin-aldosterone system
RIFLE -Risk, Injury, Failure, Loss and End stage of renal disease
Scr-serum creatinine (серумен креатинин)
SD- Standard deviation
SIRS- Systemic Inflammatory response Syndrome
TLS- Tumor lysis syndrome
TNF- α - Tumor necrosis factor alpha

УВОД

Острото бъбречно увреждане (ОБУ) е сериозен клиничен проблем, засягащ значителна хетерогенна популация пациенти. ОБУ, наричано до 2013г. остра бъбречна недостатъчност (ОБН), обхваща и по-ранните етапи на бъбречна дисфункция до напреднало заболяване, налагащо бъбречно-заместителна терапия. Честотата варира от 5-7 % при стационарите до 30-50% в сектора за интензивни грижи. ОБУ е самостоятелна причина за смъртност в около 25% и достига над 50% в секторите за интензивни грижи.

ОБУ се дефинира като внезапна и продължителна загуба на бъбречна функция, причиняваща постоянно натрупване на азотни и неазот-съдържащи продукти и токсини. ОБУ се характеризира с бързо развитие на водно-електролитни и алкално-киселинни нарушения.

Нараства интересът на клиницистите за намирането на ефективна защита срещу последиците от заболяването. Тя се основава на ранно регистриране, оценка на клиничното протичане и прогноза, позволяващи провеждане на ефикасно лечение. Част от диагностичния проблем е липсата на биохимични маркери за ранна бъбречна увреда, които да са чувствителни, лесно приложими и да имат висока предсказваща стойност. Серумният креатинин вече не е достатъчно надежден показател за ранното диагностициране на ОБУ, тъй като се влияе от редица екстраренални фактори, а значимите промени в нивото му следват с 1-3 дни след първоначалната структурна увреда.

През последното десетилетие по-доброто разбиране за ранния патофизиологичен отговор на бъбрека към стресови фактори откри редица протеини в серум и урина. Това са биомаркери за бъбречна функция: Цистатин С (CysC); биологични маркери за структурна и клетъчна увреда: Неутрофилен гелатиназа–асоцииран липокалин (NGAL), Интерлевкин-18 (IL-18) в серум, както и Молекула за бъбречно увреждане–1 (KIM-1) и N-ацитил-бета-D-глюкозаминидаза (NAG) в урина.

Предшестващото хронично бъбречно заболяване (ХБЗ) е чест терен за развитие на ОБУ. След настъпване на лекостепенна увреда бъбрекът има способността да възстанови своята структурна и функционална цялост. При по-тежко увреждане и при съпътстващи бъбречни отклонения, възстановителният процес може да доведе до фиброза, която улеснява прогресията към ХБЗ. Няколко големи епидемиологични проучвания, проведени върху кохорти от хоспитализирани болни разкриват, че пациенти, преживели епизод на ОБУ, имат значимо повишен риск от развитие на краен стадий на бъбречно заболяване.

На базата на данни, публикувани през последните години се допуска, че патологията, която се развива в регенериращите тубули след настъпването на ОБУ протича с дефектна диференциация. Процесът се съпътства от трайно повишено ниво на сигнална активност, която генерира промени в интерстициума: възпаление, редуция на капилярната мрежа и фибробластна пролиферация.

Пациентите с изострено ХБЗ имат сигнификантно по-лоша преживяемост в сравнение с пациентите с ОБУ без предшестващо ХБЗ. Болните с изострено ХБЗ, при които не настъпва подобряване на бъбречната функция, при дехоспитализацията имат по-лоша прогноза по отношение на смъртност и дългосрочно ХД лечение.

Продължителният ефект след изостряне на предшестващата бъбречна недостатъчност в критични условия е слабо проучен, въпреки че рискът от смърт, кардиоваскуларни събития и честота на хоспитализация нарастват значимо при пациентите с $\text{ГФ} \leq 60$ мл/мин 1.73 м^2 . При болните с изострено ХБЗ се наблюдава по-висока честота на невъзстановена изходна бъбречна функция спрямо пациентите с ОБУ. Изостреното ХБЗ в по-голяма степен води до краен стадий на бъбречно заболяване спрямо самостоятелната прогресия на хроничната бъбречна увреда.

ЦЕЛ

Да се проучи и оцени диагностичната надеждност на пет нови серумни и уринни биомаркери при ОБУ и изострено ХБЗ, с хетерогенна етиология.

ЗАДАЧИ:

1. Да се проучи ролята на биомаркерите sNGAL, sCysC, sIL-18, uKIM-1 и uNAG за диагностициране на ОБУ и изострено ХБЗ с хетерогенна етиология и се определи тяхната специфичност и чувствителност.
2. Да се оценят възможностите на БМ да разграничат изострено ХБЗ по продължителност и стадиране.
3. Да се оцени корелацията между изследваните БМ със SCr и GFR при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ.
4. Да се оцени корелацията между петте БМ, както и тяхната зависимост с други клинични и лабораторни показатели при болните с ОБУ и изострено ХБЗ.
5. Да се потърсят различия в нивата на БМ при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ с различни причини за бъбречна увреда.

МАТЕРИАЛ

Обект на проучването: за периода на наблюдението от 2013-2015 г. в Клиника по нефрология УМБАЛ “Александровска” са изследвани 100 болни и 60 доброволци. От общия брой пациенти, преминали през лечебното заведение, 68 болни са с остро бъбречно увреждане, 32-ма - с изострено хронично бъбречно заболяване. Всички лица са български граждани.

Диагностицирането на пациентите с ОБУ се извърши въз основа на събраните данни за манифестно влошаване на клиничното състояние, промените в диурезата и първото изследване на Scr. Разделянето на ОБУ от изострено ХБЗ се направи на базата на анамнеза, образни изследвания и медицинска документация за ХБЗ. Пациентите с ХБЗ са с изчислена ГФ \leq 60 мл/мин 1.73 м².

Групата болни е на средна възраст 59,65 \pm 15,25г. и включва: 1) пациенти с остро влошена бъбречна функция (n=68), на средна възраст 57.16 \pm 15.60г.; 2) пациенти с обострено хронично бъбречно заболяване (n=32), на средна възраст 62.13 \pm 14.90г.

За определяне на диагностичната стойност на CysC, NGAL, IL-18 в серум и KIM-1, NAG в урина при пациенти с различни причини за ОБУ беше взет биологичен материал- серум и прясна урина по стандартизирани критерии

Предмет на проучването: възможностите на нови биомаркери спрямо SCr и GFR за диагностициране на ОБУ и разграничаването му от обострено ХБЗ.

Място на проучването: от 100-те болни 7 пациента са от Клиничен център по нефрология и трансплантация УМБАЛ “Александровска”, 2-ма от Клиника по кардиология УМБАЛ “Александровска” ЕАД, София -Медицински факултет, Медицински университет-гр. София и 1 от Клиника по нефрология УМБАЛ “Каспела” гр. Пловдив.

Характер на наблюдението: проучването е проспективно по отношение на включените болни, трансверзално, сравнително. Дизайнът на проучването е срезов с използване на контролна група.

Изследването включва 160 лица, разпределени в 8 групи, съобразно включващи и изключващи критерии:

Включващи критерии: възраст над 18-години; клинични и лабораторни данни за бъбречно заболяване, с остро настъпило влошаване на бъбречната функция; клинични и лабораторни данни за предшестващо ХБЗ с внезапно настъпило остро влошаване; клинични, лабораторни и/или хистологични данни за остър или хроничен тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония; клинични, лабораторни и хистологични данни за първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром или с рецидив, протичащ с влошаване на бъбречната функция; лица с исхемично ОБУ без или с предхождащо ХБЗ; лица с остра или хронична медикаментозна нефропатия.

Изключващи критерии: отказ от подписване на информирано съгласие и несъгласие на пациента за провеждане на изследването; лица, с психично заболяване, с умствено изоставане, с деменция; лица 0-17 години; бременни; лица с алкохолна и/или наркотична зависимост.

Първата група са болни с есенциална АХ и остър тубулоинтерстициален нефрит; пациенти с есенциална АХ и хроничен тубулоинтерстициален нефрит. Съставена е от 35 лица;

Втората група пациенти са 22 лица с първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром и първични гломерулни болести с рецидив, протичащ с влошаване на бъбречната функция;

Третата група болни, 22 лица с исхемично (в резултат на хиподебитна СН, дехидратация с хиповолемия, периферна вазодилатация) ОБУ без или с предхождащо ХБЗ;

Четвърта група е съставена от 8 пациенти, при които причината за влошена бъбречна функция е системен васкулит на малките съдове с първо бъбречно засягане и системен васкулит в непълна ремисия;

Петата група са 7 лица с остра и хронична медикаментозна нефропатия, причинена от прием на НСПВС, аналгетици, антибиотици, АКЕ-инхибитори, контрастни вещества;

Шестата група е представена от 6 лица с остра миеломна нефропатия;

Седем трансплантирани болни, с остра нефропатия на графта, са разпределени съобразно патофизиологичните причини довели до остро влошаване на бъбречната функция: 2-ма пациенти са с остър тубулоинтерстициален нефрит и съпътстваща есенциална хипертония; 5-ма болни са с първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром на графта.

Като контролна група са изследвани 60 здрави доброволци, на средна възраст $51,93 \pm 11,46$. На всички здрави лица са направени лабораторни и образни изследвания. Те нямат съпътстващи заболявания и са със запазена бъбречна функция. Серумният креатинин при жените е $< 96 \mu\text{mol/l}$, а eGFR е 101.13 ± 17.57 . При мъжете SCr е $< 110 \mu\text{mol/l}$, eGFR- 101.57 ± 14.14 .

МЕТОДИ

1. На всички пациенти беше снета подробна анамнеза с цел определяне на типа и вида на болестния процес на бъбреците; анамнестични данни за фактори, индуциращи развитието на ОБУ; анамнеза за предшестваща влошена бъбречна функция; търсене на болков, нефритен, нефрозен и метаболитен синдром, инфекции; информация за прием на медикаменти, повлияващи серумните нива на креатинина; минали и придружаващи заболявания; фамилна анамнеза за генетични болести и вродени малформации.
2. На всички участници е снет пълен физикален статус. Отчитане на артериалното налягане се осъществи с anerоиден сфингоманометър в седнало положение след поне 5 минутен покой, трикратно. На всички участници се измериха ръст (см), телесно тегло (кг), на базата на които се

определи индекса на телесната маса (BMI) (kg/m^2). ГФ се изчисли по формулата на Study Group and the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI creatinine-cystatin C) 2012 г. в ($\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$), която единствено може да се приложи при пациенти над 70 годишна възраст.

3. Диагнозите при проучените пациенти (ОБУ, изострено ХБЗ, тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония, първичен хроничен гломерулонефрит с първа изява на остър нефритен синдром или с рецидив, исхемично ОБУ без или с предшестващо ХБЗ, системен васкулит на малките съдове с първо бъбречно засягане или в непълна ремисия, остра миеломна нефропатия, медикаментозна нефропатия) са поставени според общоприети критерии. В изработената карта за проучване се събра информация от лист “История на заболяването”, температурен лист.
4. Ултразвуково изследване: на всички участници в проучването се осъществи В-мод абдоминална ехография, цветен пулсов и power Doppler с апарат ESAOTE-MYLAB-60 и ALOKA. Оценката на тежестта на промените се извърши от няколко високо квалифицирани специалисти. На всички участници в проекта се определиха ехографски следните параметри: надлъжен размер на бъбреците, дебелина на бъбречният паренхим, индекс на съпротивление на бъбречните артерии, видимост на пирамиди и ехогенност на бъбречния кортекс. Промените в последния показател се стадираат в четири степени: 0-ва степен на ехогенност (нормална ехогенност); 1-ва степен- леко повишена ехогенност спрямо черния дроб; 2-ра степен на умерено повишена ехогенност; 3-та степен-трудно се отличава паренхим от ренален синус.
5. Микробиологични изследвания: Осъществиха се в Катедра по медицинска микробиология, Медицински факултет, МУ-София. Изследваха се следните микробиологични материали: кръв и урина. Те са извършени чрез спазване на

приетите правила за вземане, съхранение и транспорт на биологичните материали.

6. Лабораторни методи: Кръвта беше взета при стандартни условия- сутрин между 7:30 и 9:00 ч., на гладно, от кубиталната вена, между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията. Кръвните проби се разпределяха в четири вакутейнера и една хепаринизирана капилярка. Първият вакутейнер съдържа K_2EDTA за определяне на кръвна картина. Вторият е с Na цитрат за изследване на скоростта на утаяване на еритроцитите (СУЕ). Третият вакутейнер съдържа гел и клот активатор за изследване на биохимични показатели. В хепаринизирана капилярка се взима артериализирана капилярна кръв за алкално киселинно равновесие. Кръвните проби от трите вакутейнера и хепаринизираната капилярка се изследваха в един ден.

От четвъртия вакутейнер, съдържащ гел и клот активатор, серумът се отдели на стайна температура, след което се разпредели в 4 вторични епруветки тип Eppendorf и се замръзи при $-20^{\circ}/-80^{\circ}$ C до анализа. Оцениха се следните показатели:

- sCysC
- sNGAL
- sIL-18

За оценка на бъбречната функция се изследва серумен креатинин по метода на Jaffe, който се основава на неспецифична цветна реакция и се изчисли GFR по формулата на CKD-EPI creatinine-cystatin C 2012 г. ($mL/min/1.73m^2$).

На всички участници се събраха 2 уринни проби сутрин след сън. При пациенти с поставен уретрален катетър, уринната проба се взе от уринаторната торбичка след предварително запушване на катетъра за период от 2 часа. Общото количество урина, необходимо за изследването е 50 мл. От първата урина проба се

определиха рН, белтък, захар, кетони, еритроцити, левкоцити, уробилиноген в урината. Втората проба урина се прехвърли в полипропиленова епруветка с конусовидно дъно и се центрифугира при 1000 G за 20 минути. От надстоящата течност се отпипетира по 2 мл за n вторични епруветки тип Eppendorf. Изследваха се: uNAG и uKIM-1.

При пациентите с остър тубулоинтерстициален нефрит в резултат на уроинфекция се взе трета урина проба в стерилен вакутейнер за микробиологично изследване.

7. Специфични лабораторни методики: имунонефелометрия; ELISA “тип сандвич.” Чрез имунонефелометрия се определи CysC в серум, а чрез ELISA- NGAL, IL-18 в серум, KIM-1 и NAG в урина.

N Latex Cystatin C представлява кит за *in vitro* диагностика, съдържащ реагенти за количествено определяне на CysC в човешки серум и плазма чрез усилена имунонефелометрия, използвайки BN система. Референтните граници за sCysC са 0.5 до 0.96 mg/l.

За определяне на sNGAL, sIL-18, uKIM-1 и uNAG е използван ELISA тип „сандвич“.

ELISA тип сандвич за количествено определяне на човешки липокалин-2 (NGAL) с каталожен номер RD191102200R. При настоящето проучване са използвани референтни граници, предоставени от производителя, чието разпределение е в зависимост от възраст и пол и е представено в табл 1.

Таблица 1. Възраст и пол зависимо разпределение на липокалин-2

Пол	Възраст (години)	№	Средна стойност ng/ml	Стандартно отклонение (SD) ng/ml	Долна граница ng/ml	Горна граница ng/ml	Среден диапазон (M) ng/ml
Мъже	13-18	6	43.4	23.3	17.4	87.0	39.9
Мъже	19-49	26	59.3	29.7	18.6	142.2	53.4
Мъже	50-85	54	62.5	33.4	14.4	169.2	53.4
Жени	6-18	6	61.3	34.2	21.0	114.6	66.5
Жени	24-50	38	75.3	33.9	13.8	145.2	67.8
Жени	51-83	67	64.9	46.5	21.6	276.0	51.0

ELISA метод за количествено определяне на човешки IL-18 с каталожен номер BMS267/2CE. На таблица 2 са представени използваните средни стойности, предоставени от производителя. Изследван е панел от 40 серума на произволно избрани здрави доброволци-мъже и жени. Измерените нива могат да варират в зависимост от събирането на пробите.

Таблица 2. Средни стойности на IL-18.

Проба	Брой на изследваните проби	Граница (pg/ml)	% на откриваемост	Средна откриваемост (pg/ml)
Серум	40	nd*-732.7	80.0	393.4

*n.d.= неоткриваеми. Проби, измерени под най-ниския стандарт, се считат за неоткриваеми.

ELISA метод за количествено определяне концентрацията на KIM-1 в уринни проби, с каталожен номер H-RENA-E-001. Проучването предвижда надеждни резултати за детекция на човешки KIM-1 при концентрация ≥ 80 pg/ml.

ELISA метод за определяне на NAG с каталожен номер MBS700742. Аналитичният обхват на метода е между 5-2000 mIU/ml.

8. Статистически методи

Данните за количествените променливи с параметрично разпределение са представени със средни стойности и стандартно отклонение ($M \pm SD$). Непараметрично разпределените променливи с медиана и интреквартилен размах ($Me; IQR$). Данните от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети SPSS v. 23.0 IBM и EXEL for Windows: дескриптивен анализ; вариационен анализ; тест на Колмогоров-Смирнов и Shapiro-Wilk; t-test на Student-Fisher; еднофакторен дисперсионен анализ (ANOVA); chi-square test; корелационен анализ; Receiver-Operating Characteristic (ROC). Значимостта на теста и заключенията е определена при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛТАТИ

От всички лица с ОБУ 27 (39.7%) болни са с остър тубулоинтерстициален нефрит и съпътстваща есенциална хипертония. Делът на пациентите с първични хронични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром е 14 (20.6%). Болните с исхемично ОБУ са 9 (13.3%). Със системен васкулит на малките съдове с първо бъбречно засягане, остра миеломна нефропатия и остра медикаментозна нефропатия като причини за ОБУ попадат по 6 (8.8%) лица. На таблица 3 е представено разпределението на пациентите по заболявания, довели до остро влошаване на бъбречната функция.

Таблица 3. Разпределение по заболявания при ОБУ

Бъбречна причина	Брой болни	Отн. дял в (%)
<i>*Първични хронични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром</i>	14	20.6
<i>**Остър тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония</i>	27	39.7
<i>Исхемично ОБУ</i>	9	13.3
<i>Системен васкулит на малките съдове с първо бъбречно засягане</i>	6	8.8
<i>Остра миеломна нефропатия</i>	6	8.8
<i>Остра медикаментозна нефропатия-контрастни агенти, Антибиотици, НСПВС</i>	6	8.8

*Групата на болните с първични хронични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром, включва и трансплантирани пациенти (n=5) с нефропатия на графта, като причина за влошаване на бъбречната функция;

**Групата пациенти с остър тубулоинтерстициален нефрит с есенциална хипертония съдържа: болни с остър бактериален пиелонефрит със съпътстваща есенциална хипертония (n=15); трансплантирани пациенти (n=2) с тубулоинтерстициален нефрит, като причина за влошване на бъбречната функция; пациенти с биопсично доказан тубулоинтерстициален нефрит, които са провели лечение с КС (n=10).

С изострено ХБЗ са 32.0%, като от тях 28 болни (87.5%) са с ХБЗ II ст., а 4-ма (12.5 %) - с ХБЗ III ст.

При пациентите с изострено ХБЗ най-голям е делът на тези с исхемично ОБУ с предшестващо ХБЗ-13 (40.6%). Болните с първични хронични гломерулни болести с рецидив, протичащ с влошаване на бъбречната функция и хроничен тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония са по 8 (25.0%). Малък е броят на пациентите със системен васкулит на малките съдове в непълна ремисия-2-ма болни (6.3%) и с хронична медикментозна нефропатия-1 (3.1%). Заболяванията причинили изостряне на предшестващо ХБЗ са представени на таблица 4.

Таблица 4. Разпределение по заболявания при изострено ХБЗ

Бъбречна причина	Брой болни	Отн. Дял в (%)
<i>Първични хронични гломерулни болести с рецидив, протичащ с влошаване на бъбречната функция</i>	8	25.0
<i>Хроничен тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония</i>	8	25.0
<i>Исхемично ОБУ с предхождащо ХБЗ</i>	13	40.6
<i>Системен васкулит на малките съдове в непълна ремисия</i>	2	6.3
<i>Остра миеломна нефропатия</i>	0	0.0
<i>Хронична медикментозна нефропатия - Антибиотици, НСПВС, контрастни агенти</i>	1	3.1

Съпоставиха се заболяванията, довели до влошаване на бъбречната функция при пациентите с ОБУ (n=68) и с изострено ХБЗ (n=32). Честотата на исхемично увреждане е по-значима в групата с изострено ХБЗ (40.6%), спрямо (13.3%) болните в групата с ОБУ. Не се установява значима разлика между двете групи в

честотата на останалите заболявания, причинили влошаване на бъбречната функция.



Фигура 1. Сравнения по заболявания, причинили ОБУ и изострено ХБЗ

✓ **Промени в лабораторните показатели, оценяващи бъбречната функция**

Анализирах се промените в лабораторните показатели, оценяващи бъбречна функция- креатинин, урея, алкално – киселинно състояние при двете групи болни.

На всички пациенти се взе биологичен материал: серум и капилярна кръв по стандартизирани критерии между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията в клиниката. Гломерулната филтрация (eGFR) се изчисли по формулата на CKD-EPI creatinine-cystatin C (2012 г.) в (mL/min/1.73m²), която единствено може да се приложи и при пациенти над 70 годишна възраст.

При пациентите с ОБУ (n=68) се отчита сигнификантно повишени стойности на показателите за бъбречна функция: урея 21.61 ± 10.23 mmol/l, Scr Me 303.00; IQR 411.00 μ mol/l, пикочна киселина 486.68 ± 180.63 mmol/l. Отбелязва се значимо понижаване на скоростта на ГФ 21.59 ± 14.45 ml/min. Показателите за кръвно-газовия анализ демонстрират умерено декомпенсирана метаболитна ацидоза: pH Me 7.330; IQR 0.05; BE -9.03 ± 4.43 mmol/l.

В групата на **пациентите с изострено ХБЗ (n=32)** се отчита значимо повишаване на средните стойности на показателите серумен креатинин 416.66 ± 250.09 μ mol/l, урея 24.46 ± 13.42 mmol/l и пикочна киселина 475.06 ± 114.51 mmol/l. Силно понижената ГФ 20.53 ± 12.86 ml/min потвърди очакванията ни. При всички пациенти се оцени алкално-киселинно състояние с pH на кръвта 7.33 ± 0.05 и BE -7.98 ± 4.72 mmol/l, което съответства на умерено декомпенсирана метаболитна ацидоза.

✓ ***Промени в нивата на sCysC, sNGAL, sIL-18, uKIM-1 и uNAG при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ***

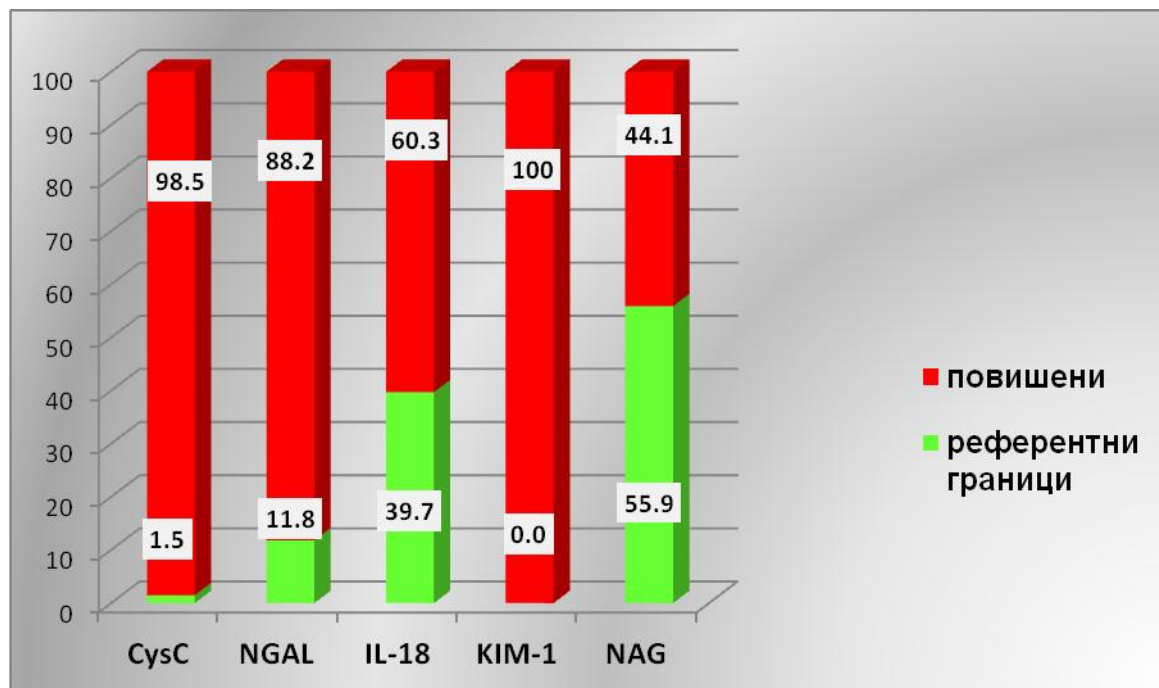
За определяне на диагностичната стойност на CysC, NGAL, IL-18 в серум и KIM-1, NAG в урина при всички пациенти беше взет биологичен материал- серум и прясна урина по стандартизирани критерии между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията в клиниката. Сравниха се нивата на Scr и петте оценявани БМ.

В това проучване се представят резултати от собствено изследване в изпълнение на поставените задачи. Резултатите са описани за пациентите с ОБУ (n=68) болни и изострено ХБЗ (n=32) лица.

Оцени се потенциала на петте БМ за диагностициране на ОБУ и изострено ХБЗ с хетерогенна етиология, както и тяхната специфичност и чувствителност.

От изследваните биомаркери в **групата с ОБУ**, най-значима промяна се регистрира при uKIM-1 със стойности на централна тенденция Me 1.48; IQR 2.08 ng/ml. Всички пациенти (100.0%) имат завишени нива на маркера. Много убедителни са данните за CysC-

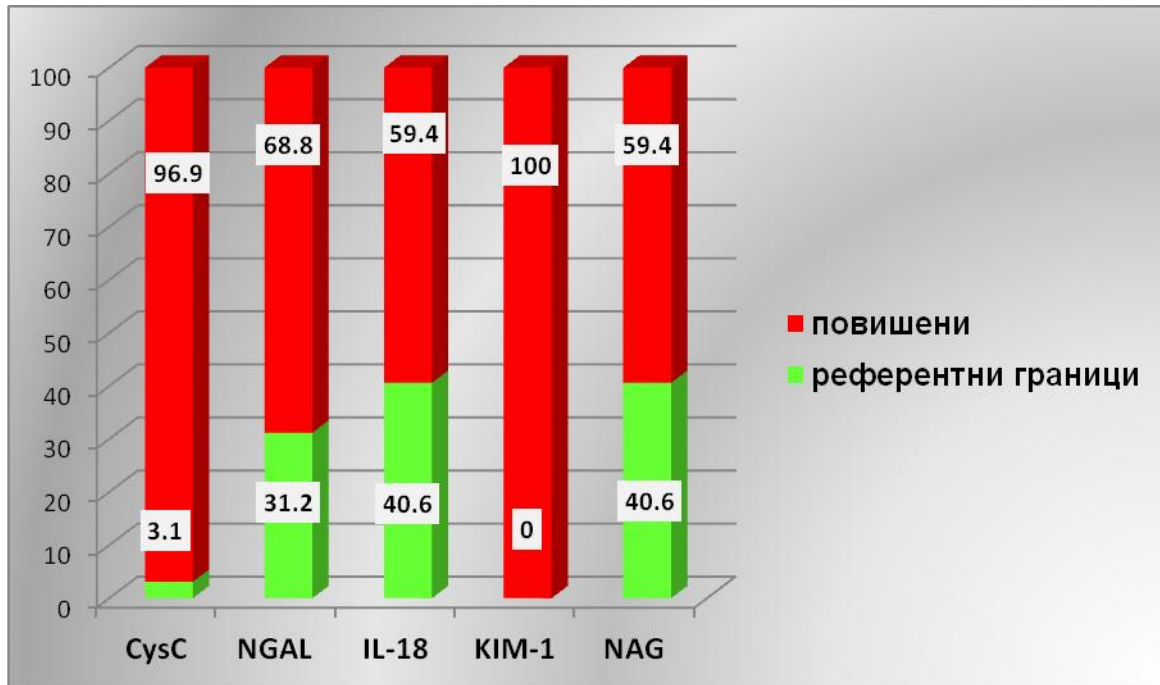
високи серумни нива със средна стойност 2.84 ± 1.29 mg/l има при 98.5% лица от групата. При 88.2% от болните sNGAL е повишен 4-рикратно над нормата със средна стойност 166.11 ± 80.20 ng/ml. sIL-18 показва двукратно наднормени нива със стойности на централна тенденция Me 434.30; IQR 308.32 pg/ml при 60.3% пациентите. Едва при 44.1% болни се отчита повишено ниво на uNAG Me 107.80; IQR 1989.46 miu/ml. На фигура 2 е представен дялът на пациентите с ОБУ с повишени нива на петте БМ.



Фигура 2. Дял на пациентите с ОБУ с повишени нива на петте БМ.

В групата с **изоострено ХБЗ** се отчита значимо повишаване на стойностите на всички биомаркери. Нивото на sCysC е трикратно завишено със средна стойност 2.74 ± 1.17 mg/l при 96.9% от болните. При 68.8% от пациентите с изоострено ХБЗ, sNGAL е със средни стойности 125.51 ± 80.06 ng/ml и се установява повишаване от 2 до 3 пъти над нормата. Същата тенденция се отчита и при sIL-18 401.86 ± 181.55 pg/ml при 59.4% от болните. Подчертано се открояват двата биомаркера в урината-KIM-1 и NAG, които отбелязват по-значимо нарастване над горно-граничните стойности. Всички пациенти в тази група имат високо ниво на uKIM-1 Me 1.33; IQR 1.09 ng/ml, което е четирикратно завишено над референтните стойности. uNAG отчетливо демонстрира значимо по-високи нива със

стойности на централна тенденция Me 2001.00; IQR 1981.36 Miu/ml при 59.4% от болните с изострено ХБЗ спрямо пациентите с ОБУ. На фигура 3 е представен дялът на пациентите с изострено ХБЗ с повишени нива на петте БМ.



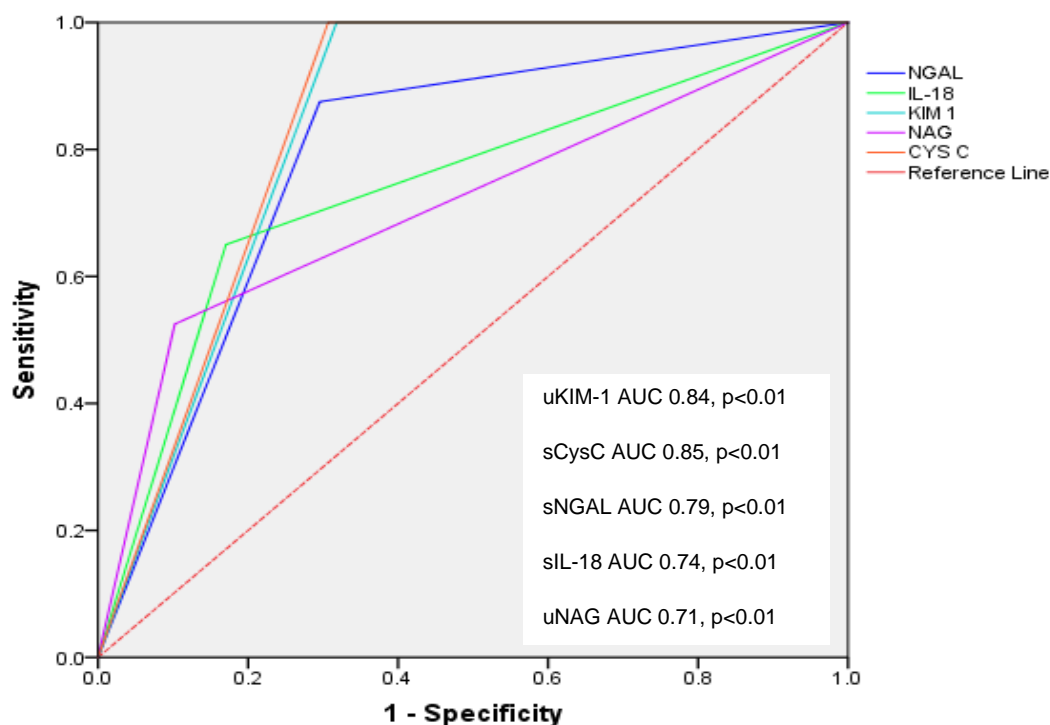
Фигура 3. Дял на пациентите с изострено ХБЗ с повишени нива на петте БМ.

Scr е надежден, но не и високоспецифичен показател за ОБУ и изисква разграничаване от случаите на преренална азотемия и ХБЗ. Промените в Scr могат да бъдат повлияни от редица екстраренални фактори, които не са в пряка връзка с бъбречната увреда. Недостатък на маркера е невъзможността да идентифицира мястото и причината за бъбречното засягане. Той се повишава приблизително на 72-рия час след настъпване на структурната увреда, а понижаването на ГФ предхожда повишението на Scr. При началните изследвания се препоръчва да се проследи Scr и ГФ, което е много по-точно отколкото самостоятелното определяне на Scr. По литературни данни, нови серумни и уринни БМ превъзхождат ГФ и Scr по диагностична стойност, поради по-високата им специфичност и чувствителност.

✓ **Проучване на диференциалната способност на изследваните БМ при пациентите с ОБУ и с изострено ХБЗ.**

- **Анализ на ROC кривите при пациентите с ОБУ**

С помощта на ROC анализ бяха определени аналитичната специфичност и чувствителност на биомаркерите. Диференциращата способност на новите биомаркери показва голяма площ под кривата при ROC анализа при пациентите с ОБУ спрямо Scr. С най-добра дискриминираща способност от тях е sCysC с AUC=0.847 [CI95% 0.781±0.912]. Неговата диагностичната стойност е много близка до тази на Scr. Следващият маркер, с подобна на sCysC дискриминираща способност, е uKIM-1 AUC=0.841 [CI95% 0.775±0.907]. Следва sNGAL AUC=0.790 [CI95% 0.707±0.873], който е с много добра дискриминираща способност. Също с добра диференцираща стойност при ОБУ е и sIL-18 с AUC=0.740 [CI95% 0.641±0.839]. С най-ниска дискриминираща стойност от изследваните показатели при оценката на ОБУ е uNAG AUC=0.711 [CI95% 0.606±0.816] (фигура 4, таблица 5).



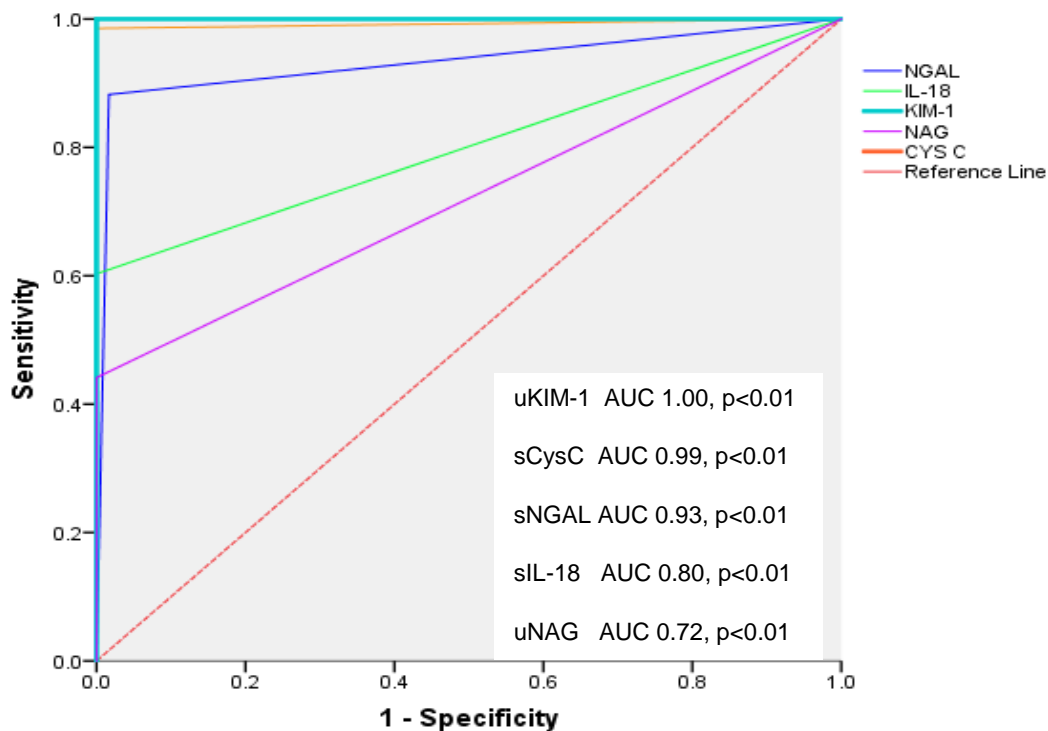
Фигура 4. ROC (receiver operator characteristic) криви при ОБУ.

Диагностична специфичност и чувствителност на uKIM-1/Scr, sCysC/Scr, sNGAL/Scr, sIL-18/Scr, uNAG/Scr по отношение диагностицирането на ОБУ, измерен между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията

Таблица 5. Площ под кривата за диференциране на пациентите с ОБУ (n=68) спрямо Scr

Биомаркери	CI 95% Доверителен интервал		Чувствителност	Специфичност
	Долна граница	Горна граница		
NGAL ROC>53.4	0.707	0.873	70.45%	87.50%
IL18 ROC>393.4	0.641	0.839	82.95%	65.00%
KIM-1 ROC>300	0.775	0.907	68.18%	100%
NAG ROC>2000	0.606	0.816	89,47%	52.53%
CysC ROC>0.96	0.781	0.912	69.32%	100%

Диференциращата способност на новите биомаркери показва голяма площ под кривата при ROC анализа при пациентите с ОБУ спрямо eGFR. С най-добра дискриминираща способност от тях е uKIM-1 AUC=1.000 [CI95% 1.000±1.000]. Неговата диагностичната стойност е еднаква с тази на eGFR. Следващият маркер, с приблизителна на uKIM-1 дискриминираща способност, е sCysC AUC=0.993 [CI95% 0.976±1.000]. Диагностичната му стойност е сходна с тази на eGFR. Следва sNGAL AUC=0.933 [CI95% 0.884±0.982], който е с много добра дискриминираща способност. С добра диференцираща стойност при ОБУ е sIL-18 с AUC=0.801 [CI95% 0.723±0.880]. С най-ниска дискриминираща стойност от изследваните показатели, при оценката на ОБУ, е uNAG AUC=0.721 [CI95% 0.632±0.809] (фигура 5, таблица 6).



Фигура 5. ROC (receiver operator characteristic) криви при ОБУ.

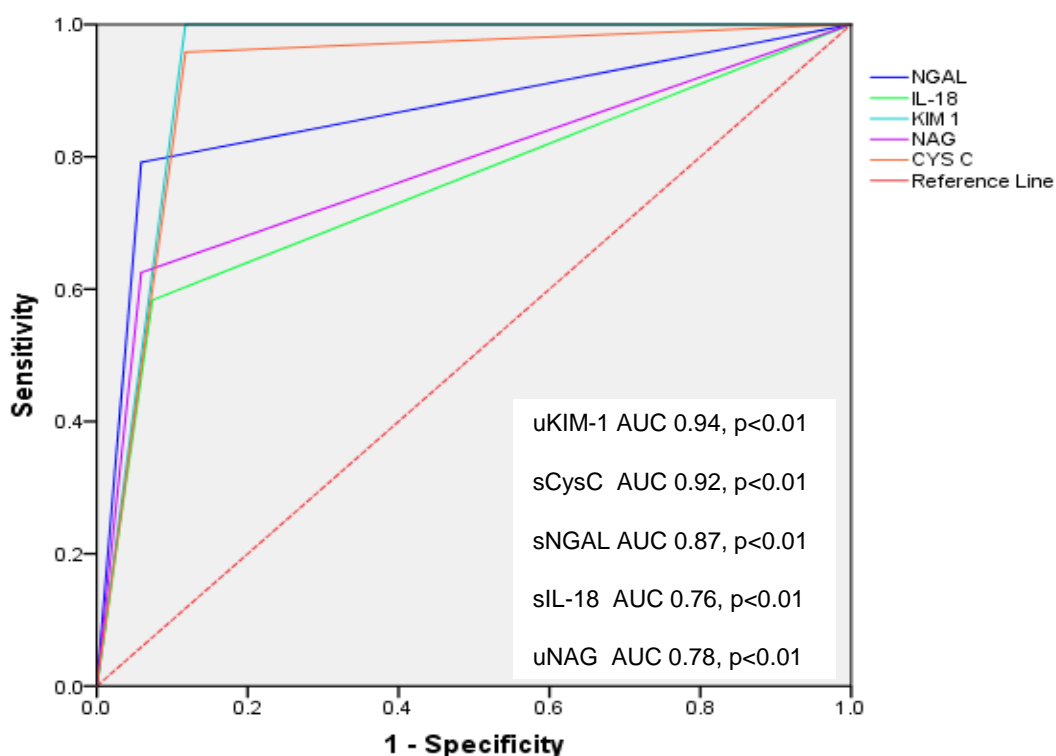
Диагностична специфичност и чувствителност на uKIM-1/eGFR, sCysC/eGFR, sNGAL/eGFR, sIL-18/eGFR, uNAG/eGFR по отношение диагностицирането на ОБУ, измерен между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията

Таблица 6. Площ под кривата за диференциране на пациентите с ОБУ (n=68) спрямо eGFR

Биомаркери	CI 95% Доверителен интервал		Чувствителност	Специфичност
	Долна граница	Горна граница		
NGAL ROC>53.4	0.884	0.982	88.24%	98.33%
IL18 ROC>393.4	0.723	0.880	60.29%	100%
KIM-1 ROC>300	1.000	1.000	100%	100%
NAG ROC>2000	0.632	0.809	44,12%	100%
CysC ROC>0.96	0.976	1.000	98.53%	100%

- **Анализ на ROC кривите при пациенти с изострено ХБЗ**

Диференциращата способност на новите биомаркери показва голяма площ под кривата при ROC анализа при групата с изострено ХБЗ спрямо Scr. При тези пациенти с най-добра диференциална способност също е uKIM-1 AUC=0.941 [CI95% 0.894±0.989]. Налице е близка до отличната диагностична способност с тази на Scr. sCysC има AUC=0.920 [CI95% 0.855±0.986] и заема второ място по диагностична достоверност. Тя също е близка до отличната. sNGAL има AUC=0.866 [CI95% 0.765±0.968] и показва много добра диференцираща стойност. uNAG има AUC=0.783 [CI95% 0.659±0.908] и демонстрира добра диференцираща способност. sIL-18 има AUC=0.755 [CI95% 0.626±0.883] и също показва добра дискриминираща способност (фигура 6, таблица 7).

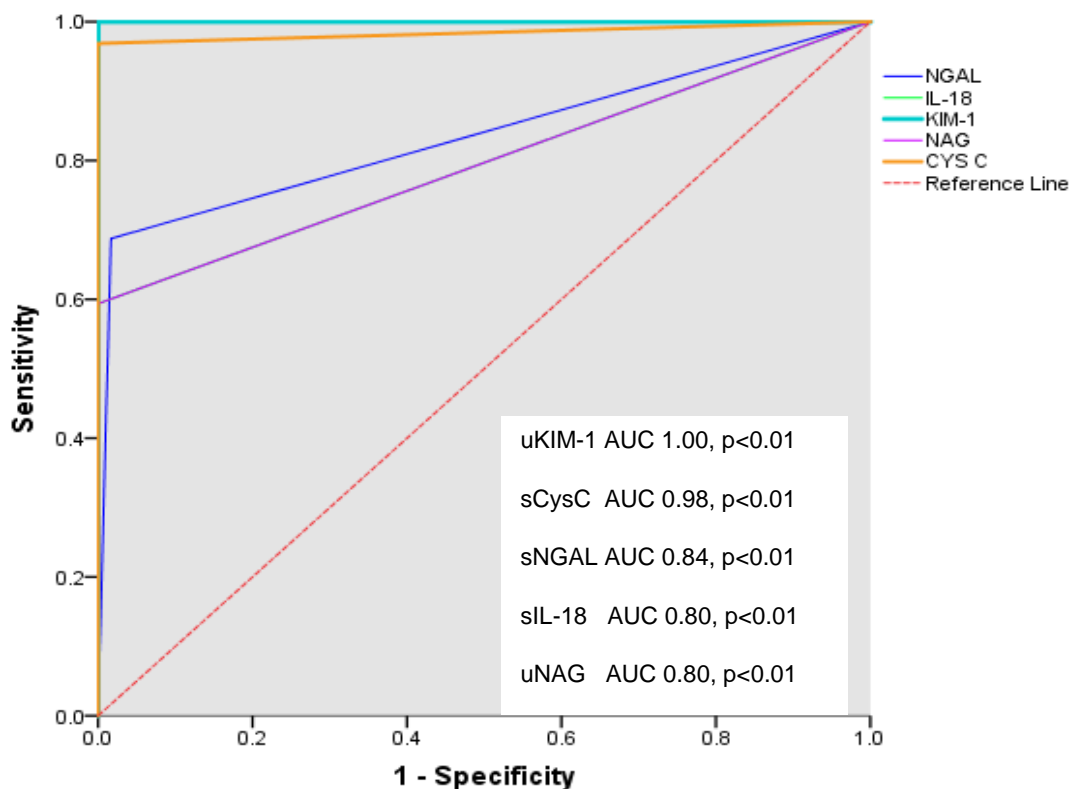


Фигура 6. ROC (receiver operator characteristic) криви при изострено ХБЗ. *Диагностична специфичност и чувствителност на uKIM-1/Scr, sCysC/Scr, sNGAL/Scr, sIL-18/Scr, uNAG/Scr по отношение диагностицирането на ОБУ, измерени между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията.*

Таблица 7. Площ под кривата за изследваните биомаркери при изострено ХБЗ спрямо Scr

Биомаркери	CI 95% Доверителен интервал		Чувствителност	Специфичност
	Долна граница	Горна граница		
NGAL ROC>53.4	0.765	0.968	94,12%	79.17%
IL18 ROC>393.4	0.626	0.883	92.65%	58.33%
KIM-1 ROC>300	0.894	0.989	88.24%	100%
NAG ROC>2000	0.659	0.908	94.12%	62.50%
CysC ROC>0.96	0.855	0.986	88.24%	95.83%

Диференциращата способност на новите биомаркери показва голяма площ под кривата при ROC анализа при групата с изострено ХБЗ спрямо eGFR. При тези пациенти с най-добра диференциална способност също е uKIM-1 AUC=1.000 [CI95% 1.000±1.000]. Налице е съвпадение с диагностичната стойност на креатининовия клирънс, както в групата с ОБУ. sCysC AUC=0.984 [CI95% 0.949±1.000] заема второ място по диагностична достоверност. Тя е подобна с тази на eGFR. sNGAL има дискриминираща стойност AUC=0.835 [CI95% 0.734±0.937]. Тя е по-ниска в сравнение с групата на пациентите с ОБУ. sIL-18 и uNAG са с еднаква диференциална способност AUC=0.797 [CI95% 0.686±0.908] (фигура 7, таблица 8).



Фигура 7. ROC (receiver operator characteristic) криви при изострено ХБЗ. Диагностична специфичност и чувствителност на uKIM-1/eGFR, sCysC/eGFR, sNGAL/eGFR, sIL-18/eGFR, uNAG/eGFR по отношение диагностицирането на изострено ХБЗ измерени между 6-ти и 24-ти час от хоспитализацията;

Таблица 8. Площ под кривата за изследваните биомаркери при изострено ХБЗ спрямо eGFR

Биомаркери	CI 95% Доверителен интервал		Чувствителност	Специфичност
	Долна граница	Горна граница		
NGAL ROC>53.4	0.734	0.937	68,75%	98.33%
IL18 ROC>393.4	0.686	0.908	59.38%	100%
KIM-1 ROC>300	1.000	1.000	100%	100%
NAG ROC>2000	0.686	0.908	59.38%	100%
CysC ROC>0.96	0.949	1.000	96.88%	100%

Пациентите с изострено ХБЗ по време на хоспитализацията имат сигнификантно по-лоша прогноза, свързана с голям дългосрочен риск от ХД лечение и смърт. Болните с ХБЗ, често могат да влошат бъбречната функция, което налага допълнително наблюдение и изследване. Добрата клинична практика изисква мониториране на ХБЗ, което е сред водещите причини за изява на ОБУ. Това налага търсене на нови БМ, които могат да идентифицират продължителността на увредата и прогресията на ХБЗ до различните стадии.

✓ **Сравнение на нивата на 5-те биомаркера по продължителност и степен на влошаване на ХБЗ**

Анализираха се нивата на изследваните БМ при пациенти с изострено ХБЗ с различна продължителност и степен на влошаване на бъбречната функция.

• **Нива на маркерите в зависимост от продължителността на ХБЗ**

Лицата с изострено ХБЗ са разпределени в две групи по отношение продължителността на предшестващото ХБЗ (документация за минали заболявания): с продължителност до 2 години и болни с над 3-годишна давност. Тези с 2-годишна продължителност са общо 12 лица (37.5%), а болните с ≥ 3 -годишна давност са 20 (62.5%). Резултатите са представени в таблица 9.

Таблица 9. Нива на маркерите при различна продължителност на ХБЗ.

Маркер	Продължителност до 2 г.	Продължителност над 3 г.	Ниво на значимост p
IL-18	495.012±382.258	410.878±165.158	0.482
KIM-1	1.373; 2.624	1.587;3.225	0.366
NAG	1174.764±1021.198	1326.146±946.777	0.674
NGAL	112.454±61.557	145.729±86.348	0.253
CysC	3.042±1.350	2.930±1.275	0.815

* Me; IQR

От проведения непараметричен анализ не се наблюдават статистически значими различия в нивото на БМ при пациентите с различна продължителност на ХБЗ.

- **Нива на маркерите по стадии на изострено ХБЗ**

Пациентите с изострено ХБЗ са разпределени в три стадия съобразно AKIN критериите за нарастване на серумния креатинин. Стадий 1-нарастване на Scr с $\geq 27 \mu\text{mol/l}$ имат 11 пациенти (34.4%); стадий 2- покачване на Scr $\geq 44 \mu\text{mol/l}$ се отчита при 15 болни (46.9%) и 3-ти стадий-повишаване на Scr с $\geq 354 \mu\text{mol/l}$ имат едва 6 пациенти (18.8%). В таблица 10 са представени средните стойности на БМ.

Таблица 10. Средни стойности на БМ по стадии на ХБЗ

Маркери	Стадий	Брой пациенти	M/Me*	SD/IQR *	p
IL-18	1	11	374.295	120.890	p=0.820
	2	15	20.938	213.352	
	3	6	404.708	211.880	
CysC	1	11	1.966	0.933	p=0.03
	2	15	2.877	0.926	
	3	6	3.828	1.256	
NAG	1	11	736.254	1002.665	p=0.05
	2	15	1474.951	903.003	
	3	6	1355.415	1000.487	
NGAL	1	11	67.987	22.953	p=0.04
	2	15	148.767	86.639	
	3	6	172.847	77.952	
KIM-1	1	11	1.410	0.981	p=0.847
	2	15	1.305	1.224	
	3	6	1.187	1.554	
Scr	1	11	195.18	55.46	p=0.01
	2	15	422.20	137.64	
	3	6	808.83	189.780	

От извършения ANOVA и непараметричен анализ, статистически достоверни различия се демонстрират в нивата на sCysC (p=0.03), sNGAL (p=0.04), и uNAG (p=0.05) при болните по

стадий на изострена ХБЗ. Не се отбелязват статистически различия в нивата на sIL-18 ($p=0.820$) и uKIM-1 ($p=0.847$) в различните стадии.

При множествоно сравняване на стойностите на маркерите между всеки от отделните стадии на ХБЗ с LSD-тест и тест на Bonferroni се установяват значими различия в нивата на sCysC между 1-ви и 2-ри стадий ($p=0.028$), 1-ви и 3-ти ($p=0.001$), както и между 2-ри и 3-ти стадий ($p=0.05$). Намират се и значими различия в нивата на sNGAL при сравнение на 1-ви с 2-ри стадий ($p=0.005$), както и на 1-ри с 3-ти ($p=0.05$) стадий ХБЗ. Не се отбелязват сигнификантни разлики в нивото на маркера между 2-ри и 3-ти стадий. При uNAG се отбелязват различия между 1-ви и 2-ри, както и между 1-ви и 3-ти стадии. При анализ на стойностите на sNGAL и sCysC прави впечатление, че те нарастват правопрпорционално на стадия.

✓ **Корелации между 5-те БМ със Scr и eGFR при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ**

БМ като проява на структурна увреда бяха оценени при ОБУ и изострено ХБЗ. Стойностите над горнореферентната граница, определена от производителя, се приеха за повишени. Потърсихме количествена зависимост между изследваните БМ със серумния креатинин и eGFR, които се прилагат рутинно в ежедневната клинична практика.

• **Корелации на 5-те БМ със Scr и eGFR при пациентите с ОБУ (n=68)**

Потърсиха се корелации на 5-те БМ със Scr и eGFR при пациентите с ОБУ-68 лица. Анализираха се нивата на изследваните биомаркери и стойностите на Scr и на eGFR, за да се установи съществуват ли значими зависимости между тях.

- **Корелации на маркерите със Scr:**

От извършения анализ се установява значима зависимост между серумния креатинин и sCysC ($R=0.64$, $p=0.001$) и умерена зависимост с sNGAL ($R=0.44$, $p=0.05$). От анализа на непараметричните променливи се намира умерена зависимост между креатинина и sIL-18 ($\rho=0.30$, $p=0.03$). uKIM-1 и uNAG не показват връзка с креатинина (таблица 11).

Таблица 11. Корелация на 5-те БМ със Scr при ОБУ

		CysC mg/l	IL-18 pg/ml	KIM-1 ng/ml	NAG Miu/ml	NGAL ng/ml
Креатинин	Корелационен коэффициент R	0.643**	0.302*	0,191	0,187	0,441
	Значимост P	0,001	0,03	0,118	0,128	0,05
	Брой лица	68	68	68	68	68

- **Корелация на маркерите с eGFR:**

Установява се значима зависимост между sCysC и eGFR, като sCysC показва силна отрицателна връзка с него. sIL-18 и sNGAL имат умерена отрицателна зависимост с eGFR. uKIM-1 и uNAG не показват зависимост с показателя (таблица 12).

Таблица 12. Корелация на 5-те биомаркера със eGFR при ОБУ

		CysC mg/l	IL-18 pg/ml	KIM-1 ng/ml	NAG Miu/ml	NGAL ng/ml
Гломерулна филтрация	Корелационен коэффициент R	0.781**	-0.302*	0,138	0,151	-0,456
	Значимост P	0,001	0,03	0,263	0,218	0,01
	Брой лица	68	68	68	68	68

- **Корелации на 5-те БМ със Scr и eGFR при пациентите с изострено ХБЗ (n=32)**

- **Корелация на маркерите със Scr:**

От анализа на параметричните показатели се намери значима корелация на Scr с sCysC ($R=0.659$, $p=0.001$) и умерена с sNGAL ($R=0.482$, $p=0.05$). При изследваната група липсват корелационни зависимости между непараметричния uKIM-1 и параметричните показатели – sIL-18 и uNAG с креатинина.

- **Корелации на маркерите с eGFR:**

Креатининовият клирънс демонстрира голяма отрицателна зависимост с sCysC ($R=-0.820$, $p=0.001$) и значителна, също отрицателна зависимост с sNGAL ($R = -0.544$, $p=0.01$). Умерена отрицателна зависимост се наблюдава и с uNAG ($R = -0.404$, $p=0.02$) (таблица 13).

Таблица 13. Корелации на eGFR с sCysC, sNGAL и uNAG

		CysC mg/l	NGAL ng/ml	NAG Miu/ml
Гломерулина филтрация	Корелационен коефициент R	-0.820	-0,544	-0,405
	Значимост P	0,001	0, 01	0,02
	Брой лица	32	32	32

✓ **Корелация между 5-те БМ, зависимост с други клинични и лабораторни показатели при болните с ОБУ и изострено ХБЗ**

Анализирани са зависимостите на петте биомаркера както помежду им, така и с други клинични и лабораторни параметри при цялата пациентска популация, при болните с ОБУ и тези с изострено ХБЗ. Установяват се редица корелации.

- **Корелации на БМ помежду им, зависимост с клинични и лабораторни показатели при пациентите с ОБУ**

Анализираха се стойностите на изследваните биомаркери и стойностите на урея, пикочна киселина, рН на кръвта, ВЕ, серумен К, САН, ДАН, диуреза, възраст и ВМІ, за да се установи съществуват ли значими зависимости между отделните биомаркери от една страна и клиничните и лабораторни показатели от друга. Потърси се и корелация между БМ и прилаганото лечение.

- **Параметричните променливи:**

Намира се умерена зависимост между параметричния sCysC и непараметричния показател sIL-18 ($\rho=0.361$, $p=0.03$), като корелацията е позитивна-с нарастване на sIL-18 се увеличава и sCysC. Наблюдава се обратна корелация между стойностите на sCysC със sNGAL ($R=-0.278$, $p=0.055$), които са на границата на статистическата достоверност.

Не се установяват значими корелации при останалите БМ.

Намират се значими зависимости между sCysC и параметрите урея, пикочна киселина, ВЕ, диуреза и възраст.

Значителна е зависимостта на маркера с уреята. sCysC демонстрира умерена зависимост с пикочна киселина и възраст. Налице е умерена отрицателна връзка с рН на кръвта, ВЕ и диуреза (таблица 14).

Таблица 14. Корелация на sCysC с клинични и лабораторни показатели при пациентите с ОБУ

CysC	Урея	Пикочна киселина	pH на кръвта	BE	Диуреза	Възраст
Корелационен коефициент R	0.586	0.301	-0.464	-0.531	-0.329	0.363
Ниво на значимост P	0.001	0.01	0.01	0.001	0.05	0.03

- **Непараметрични променливи**

Установява се умерена отрицателна зависимост на непараметричния показател sIL-18 с pH на кръвта и BE (таблица 15).

Таблица 15. Корелация на sIL-18 с клинични и лабораторни показатели при пациентите с ОБУ

IL-18	CysC	pH на кръвта	BE
Корелационен коефициент ρ	0.361	-0.370	-0.345
Ниво на значимост P	0.03	0.02	0.04

sNGAL показва умерена зависимост с диурезата R 0.324, $p=0.05$ и с BMI R 0.349, $p=0.04$ (таблица 16).

Таблица 16. Зависимост на NGAL с клинични показатели при пациентите с ОБУ.

NGAL	Диуреза	BMI
Корелационен коефициент R	0.324	0.349
Ниво на значимост P	0.05	0.04

NAG в урина показва умерена корелация с пикочна киселина и възраст, като при последните два параметъра връзката е отрицателна, отразено в таблица 17.

Таблица 17. Корелация на uNAG с клинични и лабораторни показатели при пациентите с ОБУ

NAG	Възраст	Пикочна киселина
Корелационен коефициент ρ	-0.342	-0.321
Ниво на значимост P	0.04	0.05

uKIM-1 не показва корелация с никой от оценяваните клинични и лабораторни показатели.

- **Корелации на БМ по между им, зависимост с клинични и лабораторни показатели при пациентите с изострено ХБЗ**

Потърси се корелация между проучваните БМ, както по между им, така и с останалите клинични и лабораторни показатели при

пациентите с изострено ХБЗ. Анализира се и връзка между БМ и прилаганото лечение (антихипертензива, диуретици, НСПВС, урикозурици, АБ, КС, цитостатици).

sCysC разкрива значима положителна зависимост със sNGAL и uNAG. Не се регистрират значими корелации с останалите маркери. Връзката на sCysC с урея също е значителна. В таблица 18 е представена зависимостта на маркера със sNGAL, uNAG и урея.

Таблица 18. Корелация на sCysC с останалите БМ и лабораторни показатели при пациентите с изострено ХБЗ

CysC	NGAL	NAG	Урея
Корелационен коефициент R	0.585	0.572	0.618
Ниво на значимост P	0.05	0.05	0.001

sNGAL се характеризира с еднаква, значителна по степен корелация с урея и BE и умерена с рН на кръвта, като с последните два показателя зависимостта е обратна (таблица 19).

Таблица 19. Корелация на sNGAL с лабораторните показатели при болните с изострено ХБЗ

NGAL	Урея	рН на кръвта	BE
Корелационен коефициент R	0.549	-0.423	-0.539
Ниво на значимост P	0.01	0.02	0.001

sIL-18 проявява умерена по сила зависимост със САН и ДАН представена на таблица 20.

Таблица 20. Корелация на sIL-18 със САН и ДАН

IL-18	САН	ДАН
Корелационен коефициент R	0.360	0.420
Ниво на значимост P	0.04	0.02

При uNAG се отчита умерена отрицателна връзка с възрастта и САН, представена в таблица 21.

Таблица 21. Корелация на uNAG с клинични параметри при болните с изострено ХБЗ.

NAG	Възраст	САН
Корелационен коефициент R	-0.437	-0.335
Ниво на значимост P	0.04	0.05

При uKIM-1 се установява ниска степен на корелация с оценяваните клиничните и лабораторни показатели.

Не се отбелязва зависимост на изследваните биологични маркери с прилаганите антихипертензивни средства, КС и цитостатици при нито една от групите пациенти, $p > 0.05$

- ✓ **Оценка на различия в нивата на БМ при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ с различни причини за бъбречна увреда.**

Потърсиха се различия в стойностите на БМ при пациентите с ОБУ и изострено ХБЗ с различни причини за бъбречна увреда.

- Сравнение на стойностите на 5-те БМ между отделните групи заболявания, довели до изява на ОБУ

При сравнение на средните стойности на параметрично разпределените показатели sNGAL и sCysC между отделните патофизиологични групи, се установяват съществени различия само за стойностите на sNGAL ($F=2,62$; $p=0,03$). Нивата на sCysC са високи при всички пациенти и не показват статистически значими разлики между отделните групи. (таблица 22)

Таблица 22. Средни стойности на NGAL при различните заболявания довели до ОБУ

Заболявания	Стойности на NGAL ng/ml
<i>Първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром</i>	173.46
<i>Остър тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония</i>	195.63
<i>Исхемично ОБУ</i>	169.90
<i>Системен васкулит на малките съдове с първо бъбречно засягане</i>	130.28
<i>Остра миеломна нефропатия</i>	105.82
<i>Остра медикаментозна нефропатия</i>	106.52

Анализът продължи с оценка на различията между отделните групи за двата биомаркера. Стойностите на sNGAL при пациентите с първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром са значимо по-високи в сравнение с болните с остра миеломна нефропатия, където има тубуло-интерстициални промени. Маркерът е завишен и в групата с остра медикаментозна нефропатия като причина за развитие на ОБУ, (p остра миеломна

нефропатия=0,05; $p_{\text{остра медикаментозна нефропатия}}=0,05$). Значими разлики се наблюдават в нивата на sNGAL при сравнение между пациентите с остър тубулоинтерстициален нефрит, спрямо групите с остра миеломна нефропатия и остра медикаментозна нефропатия. Намират се завишени нива на маркера в двете групи, които достигат статистически достоверни различия, ($p_{\text{остра миеломна нефропатия}}=0,011$; $p_{\text{остра медикаментозна нефропатия}}=0,011$).

При сравняване на групите исхемично ОБУ и тези с остра миеломна нефропатия се установяват сигнификантни разлики в стойностите на sCysC в групата с миеломен бъбрек, ($p_{\text{остра миеломна нефропатия}}=0,02$).

Стойностите на sCysC при пациентите с остра миеломна нефропатия са гранични при сравнение на болните с първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром и остър тубулоинтерстициален нефрит ($p_{\text{първични гломерулни болести с нефритен синдром}}=0,054$; $p_{\text{остър тубулоинтерстициален нефрит}}=0,058$).

При сравнение на средните стойности на непараметричните показатели sIL-18, uNAG и sKIM-1 между различните нозологични групи не се намериха съществени различия.

- **Сравнение на стойностите на 5-те БМ между отделните групи заболявания, довели до изява на изострено ХБЗ**

За показателите с непараметрично разпределение се направи анализ с тест на Kruskal-Wallis и Independent Median test. Стойностите на sIL-18 при пациентите с исхемична увреда като причина за обостряне на ХБЗ са значимо по-високи в сравнение с тези при пациентите с хроничен тубулоинтерстициален нефрит, като различията са на границата на статистическата достоверност, ($p_{\text{хроничен тубулоинтерстициален нефрит}}=0,052$; $p_{\text{исхемия}}=0,052$).

Значими разлики при sIL-18 се наблюдават при сравнение между пациентите със системен васкулит в непълна ремисия и исхемична увреда, спрямо другите нозологични групи. При пациентите с тези две заболявания са налице по-високи нива на

маркера, които достигат статистическа значимост, ($p_{\text{системен васкулит в непълна ремисия}}=0,026$; $p_{\text{исхемия}}=0,026$).

От проведеното сравнение на средните стойности на останалите показатели с непараметрично разпределение uKIM-1 и uNAG с тест на Kruskal-Wallis и Independent Median test не се установяват сигнификантни различия при отделените патофизиологични групи. При сравнение на средните стойности на параметрично разпределените показатели sNGAL и sCysC между различните нозологични групи няма съществени различия.

ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от нашето изследване допринасят за надграждане и обогатяване на теоретично-практическите аспекти при такъв клинично значим проблем като ОБУ и изострено ХБЗ.

Налице са аналитични затруднения свързани с всеки специфичен БМ. От друга страна няма единно мнение по отношение на референтен показател, спрямо който биомаркерите да бъдат оценявани. Понастоящем Scr се използва като стандарт за клиничната оценка на тези биомаркери. Наскоро приключили проучвания установиха голям брой нови биомаркери в серум и урина, които могат да предвидят изявата и прогресията на ОБУ. Те са в различни етапи на развитие и валидизация.

sCysC се счита по-скоро за маркер за БФ, отколкото за тубулна увреда. Не зависи от извънбъбречни фактори и придружаваща чернодробна патология. При повишаване на нивото му с над 10%, той е независим предиктор за неблагоприятно голямо събитие като смърт или заместителна терапия през първата година след изявата на ОБУ. Повишената концентрация на CysC в серума при пациенти с ОБУ е белег за неблагоприятно развитие на заболяването и налага започването на бъбречно заместителна терапия в по-ранна фаза, преди развитие на олигурия.

sNGAL се експресира в бъбречните тубули след токсична, исхемична увреда или след бъбречна трансплантация (БТ). Веднага след началото на ОБУ m-RNA на NGAL се повишава значително в бримката на Хенле и проксималните тубули и води до повишен синтез и екскреция на NGAL в урината. Проучванията при хора определят NGAL като биологичен маркер за ранно диагностициране, терапевтично мониториране и прогноза при ОБУ. При възрастни с доказано ОБУ се наблюдава 10-тократно повишаване на концентрацията на NGAL в серума.

sIL-18 е инфламаторен цитокин, който се повишава при ОБУ. Неговата роля в патогенезата на ОБУ е демонстрирана в експериментални животински модели с исхемично-реперфузионна увреда. При тях е доказано, че потискането на неговата синтеза предпазва бъбрека от увреждане. От всички цитокини IL-18 е смятан за най-подходящ при диагностицирането на ОБУ.

uKIM-1 е трансмембранен гликопротеин, който се синтезира в проксималния тубул и се освобождава в урината при исхемично и нефротоксично увреждане. Поради това се счита, че уринният KIM-1 е по-чувствителен и специфичен БМ отколкото SCr. Той не се открива при здрави индивиди. Повишената експресия и усилена синтеза на KIM-1 възниква в зони на тубулоинтерстициални лезии с възпаление и фиброза. Индукцията на KIM-1 нараства при остро настъпила лезия и при значима протеинурия. KIM-1 е обещаващ, сензитивен и специфичен маркер за ОБУ при хора. На практика маркерът остава непроменен от физичните и химичните качества на урината и нейните компоненти.

NAG се откриват в урината във високи концентрации при увреждане на тубулните клетки в резултат на нефротоксични агенти (лекарства, контрастна материя, тежки метали), както и при диабетна нефропатия, обструктивна уропатия, отхвърляне на алографта, артериална хипертония (АХ). Повишаването му е ранен признак на тубулно засягане. Уринният NAG е ценен за оценка на гломерулната функция при диагностициране на ХБЗ. За разлика от другите уринни ензими, които се филтрират през гломерула, повишените концентрации на NAG в урината отразяват тубулна дисфункция.

Основните акценти в обсъждането на резултатите могат да се групират в следните пет направления:

I. Оценка на петте БМ за диагностициране на ОБУ и изострено ХБЗ с хетерогенна етиология, както и тяхната специфичност и чувствителност.

В групата с ОБУ всички изследвани БМ показват много добра диагностична способност. Най-демонстративно се отличава uKIM-1, който е завишен при всички пациенти с ОБУ. Тези резултати се подкрепят от редица клинични изпитвания. При проучване сред пациенти с ОБУ нивата на uKIM-1 са значително завишени, в сравнение със здравите контроли (Vaidya VS et al 2006).

В нашето изследване sCysC се представя много убедително. Маркерът се позитивира между 6-ти и 24-ти час при 98.5% от

болните спрямо здравите контроли. По литературни данни серумните нива на CysC могат да бъдат използвани за регистриране на бъбречна дисфункция при пациенти с ОБУ в първите 24-48 часа (Coca SG et al 2008).

В нашето проучване sNGAL се позитивира значимо при 88.2% от пациентите с ОБУ в сравнение със здравите контроли. След обработване на резултатите, и при двете групи лица се получиха статистически значими разлики за sNGAL с очаквано по-високи стойности при болните. Mori et al 2005 са провели срезово проучване с изследване на серумен и уринен NGAL при пациенти с известна ОБУ. Техните резултати показват маркантно завишаване стойностите и на двете форми на NGAL в сравнение със здравите контроли. Скорошни студии предлагат NGAL като надежден диагностичен и прогностичен маркер за ОБУ (Devarajan P et al 2010). ADQI-Guidelines препоръчват използването на NGAL при пациенти със suspectен ОБУ синдром като ранен, надежден, изпитан маркер за бъбречна увреда (Ronco C et al 2010). Диагностичната способност на NGAL сигнификантно се подобрява, когато се изследва едновременно с uKIM-1 и uNAG (AUC 0,780) (Han WK et al 2009). Има нужда от по-големи клинични изследвания, които прецизно да дефинират референтните граници на двете форми на NGAL, коректната интерпретация в техните отклонения, както и да потвърдят, че NGAL е тропнина на бъбрека. В настоящия труд предлагаме комбинацията uKIM-1 и uNAG като панел за повишаване на диагностичната надеждност при изострено ХБЗ.

В нашето изследване sIL-18 е завишен при 60.3% в групата с ОБУ в сравнение със здравите доброволци. Подобни са резултатите от срезово проучване на Parikh CR et al 2004, включващо 72 пациенти, при които IL-18, е сигнификантно по-висок при пациентите с ОБУ спрямо здравите контроли. Doi K et al 2012 публикуват резултати от проспективно проучване при кохорта от 337 пациенти. Болните са били с ОБУ и транзиторна ОБУ (възстановяване на бъбречната функция до 48 ч) с различна етиология. Поради тежко увредено състояние те са лекувани в отделение за интензивни грижи. IL-18, както и останалите оценявани БМ (NGAL, NAG, L-

FABP) показват сигнификантно повишени нива в двете групи болни в сравнение с болни без ОБУ.

В проучването ни uNAG се позитивира само в 44.1% от пациентите с ОБУ в сравнение със здравите контроли. Този резултат е неочакван за нас, предвид литературните данни, че uNAG е високо чувствителен за диагностицирането на ОБУ. При активна бъбречна болест нивата на NAG в урината остават трайно високи.

Измерването на петте проучвани показателя в серум и урина в първите 24 часа от регистриране на увреждането, показват много висока специфичност и чувствителност по отношение диагностицирането на ОБУ.

Проведеното от нас изследване установи висока AUC на биопараметрите при изчисляване на съотношенията спрямо Scr. ROC-анализът показва AUC за sCysC/Scr 0.85 ($p < 0.001$), за uKIM-1/Scr 0.84 ($p < 0.001$), за sNGAL/Scr 0.79 ($p < 0.001$), за sIL-18/Scr 0.74 ($p < 0.001$) и за NAG/Scr 0.71 ($p < 0.001$).

Нашето наблюдение демонстрира много висока AUC на маркерите при изчислените съотношения спрямо GFR при болните с ОБУ. ROC-анализът разкри AUC за uKIM-1/GFR 1.00 ($p < 0.001$), за sCysC/ GFR 0.99 ($p < 0.001$), за sNGAL/GFR 0.93 ($p < 0.001$), за sIL-18/GFR 0.80 ($p < 0.001$) и за NAG/GFR 0.72 ($p < 0.001$).

При всички болни с **изострено ХБЗ** в нашето проучване uKIM-1 е висок. Експериментални студии предполагат, че uKIM-1 може да е индикатор за преминаване на ОБУ в ХБЗ. Изискват се допълнителни проучвания, обхващащи по-голяма популация пациенти, за оценка на uKIM-1 като маркер за ХБЗ.

При 96.9% от пациентите с изострено ХБЗ sCysC е с много високи стойности, спрямо здравите доброволци. Много от маркерите, използвани за диагностициране на ОБУ, могат да бъдат приложени и за диагностиката на изострено ХБЗ. В литературата най-често предлаганите за тази цел БМ са CysC и NGAL (Bolignano D et al 2009).

В настоящия дисертационен труд прави впечатление, че sNGAL е завишен при значителна част от болните с изострено ХБЗ (68.8%). Има много литературни данни за NGAL като маркер за ХБЗ и неговата тежест. Пациенти, чакащи БТ и подлежащи на хронично ХД лечение имат сигнификантно по-високи нива на NGAL спрямо здравите контроли.

При настоящето изследване маркерът е по-силно показателен в групата с ОБУ. Wagener G et al 2008 установяват, че при мониториране нивата на NGAL е налице ясна тенденция за понижаване стойностите му на 3-ия, 18-ия и 24-ия час при пациенти с ОБУ.

При sIL-18 се отчита значимо завишаване на нивото му в групата с изострено ХБЗ. Luk CC et al 2013 също намират по-високи стойности на IL-18 при 39 пациенти с изострено ХБЗ.

Нивото на NAG в урината показва значимо нарастване при болните с изострено ХБЗ. Маркерът е завишен при 59.4% от болните в тази група, за разлика от пациентите с ОБУ, където този процент е по-нисък-44.5%. Продължават лонгитудинални проучвания за оценката на uNAG като маркер за ХБЗ.

При пациентската популация с изострено ХБЗ всички БМ са със значимо повишаване над референтните стойности. Открояват се uKIM-1 и sCysC, които се позитивират в цялата група.

Оценката на петте БМ до 24-ия час от установяване на увреждането разкрива висока специфичност и чувствителност по отношение диагностицирането на изострено ХБЗ.

Проведеното от нас изследване установи много висока AUC на биопараметрите при изчисляване на съотношенията спрямо Scr при болните изострено ХБЗ. ROC-анализът показва AUC за uKIM-1/Scr 0.94 ($p < 0.001$), за sCysC/Scr 0.92 ($p < 0.001$), за sNGAL/Scr 0.86 ($p < 0.001$), за NAG/Scr 0.78 ($p < 0.001$) и за sIL-18/Scr 0.76 ($p < 0.001$).

Резултатите демонстрират много висока AUC на маркерите при изчислените съотношения спрямо GFR при пациентите с изострено ХБЗ. ROC-анализът разкри AUC за uKIM-1/GFR 1.00 ($p < 0.001$), за sCysC/GFR 0.98 ($p < 0.001$), за sNGAL/GFR 0.86

($p < 0.001$), за sIL-18/GFR 0.80 ($p < 0.001$) и за NAG/ GFR 0.80 ($p < 0.001$).

Проучването се проведе сред неголеми пациентски групи: ОБУ (n=68) и изострено ХБЗ (n=32). Установява се, че диагностична стойност на uKIM-1/Scr (AUC=0.94) е по-голяма при изострено ХБЗ. Тя е близка до отличната, позволява разграничаването на изострено ХБЗ от ОБУ-синдрома. sNGAL/GFR демонстрира много добра, близка до отличната диагностична стойност (AUC=0.933) в групата с ОБУ, докато uNAG/Scr и uNAG/GFR показват много по-добра диагностична стойност при изострено ХБЗ.

Всеки един от изследваните БМ, измерен в съотношение със Scr и GFR, демонстрира много добра диагностична стойност, както по отношение на ОБУ, така и при изострено ХБЗ. Това налага търсене на оптимални комбинации от БМ, които с голяма точност да да разграничат ОБУ от изострено ХБЗ, рано да диагностицират ОБУ и да предвидят прогресията на заболяването към краен стадий на бъбречно увреждане.

II. В настоящия труд се оцениха промените в нивата на БМ в зависимост от продължителността на изострено ХБЗ. За целта пациентската популация беше разделена на две групи: с продължителност на предшестващото ХБЗ до две години и болни с над три годишна давност. Всички маркери демонстрират високи стойности. Резултатите установиха, че нито един от петте БМ не показва специфична динамика в зависимост от продължителността на ХБЗ.

Резултатите ни показват значими разлики в нивото на sCysC при всеки един от стадите. sNGAL и uNAG демонстрират различия при сравняване на 1-ви с 2-ри и 1-ви с 3-ти стадия. Силно впечатление прави нарастването на стойностите на sCysC и sNGAL пропорционално на стадия. В проучените от нас литературни източници не открихме публикации свързани с такива резултати. За sIL-18 и uKIM-1 не се отчитат различия в нивата им в зависимост от стадия на изострено ХБЗ.

sNGAL корелира със степента на бъбречното засягане при пациенти с ХБЗ, независимо от основната причина, довела до бъбречна дисфункция (Cernaro V et al 2016).

Luk CC et al 2013 при проучване върху 39 пациенти с хронична бъбречна недостатъчност демонстрират корелация между нивата на NGAL и тежестта на бъбречната недостатъчност.

Bolignano et al 2008 са оценили 69 пациенти с различно по степен и етиология ХБЗ. Изследван е серумен и уринен NGAL. Авторите коментират възможността sNGAL да предвиди прогресията на ХБЗ. Това го прави ценен маркер за терапевтичния отговор при различни бъбречни заболявания.

Резултатите от метаанализ, направен от Ronco et al 2014, разкриват отличната способност на sNGAL за предвиждане прогресията на ХБЗ в определени популации пациенти. Две проучвания на Bolignano 2008 и 2009 г демонстрират близката зависимост между NGAL и степента на бъбречното увреждане, която се потвърждава в кохорта от пациенти с ХБЗ.

Коментира се идеята за връзка между sNGAL и редуцираната БФ. Счита се, че тази връзка е постоянна във времето и паралелна на прогресията на ХБЗ (Bolignano D et al 2009).

Много от маркерите използвани за диагностициране на ОБУ могат да бъдат приложени и за диагностика и прогресия на ХБЗ. Такъв БМ е NGAL. Bolignano D et al 2008 намират при 96 пациенти с различна етиология на ХБЗ, че sNGAL предсказва прогресията на ХБЗ независимо от динамичните промени в GFR и възрастта. Пациентите не са били в краен стадий на бъбречно увреждане. Резултатите на авторския колектив са, че sNGAL отразява реалното бъбречно увреждане и представлява силен и независим маркер за прогресията на ХБЗ.

III. Анализира се връзката между биопараметрите със Scr и креатининов клирънс при болните с ОБУ и тези с ХБЗ. Установяват се редица зависимости и при двете групи болни.

- ✓ При пациентите с ОБУ
- Връзка между биопараметрите и Scr.

Установява се значима зависимост между Scr със sCysC и със sNGAL, както и умерена такава със sIL-18. Скорешни лонгитудинални проучвания сочат, че индивидуалните вариации на sCysC са близки до тези на SCr. Това прави sCysC по-акуратен от SCr при тези дългосрочни проследявания (Reinhard M et al 2009). sCysC е предложен от Dharnidharka 2002 и Grubb 2005 като алтернативен БМ за оценка на БФ поради неговите приемливи предимства пред SCr. Две проучвания на Dharnidharka 2002 и Grubb 2005 оценяват sNGAL като БМ за ОБУ. И двата колектива отчитат наличие на директна корелация на показателя със стойностите на SCr. В проучването на Mori et al 2011 се демонстрира връзката между нивата на sNGAL и uNGAL със Scr и eGFR. Нашите резултати също потвърждават, че този показател е много чувствителен за установено ОБУ.

Ние установяваме умерена положителна връзка между Scr и sIL-18. Parikh CR et al 2004 в проучване с 33 пациенти претърпели кардиопулмонален байпас с повишен Scr $\geq 50\%$ намират корелация между IL-18 и Scr.

- Връзка между биопараметрите и eGFR.

Намира се значима зависимост между двата БМ-sCysC и sNGAL с eGFR. Маркерите демонстрират силна отрицателна връзка с показателя. Цитираните по-горе авторски колектива (Dharnidharka 2002 и Grubb 2005) установяват силна обратна връзка на sNGAL с изчислената GFR (sNGAL/Cr R= -0.90, p=0.007).

Другият маркер, който корелира в умерена степен с eGFR, е IL-18. Не открихме данни за подобна корелация в проучените от нас литературни източници.

- ✓ При пациентите с изострено ХБЗ

- Връзка между биопараметрите и Scr.

Степента на корелация между sCysC със Scr е идентична както в групата с ОБУ. При sNGAL тази връзка е умерена.

Не се установява значима връзка между uKIM-1 и eGFR. В проучване от 2014г. на Sabbisetti V et al не се установява връзка на uKIM-1 със Scr и eGFR, което може да се дължи на по-леко протичащо увреждане. Смята се, че uKIM-1 е маркер за тубулоинтерстициална увреда “дори при пациенти с лека бъбречна дисфункция и Scr под 180 $\mu\text{mol/l}$ ”.

- Връзка между биопараметрите и eGFR

Налице е отрицателна зависимост между eGFR и три от БМ. Голяма е зависимостта му със sCysC. Маркерът е сензитивен при малки промени в GFR. Важен е фактът, че той е по-чувствителен към малките промени в т. нар. ”сляпа“ (GFR 40-70 ml/min) креатининова зона (Schwartz GJ et al 2009). Използването на комбинацията sCysC със SCr за изчисляване на GFR повишава нейната достоверност за оценка на ХБЗ (Shi B et al 2012). В нашето изследване се намира значителна зависимост между sNGAL и eGFR. Mori and Narao 2007 предлагат интересно алтернативно обяснение за значението на корелациите между биологичните нива на sNGAL и показателите за БФ, развивайки т.нар. Forest Fire Theory. Според нея повишаването на sNGAL при ХБЗ е сравнено с горски пожар и е резултат на активирането на постоянна продукция от резидуалните жизнеспособни тубулни клетки, които са “запалени“ от съпътстващата бъбречна болест. Налице е функционална загуба на тубули и нефрони, без да е настъпило сигнификантно намаляване на GFR и повишаване на SCr. Продукцията на sNGAL от тубулните клетки е индикатор в “реално време “ колко голяма е увредата и колко активно е заболяването, причинило хроничното бъбречно нарушение.

Умерена е връзката между uNAG и eGFR. Ние не намерихме данни за подобна връзка в проучената от нас литература.

IV. Установиха се важни корелационни връзки между отделните БМ и се намериха зависимости между тях с клинични и лабораторни параметри.

- Зависимости между БМ помежду им
- ✓ При пациентите с ОБУ

Намираме корелация на sCysC, sNGAL, sIL-18 и uNAG по между им. Отбелязва се умерена връзка между sCysC и sIL-18. Налице е умерена обратна корелация на sCysC с sNGAL. Papassotiriou GP et al 2016 установяват силна корелационна връзка между sCysC и sNGAL при пациенти с остра миеломна нефропатия. Нашите резултати се потвърждават по отношение на корелацията между sCysC и uNAG от изследване на Benzer M et al 2016. Авторите са изследвали деца с контраст-индуцирано ОБУ, където установяват слаба връзка между sCysC и uNAG.

В проучената от нас медицинска литература не открихме данни, потвърждаващи установената от нас корелационна връзка между sCysC и sIL-18.

✓ При пациентите с изострено ХБЗ

sCysC разкрива значима положителна корелация със sNGAL и uNAG. Тук, за разлика от групата с ОБУ, маркерът не показва зависимост с sIL-18.

➤ Зависимост на биомаркерите с клинични параметри

✓ При пациентите с ОБУ:

С помощта на корелационен анализ се установява умерена корелация между възрастта и нивата на sCysC и uNAG в първите 24 часа от увреждането при пациентите с ОБУ.

В настоящето проучване sCysC демонстрира умерена отрицателна зависимост с диурезата. Връзката на sNGAL с този параметър е положителна. Не открихме литературни източници оценяващи изследваните от нас корелационни връзки.

✓ При пациентите с изострено ХБЗ:

С помощта на корелационен анализ се установява умерена отрицателна степен на корелация между възрастта и измерените нива на uNAG в първите 24 часа от настъпване на увредата при пациентите с изострено ХБЗ. Не намерихме литературни данни описващи подобни корелационни зависимости.

➤ Зависимост на биомаркерите с други лабораторни показатели

✓ При пациентите с ОБУ

В настоящето изследване се установява значима зависимост на sCysC с урея. Нашите резултати са подобни на данните от проучване на Shu Chen et al 2015, които са намерили сигнификантна корелация между sCysC и урея при 57 болни с ОБУ след травматичен шок. uNAG и sCysC демонстрират умерена връзка с пикочната киселина. В проучените литературни източници не намерихме зависимости, подобни на установените от нас.

✓ При пациентите с изострено ХБЗ

Уреята демонстрира значителна зависимост със sCysC и sNGAL. От направената справка не намираме данни по отношение на установената от нас зависимост.

V. Оцениха се различията в нивата на БМ при пациенти с ОБУ и изострено ХБЗ в резултат на различни причини за бъбречна увреда.

➤ При пациенти с различни причини за развитието на ОБУ

Отбелязват се значими разлики в нивата на sNGAL и sCysC между отделните нозологични групи. Очаквано най-високи стойности на двата серумни показателя се регистрират в групите със съпътстваща есенциална хипертония и остър тубулоинтерстициален нефрит, исхемично ОБУ и първични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром. Тези резултати се потвърждават от литературни данни, сочещи че sNGAL се експресира в бъбречните тубули след токсична или исхемична увреда (Mishra J et al 2003, 2004). NGAL се приема като маркер и за гломерулна патология поради токсичния ефект, който протеинурията оказва върху тубулните клетки. По-високите стойности на sNGAL при болните с остър тубулоинтерстициален нефрит като причина за ОБУ, може да се обяснят и от скорошни проучвания, които свързват маркера с възпалителен процес на тубулоинтерстициалния апарат на бъбреците. През 2011 Tadesse et al регистрират повишена експресия на NGAL след като бъбречните структури са били изложени на медиатори на възпалението.

Вероятно намерените при нас несигнификантно повишени стойности на NGAL и CysC при пациентите с остра миеломна нефропатия и остра медикаментозна нефропатия, могат да се обяснят с по-малкия брой болни в тези групи.

Проучването установява вариации в стойностите на uNAG между отделните патофизиологични групи. Маркерът се представя с най-високи стойности в групите с остра миеломна нефропатия и остра медикаментозна нефропатия като причини за възникване на ОБУ. Тези резултати се подкрепят от литературни източници, в които се потвърждава, че високи уринни концентрации на NAG се установяват след увреждане на тубулните клетки както от нефротоксични агенти (Hong JD et al 2012), така и от кумулация на леки вериги. Ние установяваме, че uNAG има високи стойности при ОБУ, възникнало в резултат на гломерулно засягане или васкулит. Сходни данни са получили Hultberg B et al при проучване на 109 болни с различни форми на гломерулонефрит, при които uNAG демонстрира висока уринна концентрация. Изследователите изказват хипотезата, че този резултат вероятно е свързан с абнормен транспорт на протеини, които причиняват тубулна токсичност.

В настоящето изследване не се регистрират повишени нива на uNAG при пациентите остър тубулоинтерстициален нефрит и исхемично ОБУ.

Внимание заслужава факта, че при никой от бъбречно трансплантираните пациенти в проучването ни, не се установяват високи уринни нива на NAG. Kwiatkowska et al 2014 счита, че uNAG може да се използва като БМ за исхемично-реперфузионно увреждане на графта, асоцииращо се с по-бързо протичаща хронична дисфункция.

Възможно обяснение за нормалните нива на uNAG при нашите пациенти претърпяли БТ е добрият ефект от провежданото комплексно лечение на тази специфична популация.

При нас sIL-18 не показва значими различия в отделните патофизиологични групи при ОБУ. Обратно, в няколко литературни източника се застъпва тезата, че той може да се използва като

маркер за разграничаване причината довела до остро влошаване, тъй като серумните му нива не се повлияват от съществуваща преренална азотемия, ХБЗ, уринарни инфекции или нефрозен синдром (Parikh CR et al 2005).

➤ При пациенти с различни причини за изострено ХБЗ.

Крайно неочакван за нас е резултатът, че при пациентите с изострено ХБЗ единствено sIL-18 демонстрира сигнификантни разлики при две от нозологичните групи. Той е най-висок при болните със системен васкулит в непълна ремисия и исхемично ОБУ с предшестващо ХБЗ. Свързваме този резултат с факта, че имунният отговор играе ключова роля в патогенезата на двете състояния чрез продукцията на проинфламаторни цитокини и хемокини (Wu H et al 2008).

В групата с изострено ХБЗ в нашето изследването, uNAG има значимо по-високи стойности при болните с първични гломерулни болести с рецидив, протичащи с влошена бъбречна функция. По-високи стойности на показателя се отбелязват и при пациентите с хроничен тубулоинтерстициален нефрит като причина за изостряне на съществуващото ХБЗ. Вероятно обяснение на тези резултати са напреднали тубулни увреждания с изява на по-висока протеинурия, както и по-голямата загуба на нефрони.

Поради малкия брой пациенти във всяка от патофизиологичните групи не могат да се отчетат статистически значими разлики в стойностите на uNAG, както за пациентите с ОБУ, така и за болните с изострено ХБЗ.

Стойностите на uKIM-1 са значимо високи във всички изследвани патофизиологични групи както при ОБУ, така и при изострено ХБЗ. На базата на отчетените резултати в нашето проучване, ние имаме основание да приемем, че uKIM-1 не показва специфичност в разграничаването на различни патофизиологични състояния.

ИЗВОДИ

1. uKIM-1 и sCysC се отличават с максимална чувствителност и специфичност като маркери както за ОБУ, така и за изострено ХБЗ.
 - за повишаване диагностичната надеждност при ОБУ може да се предложи панел: sCysC+sNGAL или uKIM-1 +sNGAL;
 - при изострено ХБЗ се откроява и uNAG. За повишаване на диагностичната надеждност при изострено ХБЗ може да се предложи панел на uKIM-1 + uNAG или sCysC +uNAG.
2. От петте БМ sCysC е най-надежден за разграничаване на всеки от стадията на изострено ХБЗ, а sNGAL и uNAG са надеждни при разграничаването на лека от умерена степен на изострено ХБЗ.
3. sCysC корелира със стойностите на Scr и eGFR при ОБУ и изострено ХБЗ, а sNGAL показва такава корелация само при групата с изострено ХБЗ.
4. Биомаркерът, който демонстрира най-значима надеждност при ОБУ е sCysC поради корелацията му с останалите БМ, Scr, eGFR и лабораторни параметри.
5. sCysC и sNGAL се открояват с най-значимо нарастване при остър тубулоинтерстициален нефрит със съпътстваща есенциална хипертония, първични хронични гломерулни болести с първа изява на остър нефритен синдром и исхемично ОБУ;
 - ✓ sIL-18 е единственият биомаркер при изострено ХБЗ, който е сигнификантно повишен в различните патофизиологични групи.

ПРИНОСИ

Научно-теоретични

- Направена е оценка на диагностичната надеждност на петте БМ при ОБУ и изострено ХБЗ с хетерогенна етиология, но нехарактерна за отделенията за интензивни грижи за първи път в нашата страна.
- Два от изследваните БМ- sCysC и uKIM-1 показват предимство както при ОБУ, така и при изострено ХБЗ.

Научно-приложни

- Предлагат се диагностични панели за ОБУ и изострено ХБЗ.
- За първи път в България се уточнява, че липсва зависимост между нивата на изследваните БМ с прилаганите медикаментозни средства (антихипертензива, диуретици, НСПВС, инхибитори на ксантиноксидазата, АБ, КС, цитостатици) и при двете групи болни.

Научни публикации във връзка с дисертационния труд

1. Миленова В. Уринни биологични маркери (биомаркери) за ранна бъбречна увреда. МедикАрт. 2015;8(3):61-4.
2. Миленова В. Серумни биологични маркери (биомаркери) за ранна бъбречна увреда. МедикАрт. 2015;8(4):42-4.
3. Миленова В, Кръстева Р Богов Б. Остро бъбречно увреждане при контраст –индуцирана нефропатия и необходимостта от заместителна терапия. Съвременна медицина 2016;1:9-13.
4. Milenova¹ V, Krasteva¹ R, Nikolova¹ M, Bogov¹ B, Hristova² J, Cachev² K. **SERUM AND URINE BIOLOGICAL MARKERS IN ACUTE KIDNEY INJURY**
ДОКЛАДИ НА БАН 2017 (IN PRESS)

Научни съобщения във връзка с дисертацията

1. Миленова В, Богов Б, Христова Ж, Цачев К. Серумни и уринни биологични марекри (биомаркери) за ранна/остра бъбречна увреда. Седми конгрес по нефрология. Град Хисар, СПА хотел "Хисар". 20-22.11.2015 г.
2. Богов Б, Миленова В. Оценка на тежестта на ОБУ и необходимостта от заместителна терапия. Контраст-индуцирана нефропатия. Училище по нефрология. КК "Пампорово", хотел "Орфей". 13-15.05.2016 г.
3. Миленова В, Кръстева Р, Николова М, Богов Б, Христова Ж, Цачев К. Серумни и уринни биомаркери за остро бъбречно увреждане, индуцирано от исхемия-реперфузия. Национална конференция по нефрология. КК "Албена", хотел "Фламинго". 13-16.10.2016 г.