



**Медицински университет -Варна
„Проф. Д-р Параскев Стоянов”**

**Факултет „Медицина“
Катедра „Втора катедра по вътрешни болести“**

Д-Р ПЕТЪР ПЛАМЕНОВ ПЕТРОВ

**ПРОСЛЕДЯВАНЕ И ОЦЕНКА НА ХРАНИТЕЛНИЯ
СТАТУС И МАРКЕРИТЕ ЗА ВЪЗПАЛИТЕЛНИЯ
ПРОЦЕС ПРИ ПАЦИЕНТИ С ХРОНИЧНО БЪБРЕЧНО
ЗАБОЛЯВАНЕ**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на научна и
образователна степен “Доктор”

Научен ръководител:

Проф. д-р Светла Василева Стайкова, д.м.н.

Научен консултант:

Доц. Д-р Лили Славчева Грудева, д.м

Варна, 2022

Дисертационният труд съдържа 150 стандартни страници и е онагледен с 6 таблици, 42 фигури и 3 приложения. Литературната справка включва 183 литературни източника, от които 2 на кирилица и 181 на латиница.

Дисертационният труд е обсъден и насочен за защита на катедрен съвет на Втора катедра по вътрешни болести при Медицински университет "Проф. Д-р Параскев Стоянов" – Варна.

Външни членове:

1. Проф. д-р Боряна Петрова Делийска, д.м.н.
2. Проф. Илия Димитров Попов д.м.
3. Доц. д-р Велислава Димитрова Димитрова, д.м.

Резервен външен член:

1. Доц. д-р Васил Иванов Василев, д.м.

Вътрешни членове:

1. Доц. д-р Кирил Светославов Ненов, д.м.
2. Доц. д-р Ирина Иванова Иванова, д.м

Резервен вътрешен член:

1. Доц. д-р Трифон Червенков, д.м.

Официалната защита на дисертационния труд ще се състои на 24.02.2022 г. от часа в – гр. Варна на открито заседание на Научното жури.

Материалите по защитата са на разположение в Научен отдел на МУ - Варна и са публикувани на интернет страницата на Медицински университет - Варна.

Забележка: В автореферата номерата на таблиците и фигурите не съответстват на номерата в дисертационния труд.

СЪДЪРЖАНИЕ

ИЗПОЛВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	4
ВЪВЕДЕНИЕ	7
ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	8
МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ	9
РЕЗУЛТАТИ	14
ОБСЪЖДАНЕ	43
ИЗВОДИ	53
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	54
ПРИНОСИ	55
ПУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	55

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ НА БЪЛГАРСКИ ЕЗИК

АТФ	Аденозинтрифосфат
ЕКГ	Електрокардиограма
ЗД	Захарен диабет
ЗЛБФ	Заместително лечение на бъбречната функция
ИТМ	Индекс на телесната маса
МАРК	Митоген-активирана протеин киназа
НЦЗИ	Национален център по здравна информация
ОБУ	Остро бъбречно увреждане
ПК	Пикочна киселина
РАА	Ренин-ангиотензин-алдостерон
САЩ	Съединени американски щати
ССЗ	Сърдечно – съдово заболяване
ХБЗ	Хронично бъбречно заболяване
ХБН	Хронична бъбречна недостатъчност
ХД	Хемодиализа

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ НА АНГЛИЙСКИ ЕЗИК

ACR	Albumin to creatinine ratio
ADMA	Asymmetric dimethylarginine
APOL1	Apolipoprotein L1
ARIC	Atherosclerosis Risk in Communities Study Description
BMI	Body mass index
BNP	B-type natriuretic peptide
BTP	B-trace protein
CD14	Cluster of differentiation 14
CRP	C-reactive protein
eGFR	Estimated glomerular filtration rate
ESRD	End-stage renal disease
FGF 23	Fibroblast growth factor - 23
GBD	Global burden of Disease
GF	Glomerular filtration
HDL	High - density lipoprotein
HIV	Human immunodeficiency virus
IgA	Immunoglobulin A
IGF-1	Insulin-like Growth Factor - 1
ISRNM	International society of renal nutrition and metabolism
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM – 1	Kidney injury molecule - 1
L- FABP	Urinary L-type fatty acid binding protein
LDL	Low – density lipoprotein
MDRD	Modification of diet in renal disease study
MIA syndrome	Malnutrition – inflammation - atherosclerosis
NAD +	Nicotinamide adenine dinucleotide +
NAG	N – Acetyl – b - D – glucosaminidase
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
NIH	National Institute of Health
NMN	Nicotinamide mononucleotide
NAMPT	Nicotinamide phosphoribosyltransferase protein

PBEF-1	Pre-B-cell colony-enhancing factor - 1
PEW	Protein-energy wasting
PRPP	Phosphoribosyl pyrophosphate
PTH	Parathyroid hormone
QOL	Quality of life
SDMA	Symmetric dimethylarginine
sEPOR	Erythropoietin Receptor
sVCAM-1	Soluble vascular cell adhesion protein - 1
T3 и T4	Thyroid hormones
TGF-β	Transforming growth factor - beta
TGF-β1	Transforming growth factor beta -1
TNF	Tumor necrosis factor
TSH	Thyroid stimulating hormone
VCAM – 1	Vascular cell adhesion protein - 1

I. ВЪВЕДЕНИЕ

Хроничното бъбречно заболяване (ХБЗ) е сериозен проблем за общественото здраве, който може да доведе до краен стадий на бъбречно заболяване, повишена сърдечно-съдова заболеваемост и смъртност. Идентифицирането на факторите, предразполагащи към развитието на ХБЗ, е от съществено значение, тъй като някои от тях могат да бъдат модифицирани, да бъдат предотвратени или да забавят прогресията.

По последни проучвания се обсъжда, че средната честота на ХБЗ в световен мащаб е около 10-12% с тенденция към прогресивно увеличаване. През XXI век се говори за „епидемия“ от хронични бъбречни заболявания. Установено е, че всяка година около 300-400 пациента на 1000000 население достигат до терминален стадий на ХБЗ и се налага да започнат диализно лечение.

Висфатин, известен още като пре-В-клетъчно повишаващ колонията фактор - 1 (PBEF-1) или никотинамид фосфорибозилтрансфераза (NAMPT) представлява адипокин.

Висфатин играе важна роля при вродения имунитет. Той се секретира от активираните лимфоцити, моноцити и неутрофили и стимулира секрецията на IL-6 чрез P38 митоген-активирана протеин киназа (МАРК) и пътица на МАРК киназа-1. Също така индуцира експресията на възпалителни медиатори при човека върху ендотелните клетки чрез ядрения фактор (NF) –кВ пътека.

От публикуваните до момента проучвания е доказано, че повишените нива на серумен висфатин може да се разглеждат като маркер за ендотелна дисфункция и по този начин да вземат участие в прогнозирането на честотата на сърдечно-съдови заболявания при пациенти с хронично бъбречно заболяване.

II. ЦЕЛ, ЗАДАЧИ, ХИПОТЕЗА

2.1. Цел

Цел на настоящата дисертационна разработка е да се установи корелация между новият неинвазивен биомаркер (Висфатин) и хранителния статус/възпалителният процес, с оглед прогностичната му стойност при пациенти с хронично бъбречно заболяване..

2.2. Задачи

За изпълнение на тази цел си поставихме следните задачи:

1. Да се направи характеристика на съвременния неинвазивен биомаркер (Висфатин), свързан с възпалителния процес и неговата диагностична стойност.
2. Да се оцени практическото значение на съвременния неинвазивен биомаркер (Висфатин), чувствителен към възпалителния процес.
3. Да се потърси корелация между Висфатин с хранителния статус на пациенти с хронично бъбречно заболяване.
4. Да се съпоставят нивата на новият неинвазивен биомаркер, с показатели характеризиращи възпалителен процес при пациенти с хронично бъбречно заболяване.
5. Да се проследят промени в индивидуалното качество на живот в зависимост от хранителния статус и съпътстващия възпалителен процес.

III. МАТЕРИЛ И МЕТОДИ

3.1. Обект и обхват на изследването

Обект на изследването са общо 80 болни с хронично бъбречно заболяване, разделени в две групи – преддиализни (30 пациенти) и на хемодиализно лечение (50 пациенти) от Клиника по Нефрология и диализа към УМБАЛ “Света Марина” град Варна, проследени клинично и изследвани по рутинни методи.

а) Критерии за включване на лицата

- Лица над 18 г. възраст с хронично бъбречно заболяване
- Лица без придружаващи злокачествени заболявания
- Лица, подписали информирано съгласие

б) Критерии за изключване на лицата

- Лица под 18 г. възраст
- Лица с придружаващи злокачествени заболявания
- Лица с активно кървене от храносмилателната система
- Лица, които не са подписали информирано съгласие

3.2. Период на изследването

Настоящото комплексно диагностично-терапевтично проучване е проведено за период от 6 месеца – Април – Октомври 2021 г. Изследването се осъществява във връзка с проект, финансиран от Фонд „Наука“ към МУ-Варна.

3.3. Методика на проучването

3.3.1. Лабораторни изследвания

Изследвани са следните лабораторни показатели:

- Интактен паратиреоиден хормон (iPTH)
- Интактен фибробластен растежен фактор -23 (iFGF-23)
- Ниво на фолиева киселина
- Ниво на витамин B12
- Ниво на серумното желязо
- Ниво на sEPOR

- CRP
- Албумин

Показател	Апарат	Метод
Серумно Желязо	i	Колориметричен метод с Ferrozine.
Албумин	i e	Колориметричен метод с Bromocresol green BCG
PTH	Immulite 2000 XP	Хемилуминисцентен имуноанализ

При всички участници посредством sandwich ELISA методика е изследвано серумното ниво на: витамин В12, фолиева киселина, нива на Human EPOR и интактен фибробластен растежен фактор - 23 (iFGF - 23).

3.3.1.1. Определяне на серумните нива на витамин В12

Нивата на витамин В12 са определени в кръвен серум чрез готов тестов набор General Vitamin B12 (VB12) ELISA Kit, каталожен номер UNDL00079, на фирмата ELISA Genie, Dublin, Ireland, с чувствителност (праг на откриване) 3,8 ng/ml и линеен обхват 4,687 – 300 ng/ml. Материалът за изследване е серум, взет със затворена система за отделяне на серум с гел Vacutainer SST II Advance на фирмата Beckton Dickinson. След венепункцията кръвта е оставена за 30 минути на стайна температура, за да се осъществи кръвосъсирването и след това серумът е отделен чрез центрофугиране за 15 минути при 1 000×g и е съхранен при температура –80°C до извършването на анализа. Анализът на витамин В12 е осъществен според протокола на производителя. Концентрацията на витамин В12 в ng/ml е изчислена на базата на съответните стандарти чрез 5 параметрична логистична нелинейна регресия чрез софтуер MikroWin версия 4.31.

3.3.1.2. Определяне на серумните нива на фолиева киселина

Нивата на фолиева киселина са определени в кръвен серум чрез готов тестов набор Folic acid (FA) ELISA Kit, каталожен номер UNEB0032, на фирмата ELISA Genie, Dublin, Ireland, с чувствителност (праг на откриване) 0,12 ng/ml и линеен обхват 0,312-20 ng/ml. Материалът за изследване е серум, взет със затворена система за отделяне на серум с гел Vacutainer SST II Advance на фирмата Beckton Dickinson. След венепункцията кръвта е оставена за 30 минути на стайна температура, за да се осъществи

кръвосъсирването и след това серумът е отделен чрез центрофугиране за 15 минути при $1\ 000\times g$ и е съхранен при температура -80°C до извършването на анализа. Анализът на фолиева киселина е осъществен според протокола на производителя. Концентрацията на фолиева киселина в ng/ml е изчислена на базата на съответните стандарти чрез 5 параметрична логистична нелинейна регресия чрез софтуер GraphPad Prism версия 9.2.0.

3.3.1.3. Определяне на серумните нива на FGF23 (intact)

Нивата на FGF23 (intact) са определени в кръвен серум чрез готов тестов набор FGF23 (Intact) ELISA for the quantitative determination of Human Intact FGF 23, каталожен номер BI-20700, на фирмата Biomedica Medizinprodukte., Wien, Austria, с чувствителност (праг на откриване) $5,4\ \text{pg/ml}$ и линеен обхват $0-1600\ \text{pg/ml}$. Материалът за изследване е серум, взет със затворена система за отделяне на серум с гел Vacutainer SST II Advance на фирмата Beckton Dickinson. След венепункцията кръвта е оставена за 30 минути на стайна температура, за да се осъществи кръвосъсирването и след това серумът е отделен чрез центрофугиране за 15 минути при $1\ 000\times g$ и е съхранен при температура -80°C до извършването на анализа. Анализът на FGF23 (intact) е осъществен според протокола на производителя. Концентрацията на FGF23 (intact) в pg/ml е изчислена на базата на съответните стандарти чрез 5 параметрична логистична нелинейна регресия чрез софтуер MikroWin версия 4.31.

3.3.1.4. Определяне на серумните нива на Human EPOR

Нивата на Human EPOR са определени в кръвен серум чрез готов тестов набор EPOR ELISA kit, каталожен номер RK00280, на фирмата Abclonal Technology Co., Ltd. Wuhan, Hubei, P.R China, с чувствителност (праг на откриване) $34,1\ \text{pg/ml}$ и линеен обхват $78-5000\ \text{pg/ml}$. Материалът за изследване е серум, взет със затворена система за отделяне на серум с гел Vacutainer SST II Advance на фирмата Beckton Dickinson. След венепункцията кръвта е оставена за 30 минути на стайна температура, за да се осъществи кръвосъсирването и след това серумът е отделен чрез центрофугиране за 15 минути при $1\ 000\times g$ и е съхранен при температура -80°C до извършването на анализа. Анализът на Human EPOR е осъществен според протокола на производителя. Концентрацията на Human EPOR в pg/ml е изчислена на базата на съответните стандарти чрез 5 параметрична логистична нелинейна регресия чрез софтуер MikroWin версия 4.31.

3.3.1.5. Определяне на серумните нива на Висфатин

Нивата на Висфатин са определени в кръвен серум чрез готов тестов набор Human VF (Visfatin) ELISA kit, каталожен номер HUES02741, на фирмата Assay Genie, Ireland, с чувствителност (праг на откриване) 0,188 ng/ml и линеен обхват 0,313 – 20 ng/ml. Материалът за изследване е серум, взет със затворена система за отделяне на серум с гел Vacutainer SST II Advance на фирмата Beckton Dickinson.

След венепункцията кръвта е оставена за 30 минути на стайна температура, за да се осъществи кръвосъсирването и след това серумът е отделен чрез центрофугиране за 15 минути при $1\ 000\times g$ и е съхранен при температура – 80 °C до извършването на анализа.

Анализът на Visfatin е осъществен според протокола на производителя, при разреждане на пробите 5 пъти. Концентрацията на Visfatin в ng/ml е изчислена на базата на съответните стандарти чрез 5 параметрична логистична нелинейна регресия чрез софтуер MikroWin версия 4.31.

Резултатите се отчитат чрез измерване на оптичката плътност, динамичен обхват и чувствителност на получените разтвори, въз основа на което по математически формули се изготвят стандартни криви, показващи съответните серумни концентрации.

3.3.2. Индивидуалното качество на живот е изследвано чрез специализиран справочник за качество на живот при болни с бъбречни заболявания с 36 въпроса (Kidney Disease Quality of Life - Short Form - 36, KDQOL-36) след модификация на С.Стайкова (2018г) с цел адаптирането му към условията в нашата страна. Направени са промени в текстовете на отделни въпроси и е създадена анкетна карта за пациентите на хронична хемодиализа. (Приложение 1)

3.3.5. Статистически методи - за анализ и интерпретация на експерименталните данни с оглед разкриване същността на наблюдаваните явления и взаимозависимостите им, обект на настоящия дисертационен труд:

- Дисперсионен анализ (ANOVA) - в табличен и графичен вид са представени честотното разпределение на разглежданите признаци;
- Вариационен анализ - за оценка на количествени характеристики на състоянието на изследвания признак. За целта се установява какво е типичното за дадената съвкупност и се описва влиянието на закономерно действащите фактори. От особена важност е характеризиране на разсейването и варирането на признаците, за да се отчете влиянието на случайните фактори.

- Корелационен анализ - приложен е за разкриване на причинно-следствените връзки между отделни изследвани признаци.
- Регресионен анализ - статистически анализ на получените резултати, за да се установят вида и параметрите на един или няколко фактора, като резултатите са представени във вид на експериментални данни.
- Сравнителен анализ (оценка на хипотези);
- Анализ за оценка на риска (OR – Odd ratio)
- ROC curve анализ за определяне на праговата стойност на Висфатин.

Данните са обработени статистически чрез SPSS v.20, като са използвани описателни показатели за количествени и качествени променливи и са представени в табличен и графичен вид.

Проучването се извърши с разрешение на КЕНИ на МУ-Варна с Протокол/Решение № 101/24.03.2021 г., като всеки участник попълни собственоръчно декларация за информирано съгласие.

IV. РЕЗУЛТАТИ

4.1. Характеристика на съвременния неинвазивен биомаркер (Висфатин), свързан с възпалителния процес и неговата диагностична стойност

Изследвани са 80 пациенти на Клиниката по нефрология към УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна, разпределени в две групи: 30 пациенти с хронично бъбречно заболяване в преддиализен стадий (стадий 3-4) и 50 пациенти с ХБЗ 5-ти стадий, на диализно лечение, като характеристиката е представена на табл. 1.

Табл. 1. Характеристика на пациентите

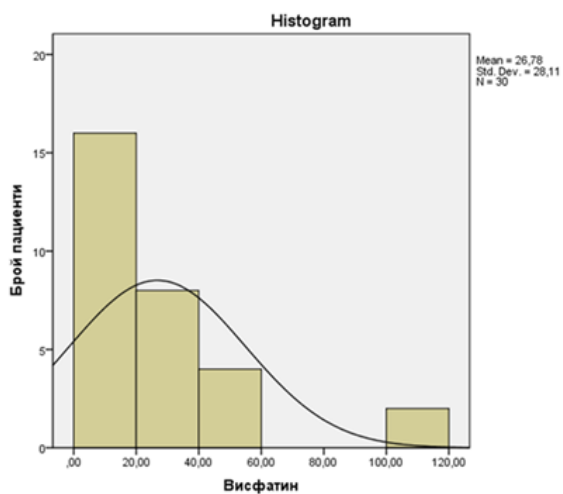
Показател		Преддиализна група (n=30)	Диализна група (n=50)	P value
Възраст (години)	mean±SD (range)	64.33±13.66 (26-85)	62.32±13.51 (36-88)	>0.05
Пол	Мъже	50.00%	58.00%	>0.05
	Жени	50.00%	42.00%	
Диагноза	Диабетна нефропатия	16.67%	20.00%	>0.05
	Хипертензивна нефропатия	53.33%	46.00%	
	Хроничен гломерулонефрит	20.00%	24.00%	
	Хроничен тубулоинтерстициален нефрит	-	6.00%	
	Автозомно-доминантна бъбречна поликистоза	-	4.00%	
	Хроничен пиелонефрит	10.00%	-	
Урея	mean±SD (range)	19.12±6.53 (8.00-40.00)	25.44±9.94 (10.20-57.10)	0.003
Креатинин	mean±SD (range)	296.70±96.13 (148.0-565.0)	788.60±197.80 (460.0-1399.0)	<0.001
Серумно желязо	mean±SD (range)	10.52±4.66 (1.10-23.60)	9.88±5.46 (1.20-30.10)	>0.05

Не се установява съществена разлика в разпределението на пациентите според възрастта и пола и позволява да има съпоставимост на резултатите в последващите анализи.

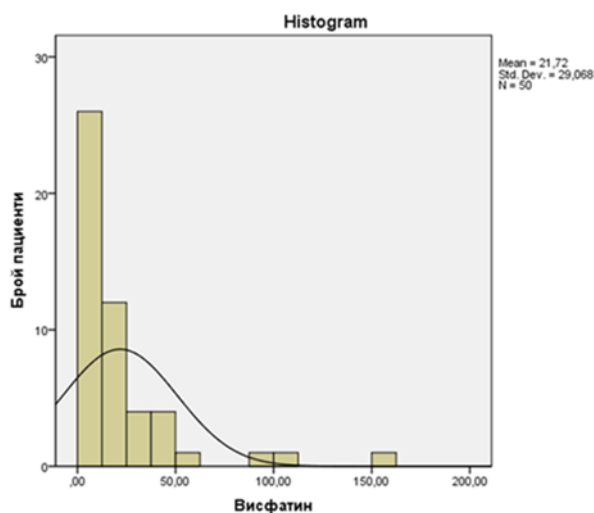
Високите нива на уреята корелират умерено правопрпорционално с прогресията на ХБЗ ($r=0.331$; $p=0.003$).

Установява се, че прогресията на ХБЗ корелира силно правопрпорционално с високите нива на креатинин ($r=0.822$; $p<0.001$), като в 67.5 % от случаите високите нива на креатинин са свързани с прогресиране на ХБЗ и провеждането на заместително лечение на бъбречната функция.

При сравнение на средните стойности на Висфатин между двете групи прави не се открива значителна разлика в стойностите между двете групи - диализна група (21.7 ng/ml), спрямо преддиализна група (26.7 ng/ml) (Фиг 1 и Фиг. 2).

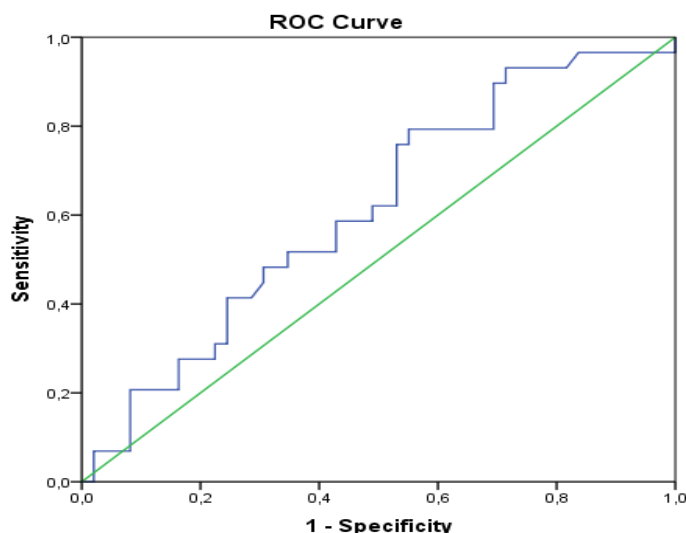


Фиг. 1. Средни стойности на Висфатин и разпределение на пациентите в преддиализната група



Фиг. 2. Средни стойности на Висфатин и разпределение на пациентите в диализната група

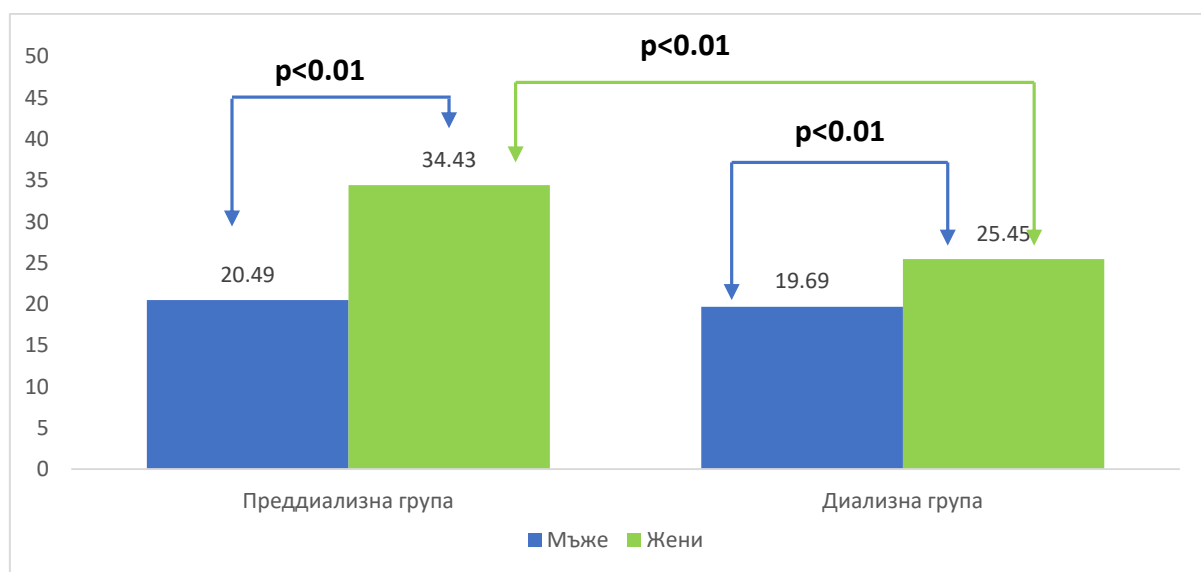
Поради липса на унифицирани референтни граници на Висфатин се намери праговата стойност - 16.92 ng/ml ($AUC=0.612$ (0.485-0.739); $p<0.05$), при която има разграничаване между пациентите в двете групи с чувствителност 55.2 % и специфичност 57.1 % (Фиг. 3).



Фиг. 3. ROC curve анализ за определяне на праговата стойност на Висфатин

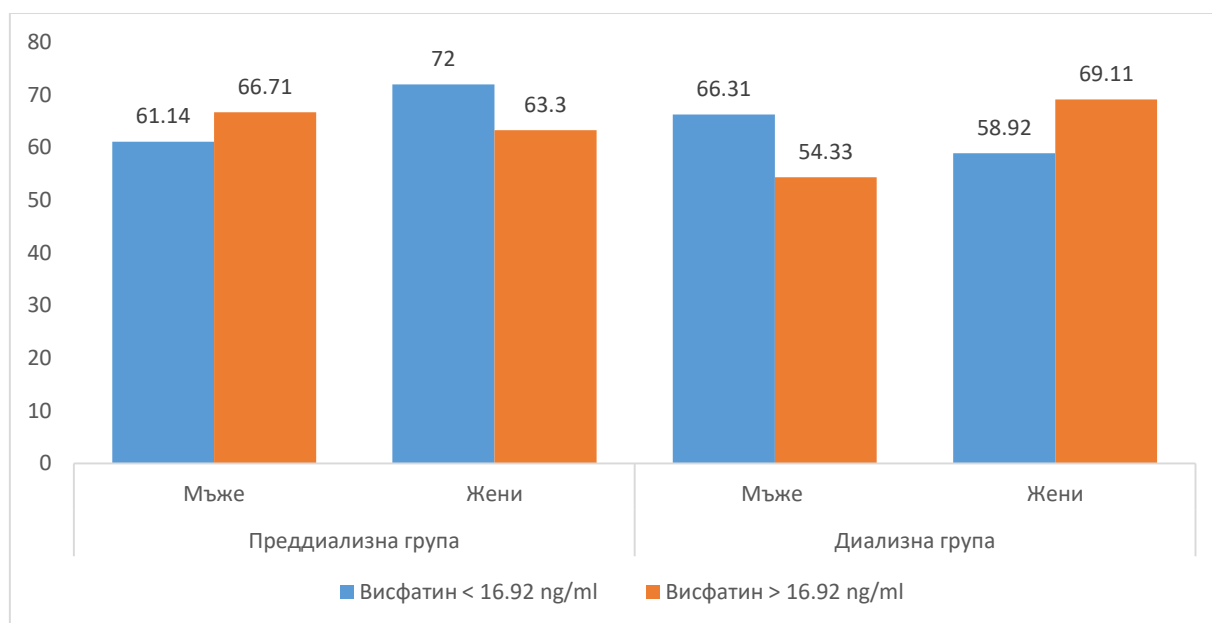
При определянето на праговата стойност на Висфатин се установи, че стойностите над 16.92 ng/ml корелират умерено с по-ранните стадии на ХБЗ, докато по-ниските стойности се асоциират с диализния стадий ($r=0.299$; $p<0.05$).

При изследването на стойностите на Висфатин се установи, че има сигнификантна разлика между мъжете и жените в преддиализната и диализната група ($p<0.01$), като при жените и в двете изследвани групи се наблюдават значително по-високи стойности на маркера (Фиг. 4).



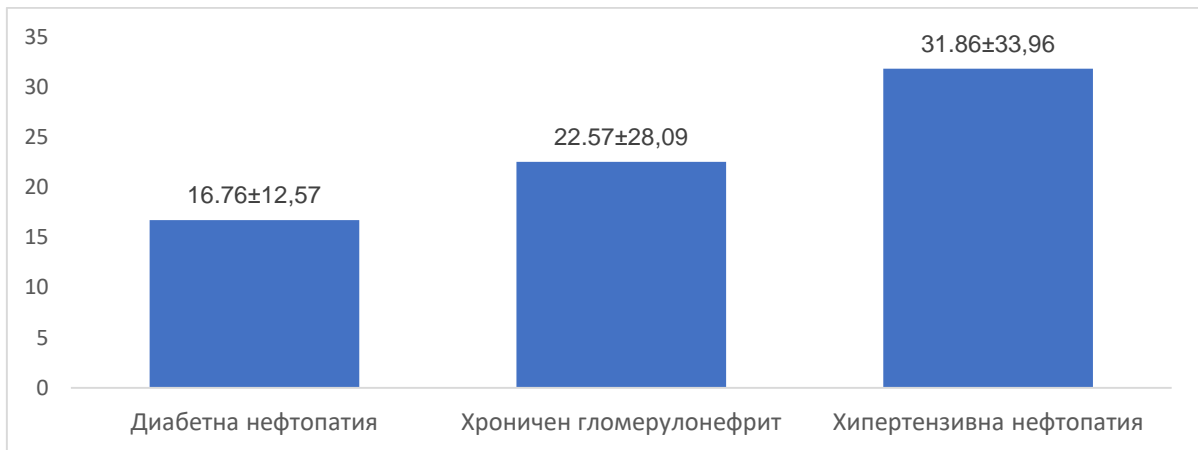
Фиг. 4. Сравнителен анализ на средните стойности на Висфатин според изследваната група и пола

На фиг. 5 е представен сравнителен анализ между средната възраст, праговата стойност на Висфатин, пола и изследваната група, като се установяват съществени разлики ($p < 0.05$). Преддиализния стадий при мъжете се свързва с нива на Висфатин над 16.92 ng/ml и по-висока възраст (66.71 г. към 61.14 г.), докато при жените се свързва с нива на Висфатин над 16.92 ng/ml и по-ниска възраст (63.3 г. към 72.0 г.). От друга страна диализният стадий при мъжете е свързан с нива на Висфатин под 16.92 ng/ml и по-висока възраст (66.31 г. към 54.3 г.), докато при жените се свързва с нива на Висфатин под 16.92 ng/ml и по-ниска възраст (58.9 г. към 69.1 г.).



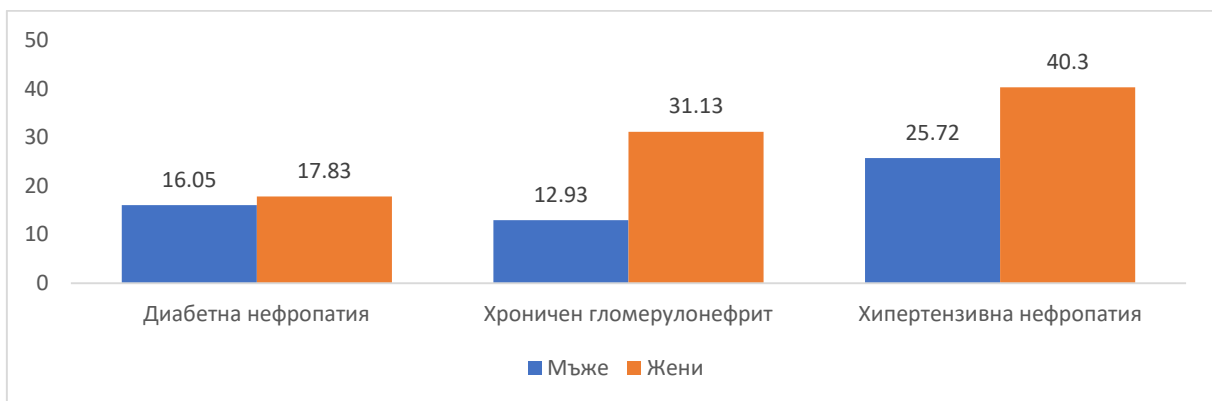
Фиг. 5. Средна възраст на изследваните пациенти според пола, изследваната група и нивата на Висфатин

Установи се, че пациентите с хипертензивна нефропатия имат значително по-високи стойности на Висфатин в сравнение с другите две водещи причини за ХБЗ (диабетна нефропатия и хроничен гломерулонефрит) ($p = 0.031$) (Фиг. 6).



Фиг. 6. Средни стойности на Висфатин според водещите причини за ХБЗ

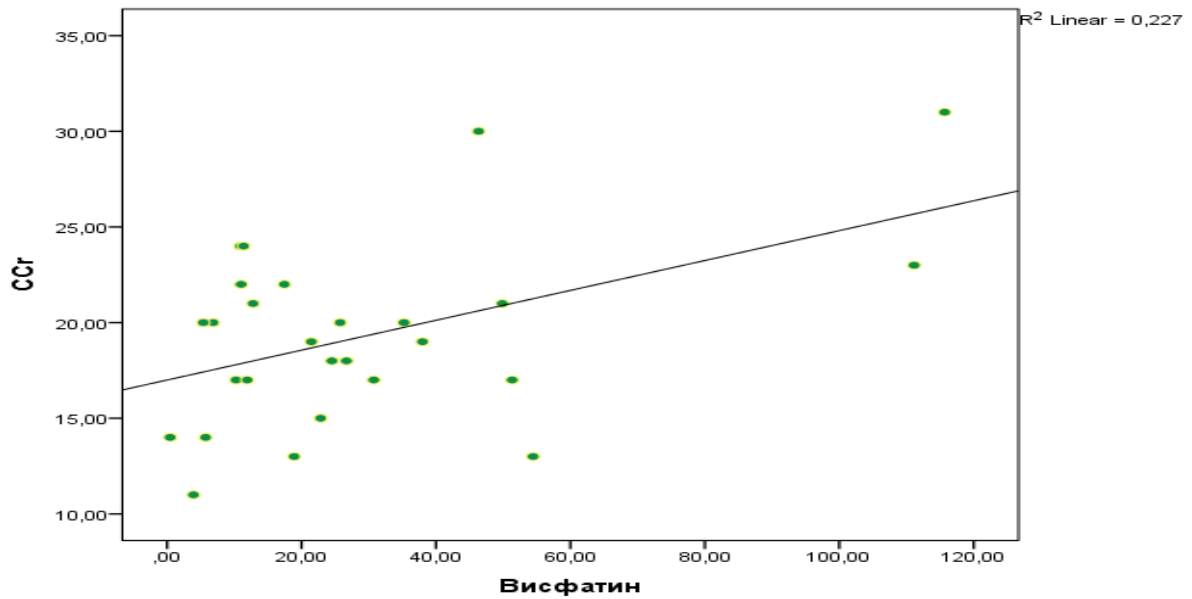
Анализът на нивата на Висфатин според пола и водещата причина за ХБЗ показва наличието на съществен разлика по отношение на хроничния гломерулонефрит ($p<0.01$) и хипертензивната нефропатия ($p<0.01$), където нивата на маркера са сигнификантно по-високи при жените в сравнение с мъжете (Фиг. 7).



Фиг. 7. Средни нива на Висфатин според пола и водещата причина за ХБЗ

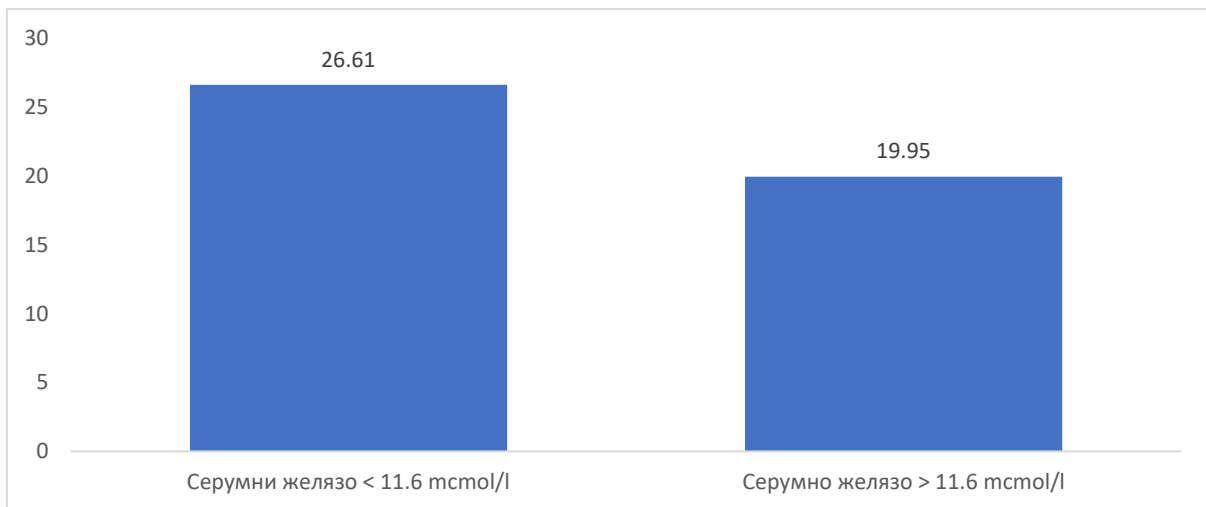
Не се установява връзка между серумните нива на Висфатин, урея и креатинин, както и разлика в средните стойности според определената прагова стойност на маркера.

От друга страна се установява, че серумните нива на Висфатин корелират умерено правопрпорционално с ССг в групата на преддиализните пациенти ($r=0.476$; $p=0.012$) (Фиг. 8). В 22.7 % от случаите измененията в стойностите ССг са свързани и с изменения в нивата на Висфатина при пациентите с преддиализната група.



Фиг. 8. Корелационен анализ между серумните нива на Висфатин и ССr

Установена е съществена разлика в нивата на Висфатин според долната референтна граница на серумното желязо ($p=0.008$), където ниските нива на серумното желязо се свързват с по-високи нива на Висфатин (Фиг. 9).



Фиг. 9. Средни нива на Висфатин според референтната граница на серумното желязо

4.2. Оценка практическото значение на съвременния неинвазивен биомаркер (Висфатин), чувствителен към възпалителния процес

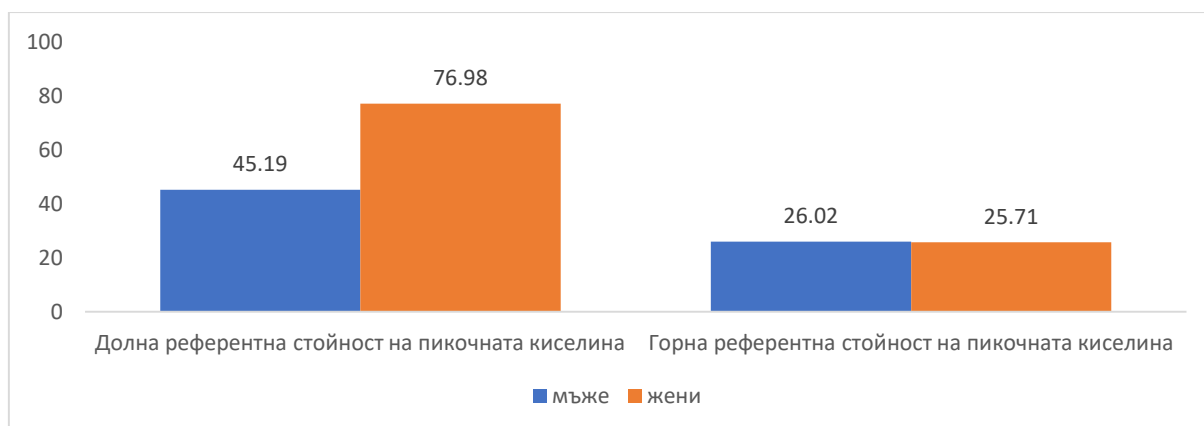
При оценката на практическото значение на Висфатин за възпалителния процес резултатите се съпоставиха с данните за CRP, пикочната киселина и серумните нива на албумин.

Табл. 2. Характеристика на пациентите

Показател	Преддиализна група (n=30)	Диализна група (n=50)	P value
CRP			<0.001
Пикочна киселина			>0.05
Серумен албумин			0.003

Установена е съществена разлика в нивата на CRP и албумин между двете изследвани групи пациенти. Не се установява съществена разлика по отношение на стойностите на пикочната киселина.

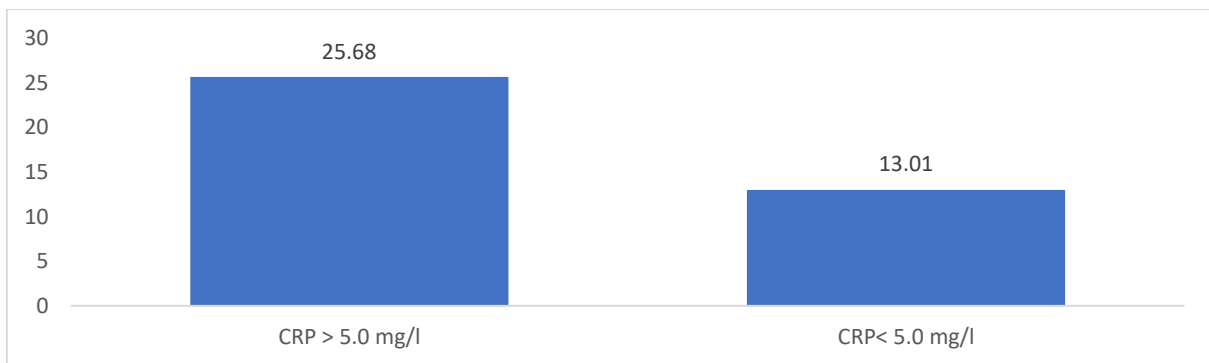
От друга страна при изследване на нивата на Висфатин според референтните стойности на пикочната киселина за мъже и жени се установи съществена разлика и при двата пола ($p=0.008$) (Фиг. 10)



Фиг. 10. Средни нива на Висфатин според референтните стойности на пикочната киселина и пола

Тези резултати подкрепят твърдението, че ниските нива на Висфатин се асоциират с повишени нива на пикочната киселина, като маркер на възпалителния процес.

В настоящото изследване 9 пациенти са с нормални нива на CRP, като стойностите на Висфатин при тези пациенти са значително по-ниски в сравнение с тези, с хроничен инфламаторен статус ($p=0.01$) (Фиг. 11)

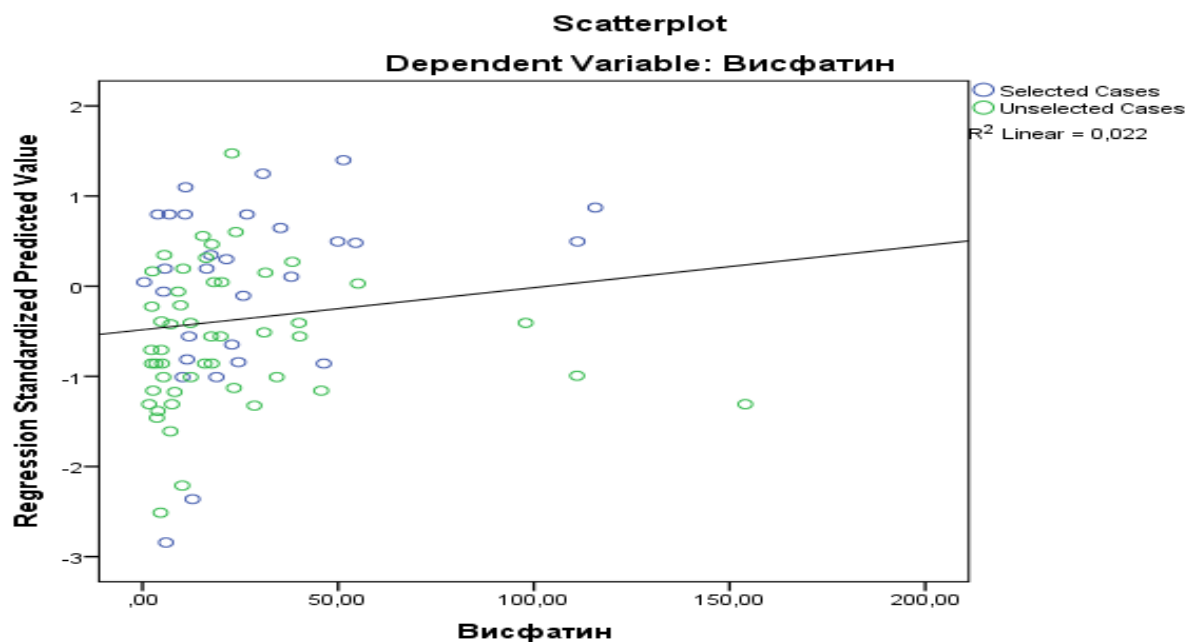


Фиг. 11. Средни стойности на Висфатин според нивата на CRP

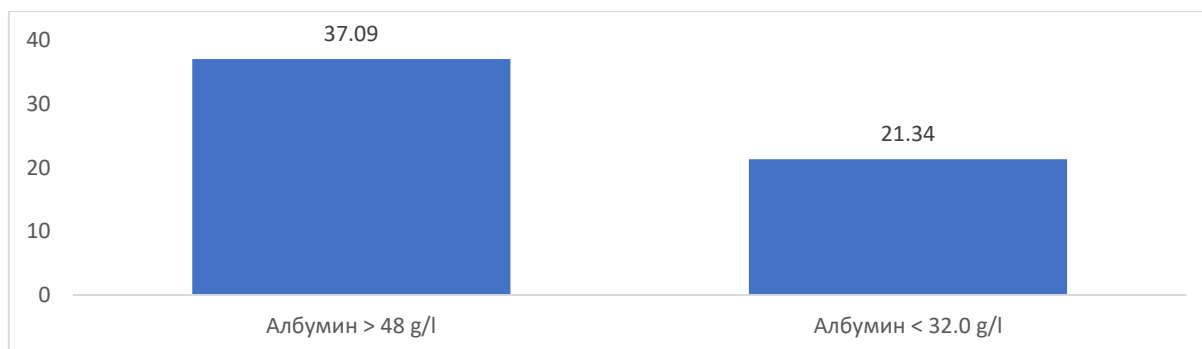
Високите нива на CRP корелират умерено правопрпорционално с прогресията на ХБЗ и възпалителния процес ($r=0.462$; $p<0.001$).

Ниските нива на албумин корелират умерено с прогресията на бъбречното заболяване ($r=-0.329$; $p=0.003$).

Изследването на връзката между серумните нива на Висфатин и албумин показва наличието на умерена положителна зависимост в преддиализната група ($r=0.305$; $p<0.01$) (Фиг. 12). При анализът на нивата на Висфатин според горната (48.0 g/l) и долната (32.0 g/l) референтна стойност се доказва, че ниските нива на албумин са свързани с ниските нива на Висфатин, а високият албумин е свързан с високи нива на Висфатин (Фиг. 13).

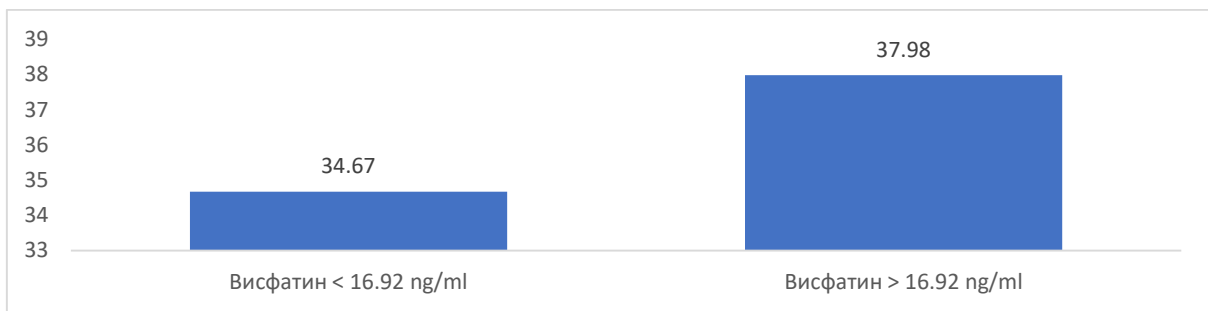


Фиг. 12. Корелационен анализ между серумните нива на Висфатин и албумин в преддиализната група



Фиг. 13. Средни стойности на Висфатин според референтните граници на албумин

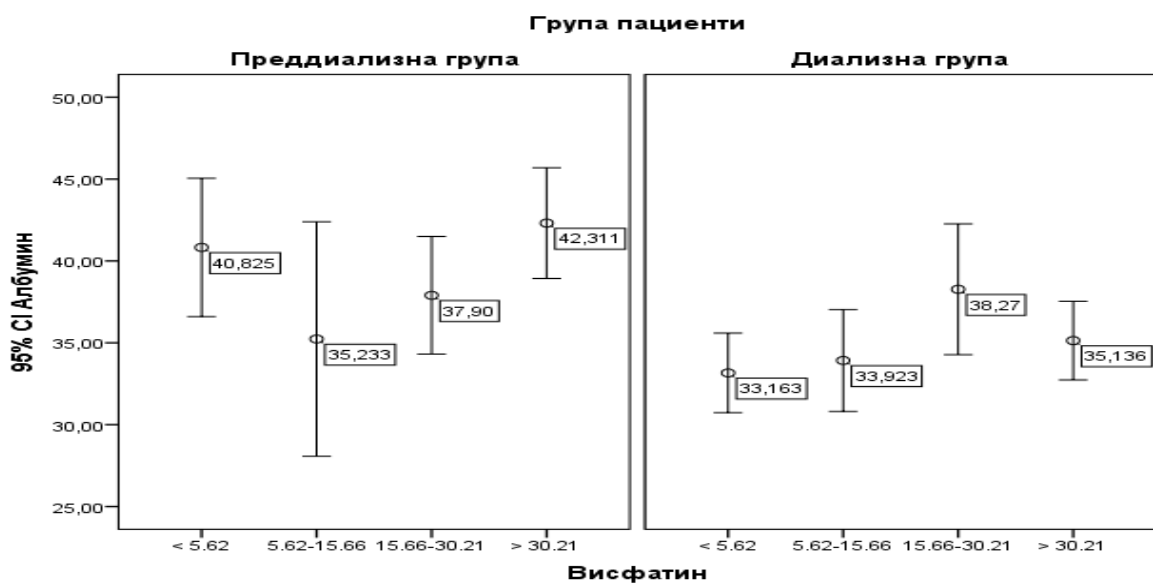
Установи се и съществена разлика в средните стойности на албумин според определената прагова стойност на Висфатин (съответно 34.67 ± 6.21 към 37.98 ± 5.19) ($p=0.013$) (Фиг. 14), като тази тенденция се запазва и по отношение на изследваните групи.



Фиг. 14. Сравнителен анализ на нивата на серумния албумин според праговата стойност на Висфатин

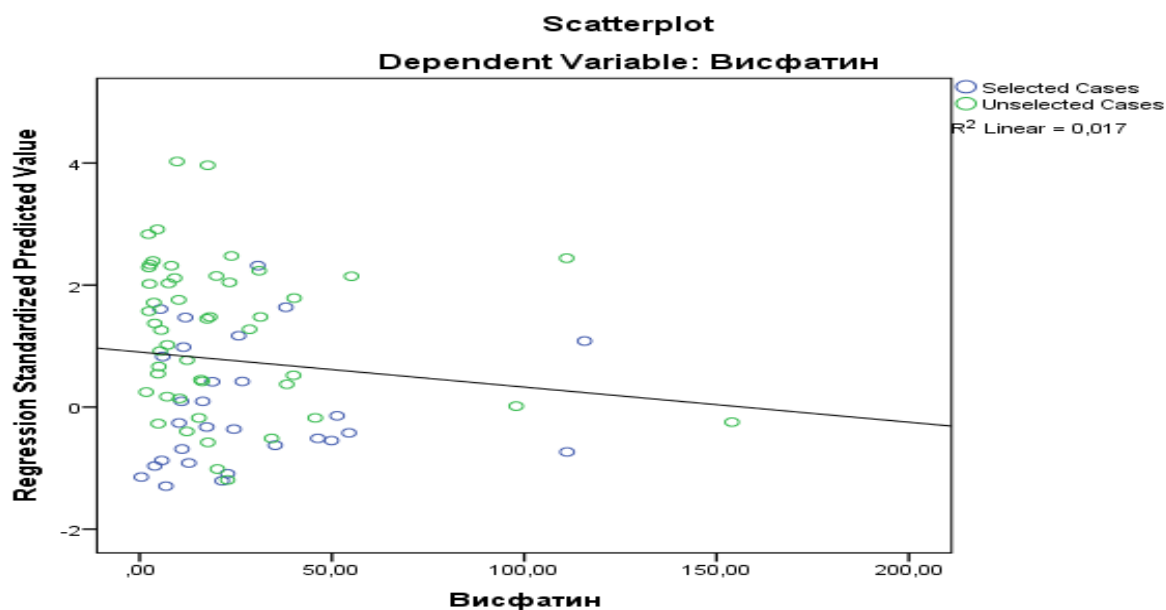
Не се установи връзка между пикочната киселина и нивата на Висфатин, като резултатите показват еднакви стойности на пикочната киселина спрямо праговата стойност на маркера (съответно 436.27 за стойности < 16.92 ng/ml и 436.41 за стойности > 16.92 ng/ml).

Установена е съществена разлика в нивата на албумин според нивата на Висфатин между групата на пациентите в преддиализния и диализния стадий ($p < 0.05$) (Фиг. 15).

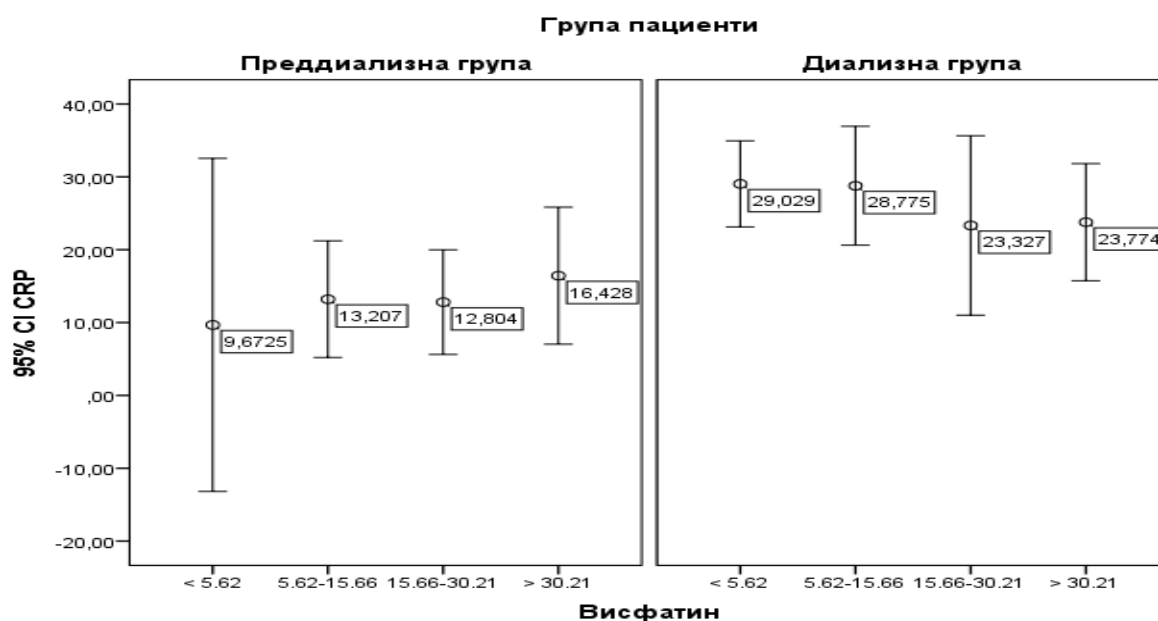


Фиг. 15. Средни стойности на албумина според нивата на Висфатин в изследваните групи

Изследването на връзката между CRP и нивата на Висфатин установи, че двата маркери корелират обратнопропорционално в групата на пациентите, които провеждат диализно лечение ($r = -0.398$; $p = 0.001$) (Фиг. 16).



Фиг. 16. Корелационен анализ между серумните нива на Висфатин и CRP в диализната група



Фиг. 17. Средни стойности на CRP според нивата на Висфатин в изследваните групи

Установена е съществена разлика в нивата на CRP според нивата на Висфатин между групата на пациентите в преддиализния и диализния стадий ($p < 0.05$) (Фиг. 17).

Според получените резултати може да се каже, че ниските нива на Висфатин корелират обратнопропорционално със серумните нива на CRP и правопрпорционално с нивата на албумин при прогресия на ХБЗ.

4.3. Корелация между Висфатин с хранителния статус на пациенти с хронично бъбречно заболяване

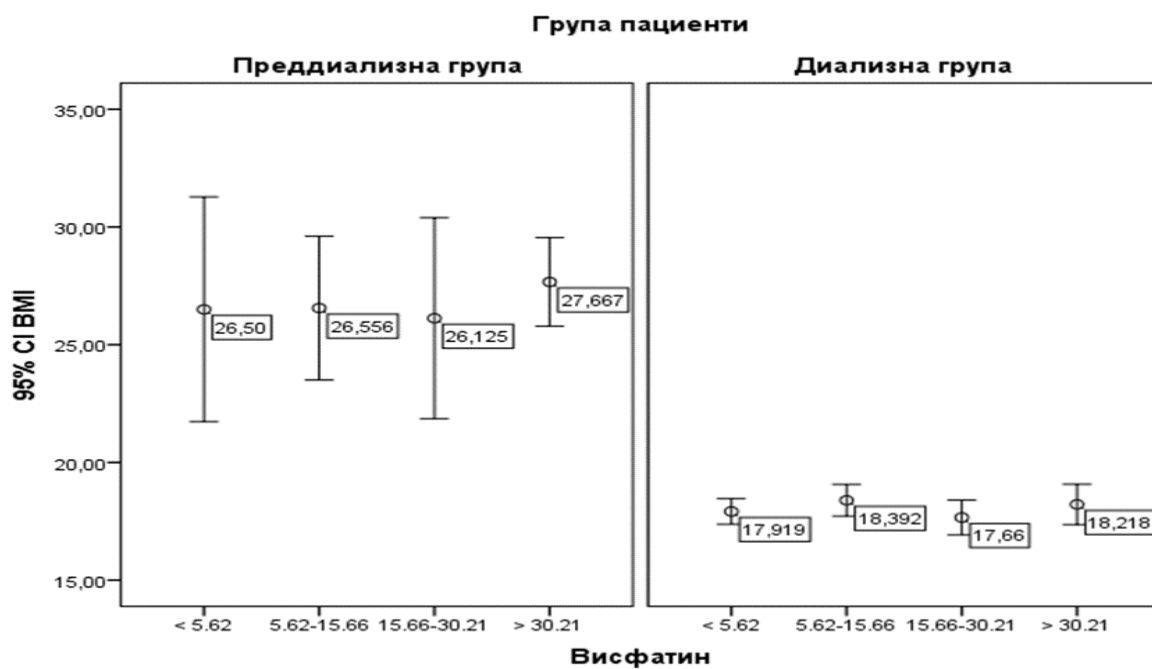
Оценката на хранителния статус на изследваните пациенти с ХБЗ е извършена посредством изследване на ИТМ, нивата на фолиева киселина и нивата на Витамин В12, като резултатите са представени в табл. 3.

Съществена разлика в стойностите на показателите в двете групи се установява само по отношение на ИТМ и фолиевата киселина, докато нивата на Витамин В12 не се различават значително въпреки по-ниските стойности, които се наблюдават при пациентите в диализната група.

Табл. 3. Характеристика на пациентите

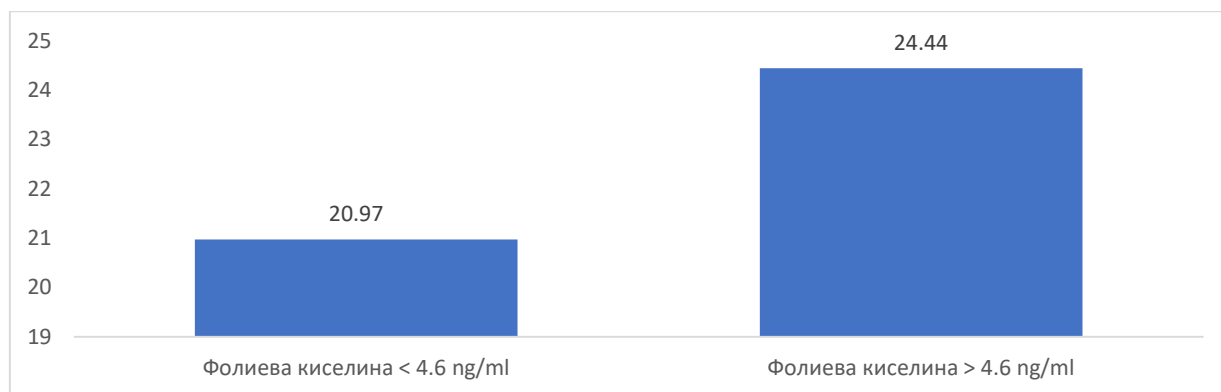
Показател	Преддиализна група (n=30)	Диализна група (n=50)	P value
ИТМ			<0.001
Фолиева киселина			0.05
Витамин В12			>0.05

Не се установява зависимост между серумните нива на Висфатин и ИТМ при пациентите в изследваните групи, но се установява съществена разлика в стойностите на ИТМ според отделните нива на Висфатин между двете групи изследвани пациенти ($p < 0.05$) (Фиг. 18).



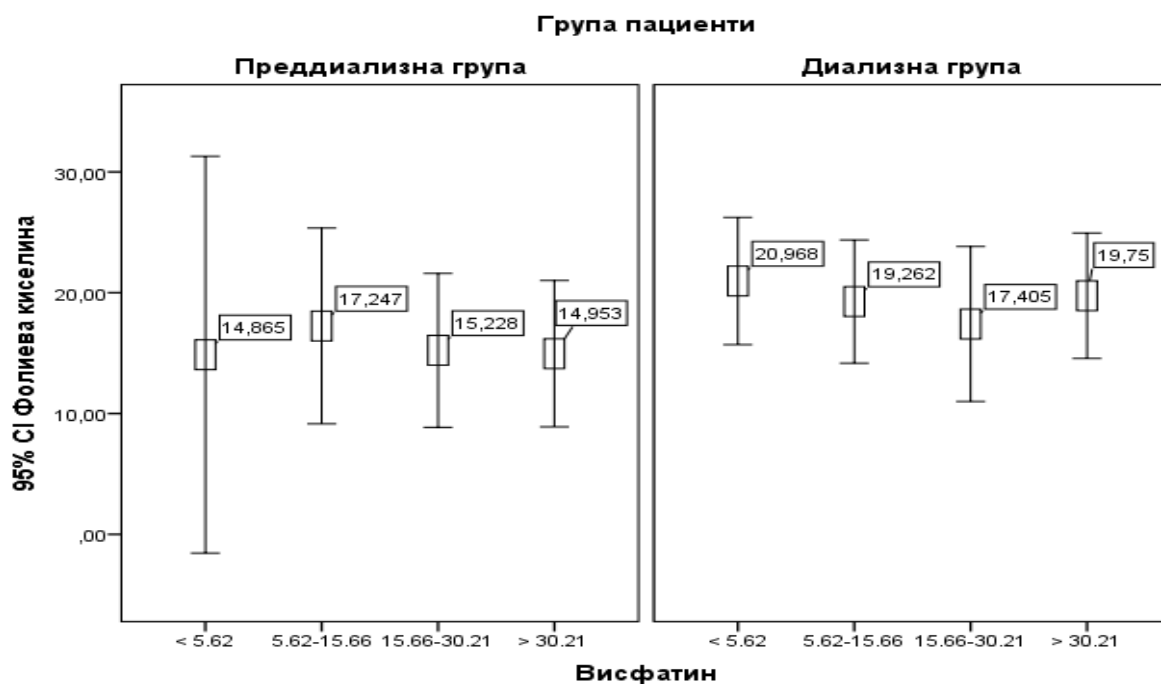
Фиг. 18. Средни стойности на ИТМ според нивата на Висфатин в изследваните групи

В настоящото изследване с недостиг на фолиева киселина са само 5 пациенти (6.25 %), които се характеризират с по-ниски нива на Висфатин (Фиг. 19)



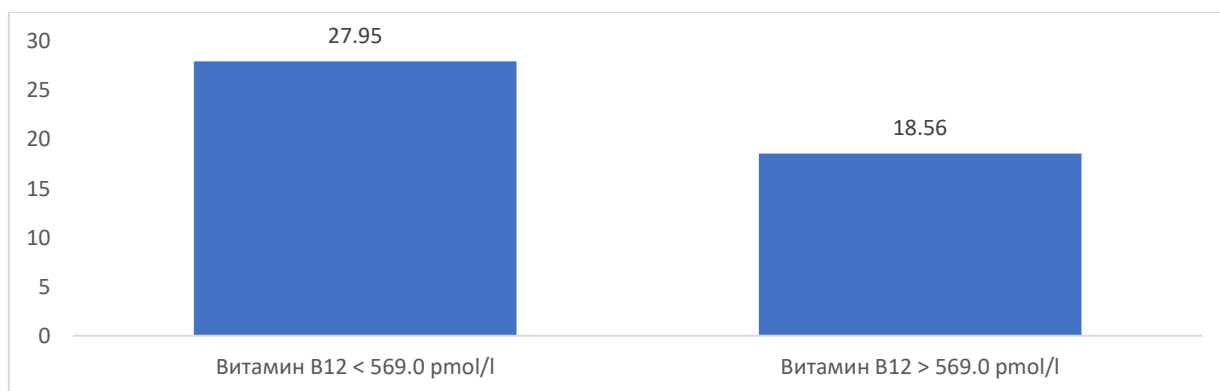
Фиг. 19. Средни нива на Висфатин според долната референтна граница на фолиевата киселина

Съществена разлика се установява и по отношение на нивата на фолиевата киселина и нивата на Висфатин ($p < 0.05$) (Фиг. 20). Впечатление прави, че нивата на фолиевата киселина са по-високи при пациентите в диализната група, което е резултат от провежданата терапия.



Фиг. 20. Средни стойности на фолиевата киселина според нивата на Висфатин в изследваните групи

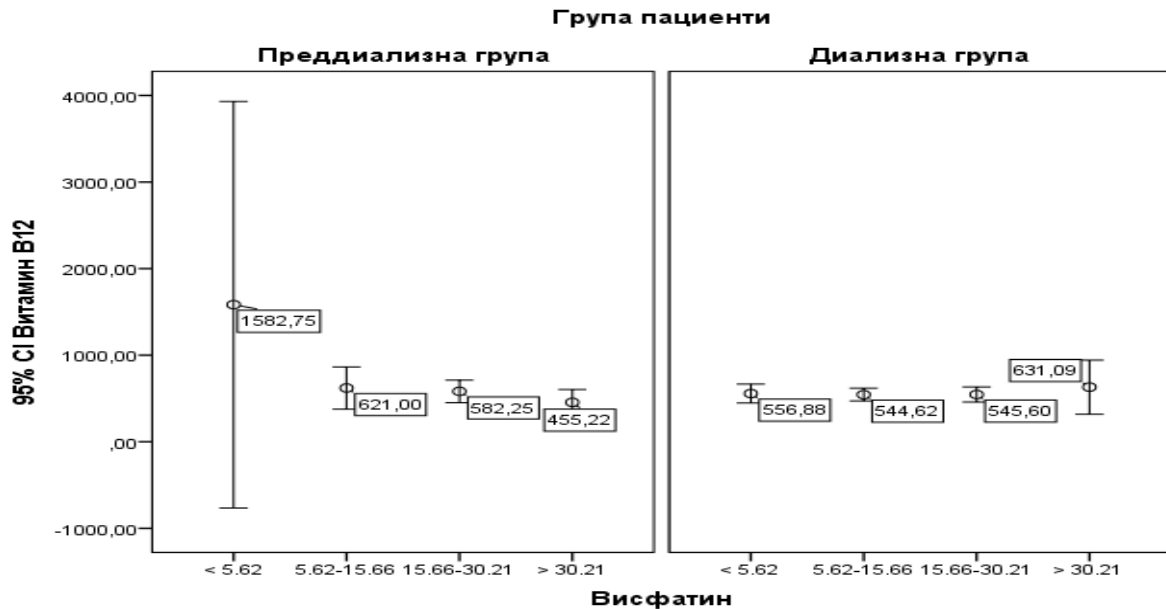
В настоящото изследване няма пациенти, които да са с дефицит на Витамин В12, но 31 пациенти (38.75 %) са с хипервитаминоза, като при тези пациенти нивата на Висфатин са значително по-ниски ($p=0.048$) (Фиг. 21)



Фиг. 21. Средни нива на Висфатин според горната референтна граница на витамин В12

Анализът на изменението в нивата на витамин В12 според нивата на Висфатин в двете изследвани групи показва, че при пациентите в преддиализната група се установява намаляваща тенденция на нивата на Витамин В12 с увеличаване на нивата на

Висфатин ($p < 0.05$) (Фиг. 22). От друга страна при прогресията на ХБЗ до терминален стадий се наблюдава поддържането на приблизително еднакви нива на Витамин В12, независимо от нивата на Висфатин, което се обяснява с провеждането на субституираща терапия.



Фиг. 22. Средни стойности на Витамин В12 според нивата на Висфатин в изследваните групи

Анализът на връзката между нивата на Висфатин и хранителния статус на изследваните пациенти показва, че има съществена разлика на измененията на изследваните показатели в двете групи.

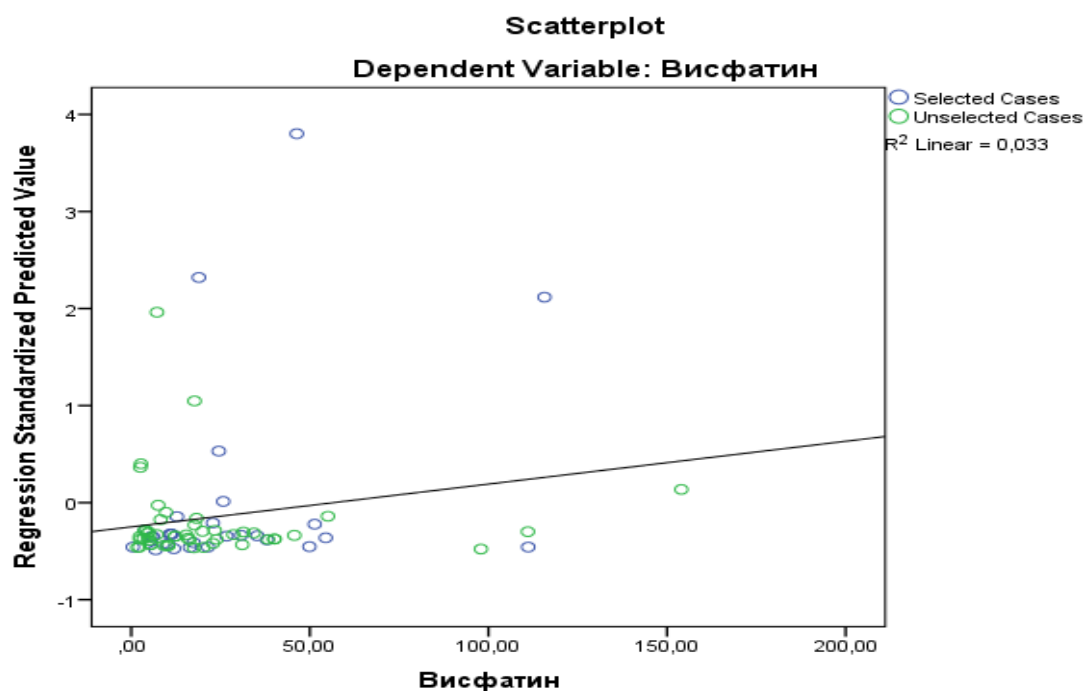
4.4. Съпоставяне нивата на новият неинвазивен биомаркер, с показатели характеризиращи възпалителен процес при пациенти с хронично бъбречно заболяване

За оценка на показателите, характеризиращи възпалителен процес при пациенти с хронично бъбречно заболяване са използвани sEPOR, iPTH и iFGF 23, като средните стойности на показателите в двете изследвани групи са представени в табл. 4.

Табл. 4. Характеристика на пациентите

Показател	Преддиализна група (n=30)	Диализна група (n=50)	P value
sEPOR			0.019
iPTH			0.05
iFGF 23			< 0.001

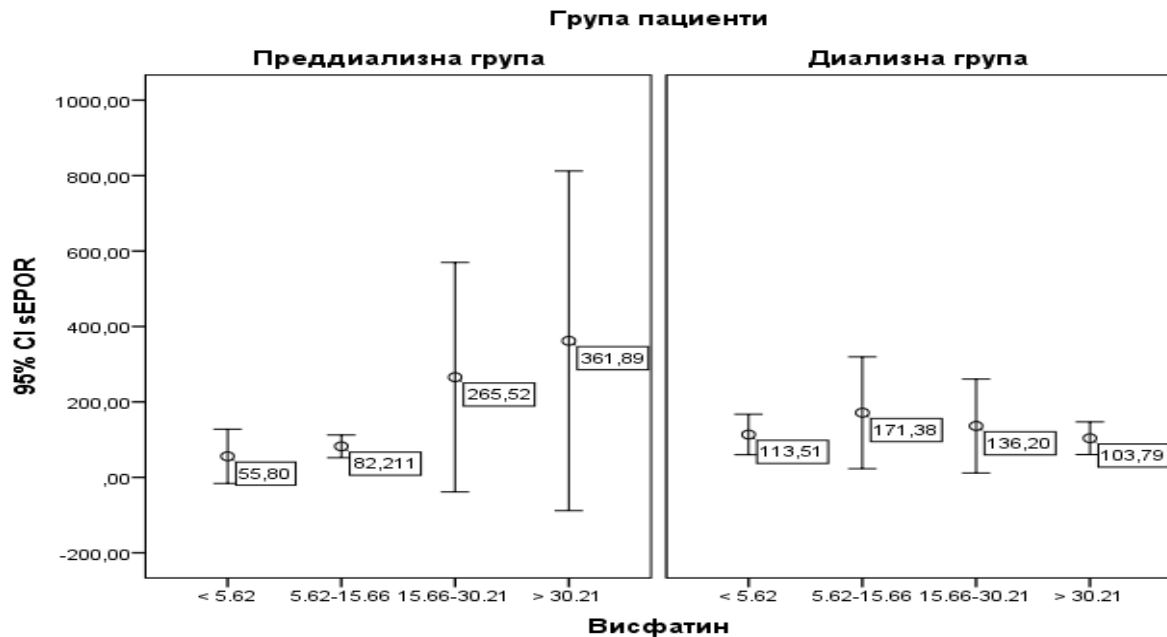
Установена е съществена разлика в изследваните показатели между двете групи пациенти, като iPTH и iFGF 23 имат значително по-високи стойности при тези в диализната група, докато sEPOR има по-високи стойности при пациентите в преддиализната група.



Фиг. 23. Корелационен анализ между серумните нива на Висфатин и sEPOR при пациентите в преддиализната група

Анализът на връзката между sEPOR и Висфатин показва, че между двата показателя има умерена положителна корелация ($r=0.336$; $p=0.035$) (Фиг. 23), която показва, че високите нива на sEPOR се асоциират и с високи нива на Висфатин при пациентите в преддиализната група.

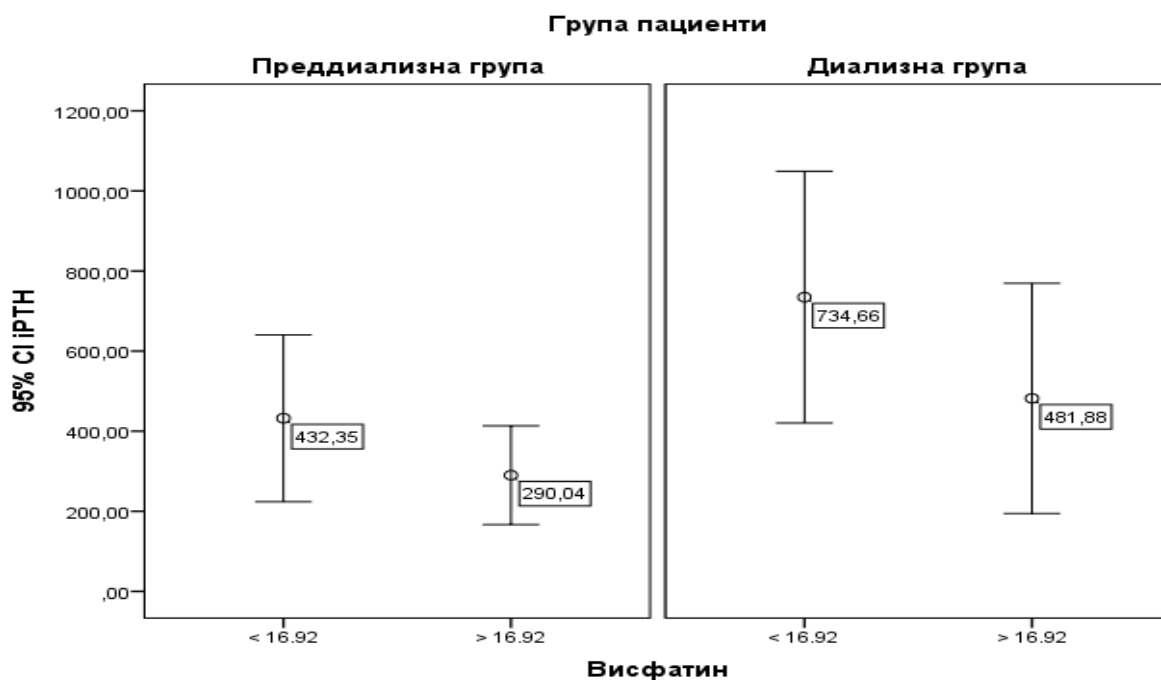
От резултатите на фиг. 24 се вижда, че има разлика в средните стойности на sEPOR според стойностите на Висфатин, като в преддиализната група е представена вече доказаната положителна асоциация, докато в диализната група има достигане на пик на sEPOR при нива на Висфатин между 5.62-15.66 ng/ml (171.38), след което започва значително да намалява. Тези резултати доказват връзката на sEPOR с появата на анемичен синдром при пациенти в напреднал стадий на ХБЗ.



Фиг. 24. Средни стойности на sEPOR според нивата на Висфатин в изследваните групи

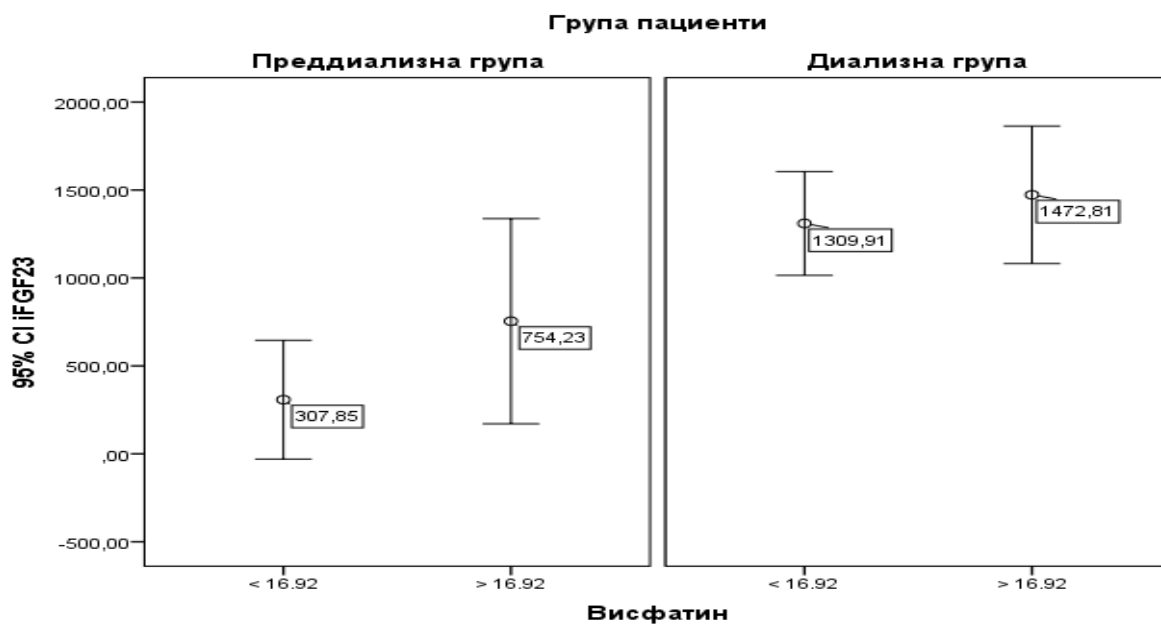
В настоящото изследване само един пациент е с ниски нива на iPTH (10.90 pg/ml), който се характеризира с изключително ниско ниво на Висфатин (2.54 ng/ml), докато лицата със стойности на iPTH над горната референтна граница (90 %) имат значително по-сивоки нива на Висфатин (23.96 ng/ml).

Не се установи зависимост между стойностите на iPTH и стойностите на Висфатин нито в преддиализната, нито в диализната група, но може да се каже, че има съществена разлика в нивата на iPTH спрямо праговите стойности на Висфатин ($p=0.045$), които показват една и съща тенденция в двете групи, но в диализната група нивата на iPTH са значително по-високи (Фиг. 25).



Фиг. 25. Средни стойности на iPTH според праговите нива на Висфатин в изследваните групи

Наблюдава се съществена разлика в средните стойности на iFGF 23 според праговата стойност на Висфатин при пациентите в преддиализната група ($p < 0.05$), докато в диализната група нивата на iFGF 23 остават постоянно високи независимо от стойностите на Висфатин (Фиг. 26).



Фиг. 26. Средни стойности на iFGF 23 според праговите нива на Висфатин в изследваните групи

От получените до момента резултати могат да се направят следните основни заключения по отношение на ниските и високи нива на Висфатин спрямо установената прагова стойност (16.92 ng/ml).

Ниските нива на Висфатин се асоциират с диабетна нефропатия, високи нива на CRP, високи нива на пикочната киселина и нисък ССг, като резултатите са представени на табл. 5.

Табл.5. Корелационен анализ между ниските нива на Висфатин и някои от разгледаните маркери на възпалителния процес

Показател	Корелационен коефициент (r)	P value
Диабетна нефропати	-0.328	0.036
CRP	-0.255	0.018
Пикочна киселина	-0.323	0.039
ССг	0.682	0.021

Високите нива на Висфатин се асоциират с високата възраст, жени, висок ССг и ниски нива на серумното желязо и ниски стойности на iFGF 23, като резултатите са представени на табл. 6.

Табл. 6. Корелационен анализ между ниските нива на Висфатин и някои от разгледаните маркери на възпалителния процес

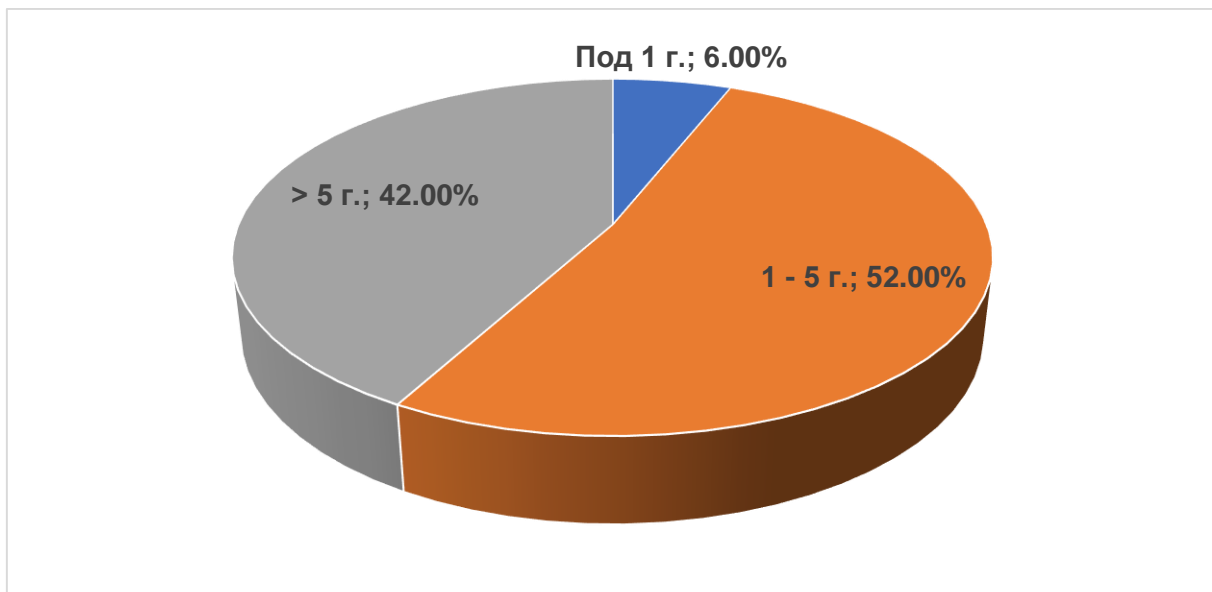
Показател	Корелационен коефициент (r)	P value
Възраст	0.274	0.010
Пол - жени	0.236	0.016
ССг	0.568	0.022
iFGF 23	-0.435	0.021
Серумно желязо	-0.233	0.015

4.5. Оценка индивидуалното качество на живот в зависимост от хранителния статус и съпътстващия възпалителен процес

Качеството на живот е изследвано при 50-те пациенти, формиращи групата на диализните пациенти.

Половината от пациентите провеждат хемодиализа между една година и пет години (Фиг. 27). Не се установява съществена разлика според пола и възрастта.

От гледна точка на ИТМ също не се наблюдава разлика и зависимост с продължителността на хемодиализата, като ИТМ при пациентите, които провеждат хемодиализа под 1 г. средния ИТМ е 18.3 ± 1.08 (17.40-19.50). При тези, които провеждат хемодиализно лечение между 1 и 5 г. средния ИТМ е 17.81 ± 1.01 (16.00-20.90), а в групата на пациентите с най-голяма продължителност на лечението ИТМ е 18.32 ± 1.21 (16.40-21.00).

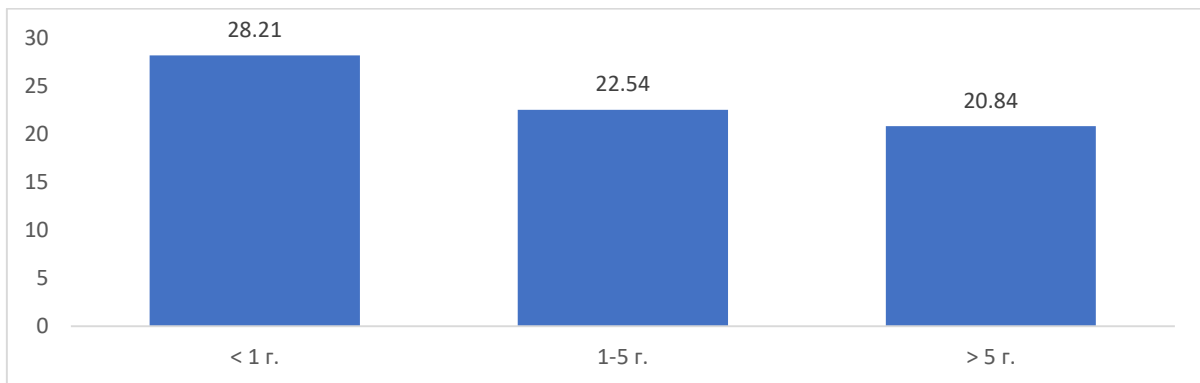


Фиг. 27. Разпределение според продължителността на хемодиализното лечение

Разлика и зависимост не се наблюдава и по отношение на нивото на фолиевата киселина, като при най- малката продължителност на хемодиализното лечение нивото на фолиевата киселина е 16.49 ± 5.54 (12.34-22.78). През следващите периоди се установява компенсиране на тези ниски стойности и нивото на фолиевата киселина (съответно 20.04 ± 8.84 при пациенти с продължителност 1-5 г. и 19.36 ± 9.12 при пациенти с продължителност над 5 г.).

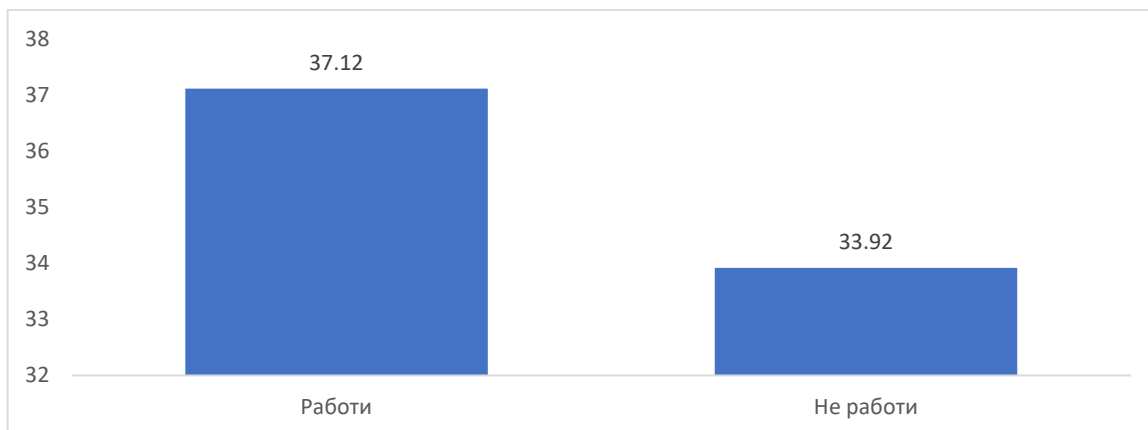
Разлика и зависимост с продължителността на хемодиализното лечение не се установява и по отношение на нивата на Витамин В12 и маркерите за възпалителния процес.

Анализът на нивата на Висфатин и продължителността на хемодиализното лечение показва съществена разлика ($p < 0.05$), която потвърждава резултатите до момента, че нивата на този маркер намаляват с продължителността на провеждането на диализно лечение и прогресирането на ХБЗ (Фиг. 28).



Фиг. 28. Средни стойности на Висфатин според продължителността на хемодиализното лечение

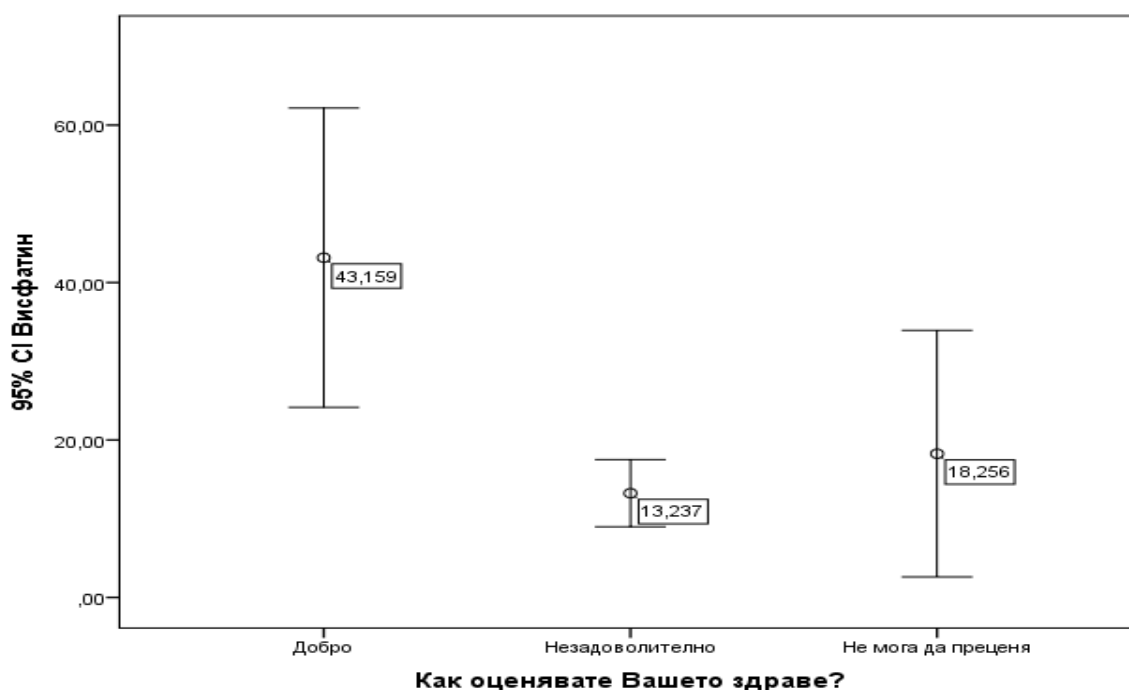
Около 3/4 (72.0 %) от пациентите са посочили, че не работят, като няма съществена разлика между стойностите на ИТМ, фолиевата киселина и Витамин В12. Разлика не се установява и по отношение на маркерите за възпаление с изключение на албумина, където при пациентите които не работят стойностите са занижени ($p = 0.040$) (Фиг. 29). Установена е слаба клоняща към умерена обратнопропорционална зависимост между нивата на албумина и работоспособността при изследваните пациенти ($r = -0.292$; $p < 0.05$).



Фиг. 29. Средни стойности на албумина според работоспособността на пациентите

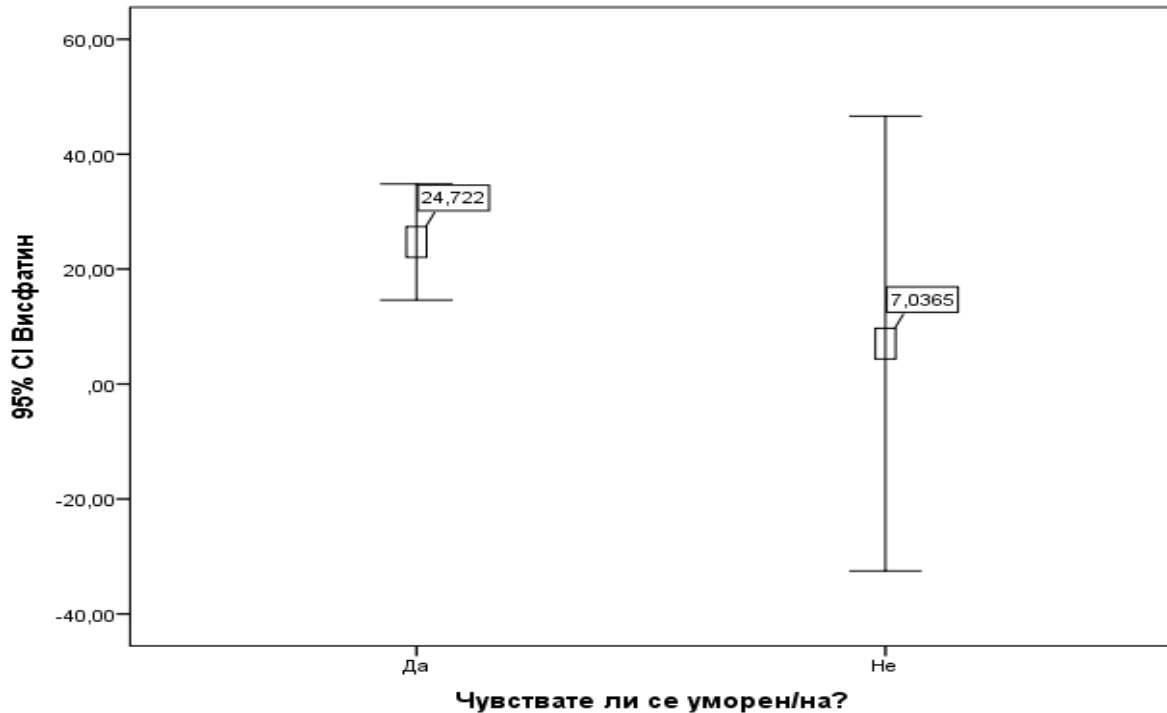
Над 1/3 (40.00%) от пациентите посочват, че са изпитали чувство на болка през последните четири седмици, като няма съществена разлика и зависимост между болката и ИТМ, нивата на фолиева киселина, Витамин В12 и албумина. Разлика и зависимост с болката не се установява и по отношение на маркерите за възпаление.

Никсите нива на Висфатин корелират с понижената оценка за здравословното състояние на пациентите ($r=-0.399$ $p<0.05.$) (Фиг. 30)



Фиг. 30. Средна стойност на Висфатин според оценката за здравословното състояние

От гледна точка на умората се установява, че пациентите, които се чувстват уморени имат значително по-високи нива на Висфатин (Фиг. 31) ($p < 0.01$). Като всички пациенти, посочили, че се чувстват уморени имат нива на Висфатин над праговата стойност.



Фиг. 31. Средна стойност на Висфатин според наличието на умора

Болката се свързва с по-лошо качество на живот като в настоящото изследване 40.0 % от пациентите в диализната група са изпитвали болки в последните четири седмици.

Анализът на асоциацията на болката с нивата на Висфатин показва, че пациентите, които са изпитвали болки имат значително по-ниски нива на Висфатин ($p = 0.013$), което допълнително подкрепя данните от по-горните изследвания, че нивата на Висфатина намаляват с прогресията на ХБЗ (Фиг. 32).

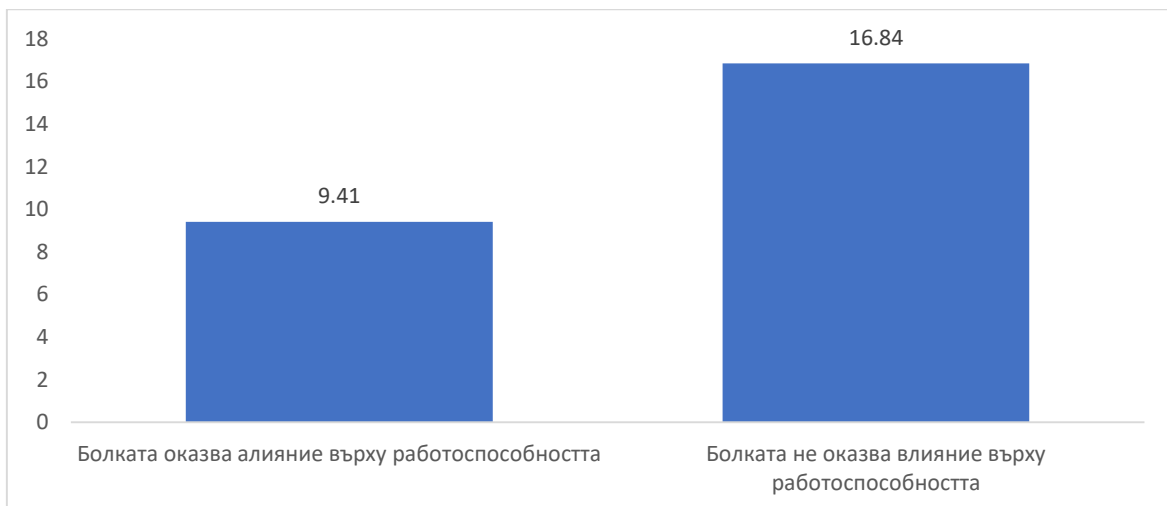
От друга страна въпреки липсата на съществена разлика се установи, че пациентите с болка имат по-високи нива на CRP (съответно 26.54 ± 11.83 за пациенти с болка към 25.91 ± 13.05 за пациенти без болка).

Високите нива на CRP и ниските нива на Висфатин при пациентите с болка още веднъж потвърждават обратнопропорционалната зависимост между двата маркера, която беше установена по-рано.



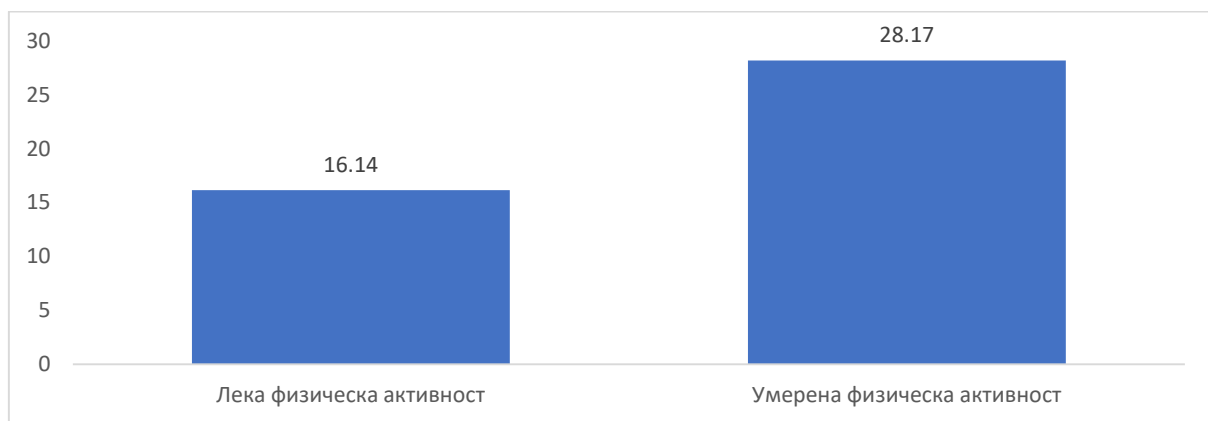
Фиг. 32. Средни нива на Висфатин според наличието на болка

При 30 % болката е оказала влияние върху тяхната работоспособност, което допълнително понижава качеството има на живот, като нивата на Висфатин при тези пациенти са още по-ниски ($p=0.009$) (Фиг. 33).

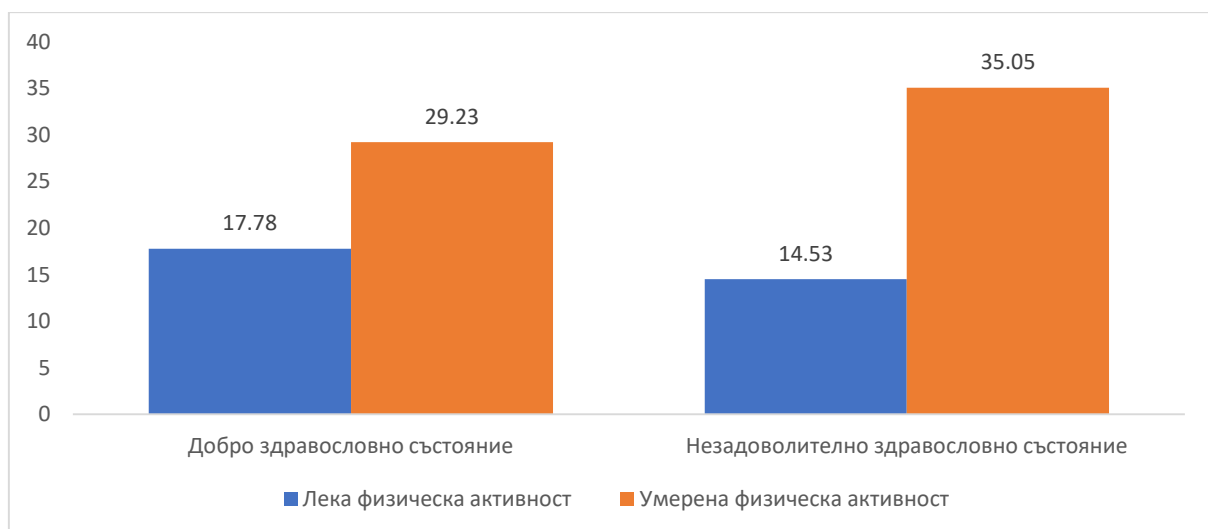


Фиг. 33. Средни нива на Висфатин според влиянието на болката върху работоспособността

От гледна точка на физическата активност може да се каже, 46.0 % имат лека физическа активност през деня, а 54.0 % умерена. При анализът на нивата на Висфатин според физическата активност се установи, че пациентите с лека физическа активност имат по-ниски нива на Висфатин ($p=0.034$) (Фиг. 34). Тези резултати се потвърждават и когато нивата на Висфатина се анализират през призмата на оценката за здравословното състояние и физическата активност ($p<0.01$). Както при пациентите с добро здравословно състояние, така и при тези с незадоволително леката физическа активност е свързана с ниски нива на Висфатин (Фиг. 35).

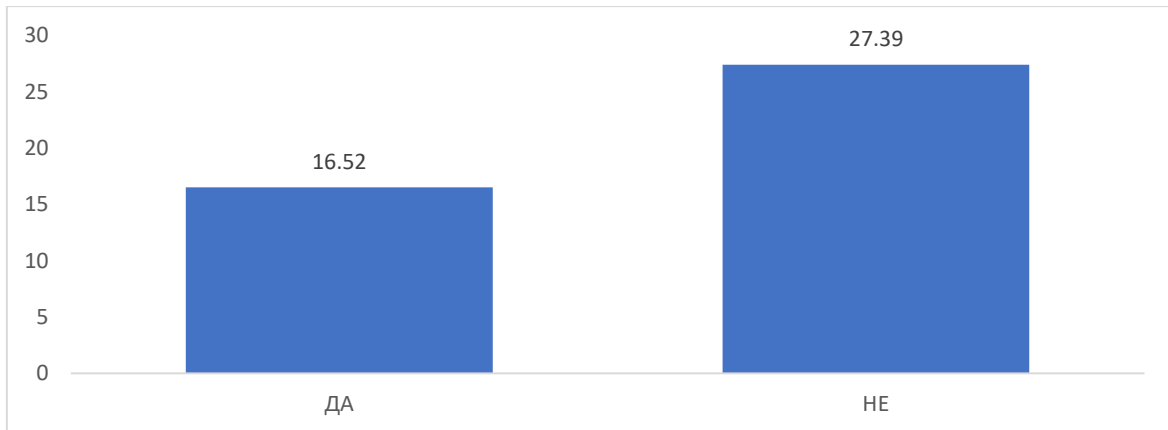


Фиг. 34. Средни нива на Висфатин според физическата активност



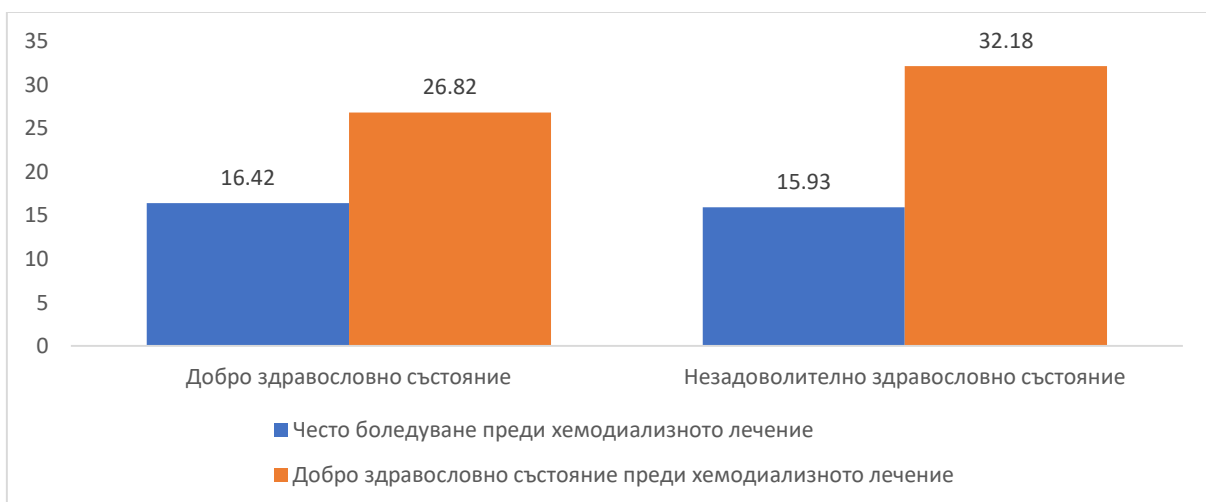
Фиг. 35. Средни нива на Висфатин според оценката за здравословното състояние и физическата активност

Преди започването на хемодиализно лечение често са боледували 32.0 % от пациентите, като анализът на нивата на Висфатин показва, че тези пациенти имат значително по-ниски стойности спрямо пациентите, които не са боледували ($p=0.027$) (Фиг. 36)



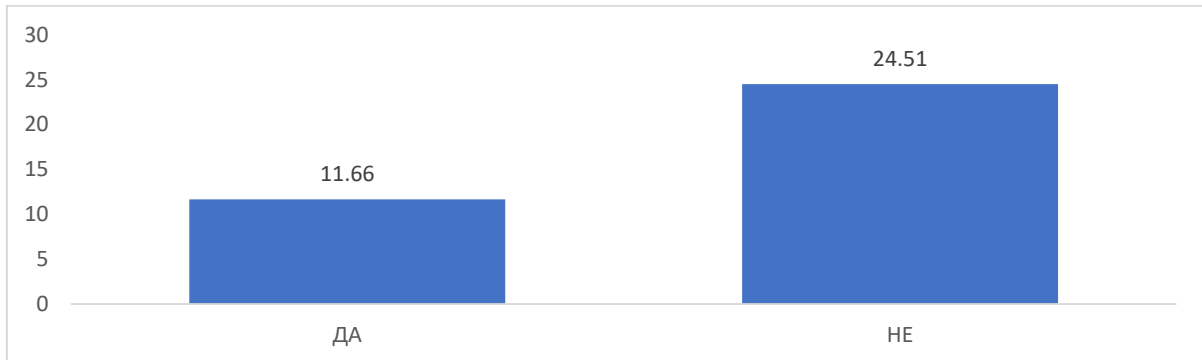
Фиг. 36. Средни нива на Висфатин според честото боледуване преди започване на хемодиализното лечение

От гледна точка на оценката за здравословното състояние също се установи, че честото боледуване е свързано с ниски нива на Висфатин ($p<0.01$) (Фиг. 37).



Фиг. 37. Средни нива на Висфатин според оценката за здравословното състояние и боледуването преди хемодиализното лечение

За чести хоспитализации съобщават 16.0 % от пациентите, като при тази група се наблюдават значително по-ниски нива на Висфатин ($p=0.045$) (Фиг. 38).



Фиг. 38. Средни нива на Висфатин според честите хоспитализации

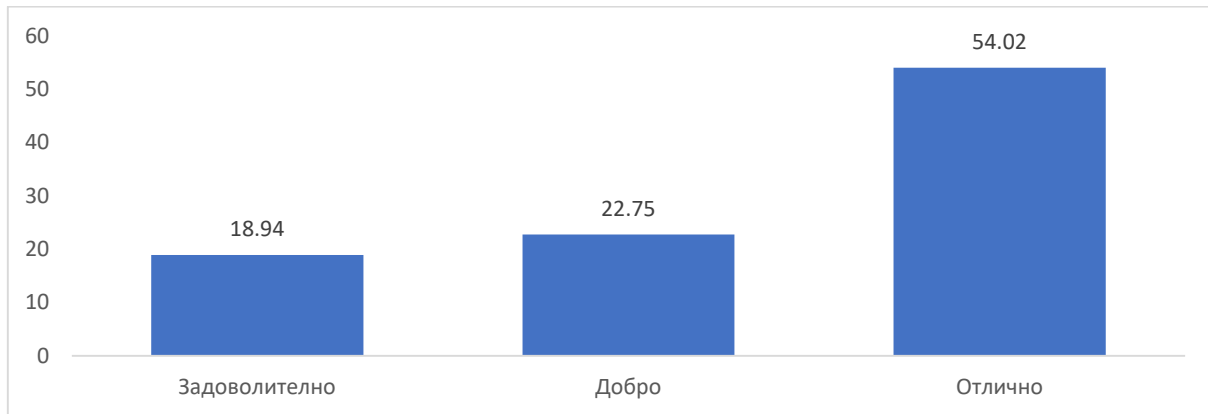
Въпреки, че не се установява съществена разлика нивата на Висфатин при наличието на стрес са по-ниски в сравняни с нестресираните пациенти (съответно 20.19 ± 23.75 при наличие на стрес и 29.79 ± 40.84 при липса на стрес).

Самочувствието на пациентите се свързва с по-доброто качество на живот, като в настоящото изследване 50 % от пациентите определят самочувствието си като задоволително (Фиг. 39).



Фиг. 39. Разпределение на пациентите според самочувствието по време на междудиагностичния период

Въпреки, че няма директна връзка с нивата на Висфатина анализът им още веднъж потвърждава, че високите нива на Висфатина се свързват с по-доброто здраве и качество на живот в настоящата извадка ($p=0.026$) (Фиг. 40).



Фиг. 40. Средни нива на Висфатин според самооценката за самочувствието

От взелите участие в анкетата пациенти 96% споделят за лека до умерена физическа активност в своето ежедневие. Преобладава броят на тези, които не спортуват - 88%.

По показател „затруднение при обичайни физически натоварвания“ броят на участниците подкрепили това твърдение е 54%. Анкетираните споделят за силно намалена дивигателната активност в своето ежедневие (< 1км) - 58%.

От взелите участие в анкетата пациенти най-голям е процентът на тези, които са безработни - 72%. Само 28% споделят, че са назначени на трудов договор. От работещите пациенти 70,8% споделят за наличие на промяна в климата на работно си място след започване на хемодиализно лечение. Въпреки това, при 66,7% от тях споделят, че това е възприето добре от техният началник. Само при 15,2% е усетено напрежение на работното място. От работещите пациенти 36 % споделят за подкрепа от страна на техните колеги на работното място.

По показател семейна/социална среда 94% от хората са получили подкрепата на своите семейства след като са започнали заместително лечение на бъбречната функция. От анкетираните 66% са запазили позитивните си контакти в своята социална среда. Малко повече от половината - 56%, споделят за проблеми в интимния си живот.

Над половината (54 %) от анкетираните пациенти споделят, че здравословното им състояние се подобрява и намаляват оплакванията и чувството за болка, след започване

на хемодиализно лечение. От хората 40% са отговорили положително за наличието на симптом на болка, като от тях 46% споделят, че тя не е оказала влияние върху работоспособността им. Малко повече от половината анкетирани - 54% определят своето здраве като незадоволително. Въпреки това само 42% от тази група посещават редовно своя личен лекар/стоматолог.

От анкетираните пациенти 80% не смятат, че им се налагат по-чести хоспитализации. Близко 2/3 от пациентите споделят, че не боледуват по-често спрямо преди започване на хемодиализно лечение. Важно е да се отбележи по-честата умора (82%), емоционалното напрежение (48%), напрегнатост (58%), стрес (46%) и проблеми със съня (68%) при изследваните пациенти провеждащи заместително лечение на бъбречната функция. Малко над 1/3 от анкетираните пациенти споделят за липсата на самочувствие, като от останалите пациенти 50% го определят като задоволително.

Според мнението на 60 % от пациенти в диализната групата, медицинските грижи, които се полагат за тях от здравните работници са добри. 74 %, смятат, че медицинският персонал отделя достатъчно време за тях, а 86 % от анкетираните са доволни от полаганите за тях грижи от лекуващия екип.

При анкетираните пациенти прави впечатление, че с увеличаване периода на провеждане (> 1 година) на диализно лечение намаляване на физическата им активност. Също така е малък процента на работещи пациенти, които споделят за промяна на климата на работното си място след започване на лечение. Преобладаващата част от тях имат подкрепата на своя работодател и колеги, но не е малък и броят на тези, които споделят за напрежение на работното място и промяна в отношението към тях.

Преобладават пациентите, които споделят за намалена физическа активност, ограничени до липсващи социални контакти. Има напрежението на работното им място и ясно изразен психо-емоционален стрес. От всичко до тук може да се направи извод, че качеството на живот при тях би било намалено.

Положителен е факта, че изследваните участници имат подкрепата на своите семейства. Голям е процент на тези, които споделят за намаляване на оплакванията и болката, които биха довели до бъдещи хоспитализации след започване на заместително лечение на бъбречната функция.

От анкетираните става ясно, че диализните пациенти не посещават често своите лични лекари, като по този начин не обръщат достатъчно внимание на здравословното си състояние и проблемите с психо-емоционалното си състояние.

V. ОБСЪЖДАНЕ

В проучването си Fathima et al. [47] докладват, че серумните концентрации на висфатин са значително повишени при пациенти с ХБЗ в сравнение с контролната група здрави пациенти. Сравнени са нивата на серумният висфатин в различните стадии на ХБЗ, като се открива тяхното прогресивно увеличение от стадий 2 до стадий 5 на ХБЗ. Той е увеличен относително в ранните етапи на ХБЗ и продължава с прогресия на бъбречната дисфункция, като обратно корелира със стойностите на креатининовия клирънс (CCr). От проведените до момента проучвания се доказва силно позитивна корелация на серумния висфатин със стойностите на кръвната урея, серумен креатинин, CRP, триглицериди (TGL) и VLDL-холестерол. Тези констатации са в съответствие и с изследването на Tang et al, които съобщават за повишение в стойностите на серумните нива на висфатин при всички етапи на ХБЗ. [163] Получените в настоящия дисертационен труд резултати не подкрепят описаното твърдение от авторите до момента. При изследваните групи пациенти се наблюдава намаляване в стойностите на Висфатин с прогресия на ХБЗ. Не се регистрира връзка между стойностите на урея, серумен креатинин и Висфатин. В 22,7% от случаите изменения в стойностите на CCr са свързани с изменения в стойностите на Висфатин при преддиалината група пациенти.

В проучване на Korzh et al. (2020) се установява, че серумният Висфатин е значително и обратно свързан с eGFR ($r = -0,79$, $p < 0,0001$) и положително свързан с албумина в урината ($r = 0,71$, $p < 0,0001$) при участниците в проучването. [85]

ХБЗ е състояние на хронично персистиращо нискостепенно субклинично възпаление, при което има хронично системно повишаване на провъзпалителните медиатори и цитокини, освободени от мастната тъкан. Бъбреците играят важна роля в екскрецията на адипокини. Намалената бъбречна функция при пациенти с ХБЗ води до променено използване на тези адипокини, причинявайки натрупването им в организма. Следователно, серумните нива на висфатин са повишени при пациенти с ХБЗ, който играе важна роля при вродения имунитет. Той още се секретира от активирани лимфоцити, моноцити и неутрофили и стимулира секрецията на IL-6 чрез P38 митоген-активирана протеин киназа (МАРК) и пътища на МАРК киназа-1. [10, 112, 122] Висфатин също индуцира експресията на възпалителни медиатори в ендотелни клетки чрез ядрения фактор (NF)- κ B път. Следователно той може да играе и индиректна роля при сърдечно-съдовите заболявания (ССЗ) при пациенти с ХБЗ.

Дислипидемия която е, атерогенен рисков фактор допринася за иницирането и прогресирането на ХБЗ частично чрез стимулиране и усилване ефекта на възпалителни механизми. В проучването на Fathima et al. [47] се наблюдава значително по-високо ниво на серумените триглицериди (TG) и VLDL при изследваните пациенти, спрямо контролите. Учените също наблюдават значително по-ниски стойности на серумния HDL спрямо контролната група здрави пациенти и липса на съществена разлика в TG и LDL в двете групи. В проучването се доказва значителна положителна корелация между нивата на серума висфатин с TG и LDL, която е независим силен предиктор за сърдечно-съдови събития. Сравнено с получените стойностите на HDL, се наблюдава отрицателна корелация, която считат за независим силен противоположен предиктор за ССЗ.

Натрупаните доказателства сочат, че мастната тъкан вече не се счита само за депо за съхранение на триглицериди, а също и за истински ендокринен орган, който синтезира и секретира широк спектър от разнообразни биоактивни фактори, наречени адипокини. Тези адипокини могат да се секретират и действат локално в мастната тъкан и е доказано, че имат различни роли *in vivo*, включително модулиране на липидния метаболизъм, възпаление, инсулинова резистентност, имуен стрес отговор и съдова хомеостаза. [154] Висфатин първоначално е идентифициран като нов адипокин с инсулин-миметични свойства при мишки и е адипоцитокин, чиято циркулираща концентрация се установява, че е повишена при метаболитни нарушения и затлъстяване. [154] Адипоцитите са основният източник на висфатин и изчисленото физиологично плазмено ниво на висфатин е 15 ng/ml, като плазмената концентрация на висфатин нараства с натрупването на мазнини. [105, 152, 154] Няколко клинични проучвания показват, че циркулиращите концентрации на Висфатин са значително повишени при пациенти с ХБЗ в сравнение с нормалните контроли. [13, 176]

Това твърдение се подкрепя и от нашите резултати. Регистрира се трайно повишени стойности на Висфатин както преддиализната така и в диализната група пациенти.

В друго изследване на Ayar et al. през 2014 г. се установява, че при пациентите провеждащи диализно лечение нивата на Висфатин са по-ниски в сравнение с тези на групата без диализно лечение (съответно 31.9 ng/ml за пациенти на диализно лечение и 33.1 ng/ml за пациентите без диализно лечение) [14]. Тези резултатите се подкрепят и в настоящото изследване където средните нива на Висфатин в диализната група са

значително по-ниски (съответно 21.7 ng/ml за диализната група и 26.7 ng/ml за преддиализната група)

При пациенти с диабет се съобщава, че има значителна отрицателна корелация между плазмената концентрация на Висфатин и креатининовия клирънс или ендотелната функция, оценена от FMD. [162] В тази проспективна група ние първо показваме, че циркулиращият висфатин е независим предиктор за намаляване на eGFR.

При търсене на потенциална връзка между стойностите на CRP и висфатин, учените наблюдават значително по-високо ниво на CRP при пациентите с ХБЗ, спрямо контролната група. Това доказва положителната потенциална връзка между възпалението и Висфатина. Възпалението и дислипидемията са добре известни като рискови фактори за атеросклероза. Висфатин играе важна роля при свързване на възпалението и липидната дисрегулация с атеросклерозата.

В настоящото проучване на фона на наличен инфламаторен статус се установява съществена разлика в нивата на CRP и албумин между двете изследвани групи пациенти. Високите нива на CRP корелират умерено правопрпорционално с прогресията на ХБЗ и възпалителния процес ($r=0.462$; $p<0.001$). При изследваната група диализни пациенти CRP корелира обратнопропорционално със стойностите на Висфатин. ОТ друга страна се установи, че при липсата на възпалителен процес ($CRP<5.0$ mg/l) нивата на Висфатин са значително по-ниски (13.01 ng/ml към 25.68 ng/ml), с което се подкрепят твърденията в литературата, че при липсата на възпаление нивата на Висфатин са занижени.

От проучванията до момента се демонстрира, че повишените стойности на висфатин може да се разглеждат като маркер на ендотелна дисфункция (ЕД) и прогнозиране на честотата на сърдечно-съдови заболявания при пациенти с ХБЗ. Kim et al. наблюдават ефекта на висфатин върху съдовия ендотел, който индуцира появата на възпалителни медиатори в култивирани човешки ендотелна клетки чрез NF- κ B път. [83] Този биомаркер принадлежи към семейство на уремично задържащи вещества със средно молекулно тегло, които предизвикват адхезия на левкоцитите към ендотелната клетки и ендотела чрез индукция на клетъчни адхезионни молекули като вътреклетъчна адхезия молекула -1 и молекула на адхезия на съдови клетки - 1.

Доказано е че, висфатин също така подобрява производството на реактивни кислородни видове (ROS) чрез никотинамид зависим от аденин-динуклеотид фосфат-оксидазен път, който ускорява съдовите заболявания като причинява ендотелна

дисфункция. Натрупаните нива на висфатин при пациенти с ХБЗ може директно да повлияят съдовия ендотел и да предизвикат ендотелна дисфункция. В допълнение към това биомаркерът подобрява съдовата пролиферация и съзряване на гладкомускулни клетки. От всичко обсъдено до момента, може да се твърди, че той може да се разглежда като сурогатен маркер на ендотелната дисфункция при пациенти с ХБЗ. Тази теза се поддържа от Axelsson et al, който наблюдава положителна връзка между Висфатин и молекулата на адхезия на ендотелните клетки, която е маркер за ендотелна дисфункция. [13] Констатацията допълнително се подкрепена и от Yilmaz et al, които наблюдават подобряване в степента на ендотелната дисфункция чрез оценка поток-медираната вазодилатация на брахиалната артерия през първия месец след бъбречна трансплантация, като степента на подобрене е свързана с намаляване на концентрацията на висфатин в кръвта. [178]

В проучването на Bessa et al. [154], се обсъждат възможните корелации между новоидентифициран адипоцитокин - Висфатин и маркери на ендотелна дисфункция (ЕД), както и възпаление при египетските пациенти с ХБЗ. Доказва се, че серумните нивата на Висфатин са били значително по-високи при пациентите с хронично бъбречно заболяване, спрямо контролната група здрави пациенти, като това корелира и положително със серумните ICAM-1 и VCAM-1 при пациенти с ХБЗ. Тези резултати са в съгласие с констатациите направени от Axelsson et al. [13], и Malyszko et al. [104]. Те показат връзката между циркулиращи нива на висфатин и ендотелни адхезионни молекули, обсъждани като сурогатни маркери за ендотелната дисфункция, тясно свързана с наличието на ССЗ при пациенти с ХБЗ, както и като важен предиктор за тях [155]. Това наблюдение може да се дължи на факта, че неправилно функциониращата сигнализация на мастната тъкан се отразява с повишение в стойности на висфатин при ХБЗ и може да влияе пряко на съдовия ендотел, причинявайки неговата дисфункция. Kim et al. [83] през 2008 година подкрепят тази връзка.

В проучването на Bessa et al. [154] като метод за оценка на ендотелната функция е използван поток-медираната вазодилатация (FMD) на брахиалната артерия. Висфатин е силно и независимо асоцииран с FMD в множествен регресионен модел. Съобщава се, че той обратно корелира с функционалните промени при поток - медираната вазодилатация на брахиалната артерия при пациенти с ХБЗ [178] и ранната диабетна нефропатия [176]. Техните резултати са подкрепени от Yilmaz et al. [177], които документират, че ендотелната функция се подобрява през първия месец след бъбречна

трансплантация, като степента на подобрение е свързана с намаляване на циркулиращия Висфатин. С оглед на тези резултати се препоръчва висфатина да се разглежда като един от най-обещаващи маркери на ЕД при пациенти с ХБЗ. Тъй като е известно, че FMD зависи от наличието на азотен оксид (NO) [70], то е възможно тя да бъде повлияна вследствие на отрицателния ефект на Висфатин спрямо азотния оксид. Нарушената ендотел-независима вазодилатация (NMD), която се наблюдава в проучването може да бъде обяснена с редукцията на бионаличния NO до съдовите гладко-мускулни клетки и / или гладкомускулна дисфункция. Тази промяна би могла да бъде причинена и от повишен оксидативен стрес в съдовата стена [33].

В проучването се обсъжда още наличието на отрицателната корелация между серумният Висфатин и скоростта на гломерулната филтрация (GFR) при пациенти с ХБЗ. Това предполага, че нивата на Висфатин са повлияни от бъбречната функция. [13] Обсъжда се, че повишеното ниво на висфатин се дължи на спад в GFR. Дали повишените му стойности могат от своя страна самостоятелно да допринесат прогресията на бъбречното увреждане до момента не е известно. Патофизиологичната роля на висфатина в бъбреците заслужава по-нататъшни проучвания.

В научния труд се обсъжда още, че серумният Висфатин положително корелира със стойностите на възпалителните маркери, IL-6 и CRP, но отрицателно със стойностите на серумния албумин при пациенти с ХБЗ. Това потвърждава тясната връзка на Висфатин с възпалителния процес и хипоалбуминемия, която е описана и при Axelsson et al и Malyszko et al [13, 105]. В проучването на Kato et al. [75] приемат тези предложения и при пациентите провеждащи хемодиализа. Това демонстрира, че Висфатинът може да окаже влияние както на възпалителен статус, така на атеросклеротичните промени при тази група пациенти. Няма съмнение, че адипокин-управляващото възпаление играе ключова роля при ХБЗ. Подобни корелации са докладвани от Oki et al. [123] при японски американци. Интересно да се отбележи, че Висфатинът има провъзпалителни свойства. Той активира човешките левкоцити и индуцира производството на проинфламаторни цитокини, включително IL-1 β , тумор фактор на некроза-алфа (TNF- α) и IL-6 [112]. В допълнение, експресията на висфатин е открита и в синовиалните фибробласти при пациенти с ревматоиден артрит [24] и при свръх регулираната от макрофаги на пенестите клетки дестабилизация на плаките в атеросклеротичните лезии на каротидните и коронарни съдове [37]. Освен това може да има съществена роля в патогенеза на диабетната нефропатия [74].

Нашите резултати подкрепят твърдението, че ниските нива на серумен албумин корелират умерено с прогресията на ХБЗ и правопрпорционално с ниските нива на Висфатин.

В научната работа на Lotfy et al. [98], търсят връзката между серумния Висфатин с някои клинични и биохимични параметри при пациенти с ХБЗ – индекс на телесна маса (ИТМ), ниво на кръвна захар, посхрандиално ниво на кръвна захар, ниво на хемоглобин, липиден профил, серумна урея, серумен креатинин, калий и фосфор.

При изследваните пациенти индексът на телесна маса (ИТМ) е в нормални граници, като тези със затлъстяване и висок ИТМ влияят на серумния висфатин [142]. Докладва се положителна връзка между високия ИТМ и риска за ХБЗ [51, 66]. Освен това, високият ИТМ се асоциира и с гломерулна хиперперфузия и хиперфилтрация, които от своя страна биха довели до бъбречно увреждане с протеинурия при гломерулопатия, свързана със затлъстяването. [73, 166]. ИТМ се счита за често срещан, силен и потенциално модифицируем независим рисков фактор за ХБЗ [51]. Затлъстяването също е рисков фактор водещ до прогресивна загуба на бъбречната функция при пациенти с известно бъбречно заболяване [108].

От получените резултати се установява съществена разлика в стойностите на ИТМ според отделните нива на Висфатин между двете групи. Регистрират се по-ниски стойности на ИТМ при пациентите, провеждащи заместително лечение на бъбречната функция и характеризиращи се с по-ниски стойности на Висфатин.

В проучването на Lotfy et al. [98] се докладва за значителното увеличение в стойностите на серумния висфатин при пациентите с ХБЗ на хемодиализа в сравнение с контролната група. Тезата за повишаване в стойностите му при пациенти с ХБЗ, също е потвърдена от Axelsson [13] et al, както и от други проучвания. Алексон също открива връзка между Висфатин и разтворимата съдова адхезионна молекула - 1, която е биомаркер за ендотелно увреждане при ХБЗ. Освен това, протеинурията от своя страна е важен предиктор за ендотелна дисфункция при диабетна нефропатия, като е интересна асоциацията наблюдавана между нея и нивото на Висфатин [178].

Публикуваните резултати на Lotfy et al. [98] обаче са в разногласие с тези на Nüsken et al. [118]. Те откриват ниски нива на серумен висфатин сред кохортата от пациенти с терминална бъбречна недостатъчност, лекувани с хемодиализа, като това може да се дължи на факта, че техните пациенти показват намаляване на телесната

мастна маса с повишени нива на инсулин. Това повишаване на инсулиновите нива в изследването на Нюскен и колегите му може да обясни силно значимата отрицателна корелация между Висфатин и кръвна захар (както на гладно, така и постпрандиално) при групата от пациенти в проучване на Wahab et al. Необходими са допълнителни проучвания на тази корелация, за да изследва по-подробно връзката на Висфатина с гликемичното състояние, тъй като е известно, че инсулинът потиска ниво на Висфатин [4]. Друго обяснение за ниската стойност на кръвната захар може да бъде понижаващият глюкозата ефект на висфатин, както е предложено от Naz et al. [116]. От друга страна би могло да има и други фактори, които оказват влияние върху ниво на висфатин - като апетит на пациентите, както и състояние на хидратация, което е изследвано от Chumlea et al. [30]. Времетраенето на диализата и адекватността ѝ също могат да окажат влияние върху нивата на висфатин при пациенти на хемодиализа, поради намаления клирънс на Висфатин [103].

Нашите резултати подкрепят тезата на Нюксен, като регистрираните стойности на Висфатин са по-ниски сред пациентите провеждащи заместително лечение на бъбречна функция спрямо преддиализната група пациенти.

В проучването на Lotfy et al, не се открива значима корелация между серумния висфатин и серумния креатинин, както и значителна отрицателна корелация с кръвна урея. [98] Това е в дисонанс с получените от Fathima el al резултати. [47]. Предвид това от проучването на Wahab et al. може да бъде повдигнат въпроса: повишен ли е Висфатин поради намален клирънс на Висфатин или поради продължаващия възпалителен процес, както е предложено от Malyszko et al. Резултати до момента могат отчасти да отговорят на това, тъй като се установява липса на корелация между серумен висфатин и креатинин и обратно корелация с урея, въпреки високия серумен креатинин и урея при пациенти в уремичната група. Тази хипотезата се подкрепя и от нормализирането на ендотелна дисфункция след бъбречна трансплантация, придружена от намаляване на циркулиращия висфатин [177].

Lotfy et al. демонстрират положителната връзка между серумен висфатин и серумната пикочна киселина, като се има предвид, че тя се разглежда като проинфламаторен маркер [98]. Ruggiero et al. [139] също потвърждават връзката между пикочната киселина и Висфатин като възпалителен маркер, който играе роля при възпаление и атеросклерозата при диализни пациенти и отговаря на въпроса задедаден през 2013г от Lobo et al: Има ли връзка между пикочната киселина и възпаление при

пациенти на хемодиализа? Докладването от Lobo et al. е в съгласие с получените преди тях резултати, които показват, че нивата на пикочна киселина корелират с възпалителни маркери и адхезионни молекули при пациенти провеждащи заместително лечение на бъбречната функция [96].

От друга страна нашите резултати показват, че ниските нива на пикочната киселина се асоциират с високо нива на Висфатин ($r=-0.323$; $p=0.039$).

Анемията, която се развива в началото на ХБЗ и е почти постоянна при пациенти с ХБН стадий 5 [78]; В резултатите на Wahab et al. се открива значим отрицателна корелация между нея и стойностите на серумен висфатин. Тази връзка доведе до хипотезата, че висфатинът може да има ефект върху патогенезата на анемичния синдром при ХБЗ. Асоциация, която Orasan et al. [124] обсъждат, се състои в това, че приложение на l-карнитин при пациенти с ХБЗ на хемодиализа може да доведе до намаляване на висфатин и подобрене на ендотелната дисфункция, но не предизвика подобрене в нивото на хемоглобина или има причинно - следствена връзка с анемията, както се предполага от Kaugusuz et al. [76]. Те смятат, че високите нива на Висфатин могат да взаимодействат с параметри на серумното желязо. Друго обяснение може да бъде това, че серумния висфатин може да играе роля в нечувствителността към еритропоетин в допълнение към намаленото производство на еритропоетин през пациенти с бъбречна недостатъчност [169].

В настоящия дисертационен труд като маркери имащи отношение към анемичния синдром бяха разгледани – sEPOR, Витамин В12, фолиева киселина и серумно желязо. От получените резултати се доказва съществена разлика в стойностите на фолиевата киселина в двете групи, докато нивата на Витамин В12 не се различават значително въпреки по-ниските стойности, които се наблюдават при пациентите в диализната група. Съществена разлика се откри по отношение на нивата на фолиевата киселина и нивата на Висфатин ($p<0.05$). Впечатление прави, че нивата на фолиевата киселина са по-високи при пациентите в диализната група, което е резултат от провежданата терапия. Анализът на изменението в нивата на витамин В12 според нивата на Висфатин в двете изследвани групи показва, че при пациентите в преддиализната група се установява намаляваща тенденция на нивата на Витамин В12 с увеличаване на нивата на Висфатин ($p<0.05$). От друга страна при прогресията на ХБЗ до терминален стадий се наблюдава поддържането на приблизително еднакви нива на Витамин В12, независимо от нивата на Висфатин, което се обяснява с провеждането на субституираща терапия. Установена е съществена

разлика в sEPOR между двете групи пациенти, като той има по-високи стойности при пациентите в преддиализната група. При разглеждане връзката между sEPOR и Висфатин се показва, че между двата показателя има умерена положителна корелация ($r=0.336$; $p=0.035$), която показва, че високите нива на sEPOR се асоциират и с високи нива на Висфатин при пациентите в преддиализната група.

От получените резултатите се вижда, че има разлика в средните стойности на sEPOR според стойностите на Висфатин, като в преддиализната група е представена вече доказаната положителна асоциация, докато в диализната група има достигане на пик на sEPOR при нива на Висфатин между 5.62-15.66 ng/ml (171.38), след което започва значително да намалява. Тези резултати доказват връзката на sEPOR с появата на анемичен синдром при пациенти в напреднал стадий на ХБЗ.

Установена съществена разлика в стойностите на серумното желязо по отношение на праговата стойност на Висфатин ($p=0.046$), като при стойностите на Висфатин под 16.92 ng/ml нивата на серумното желязо са занижени (съответно 9.06 ± 4.04 към 11.11 ± 6.07), като тенденцията се запазва в двете изследвани групи.

По отношение на корелацията между серумния висфатин и липидния профил, Wahab et al, също както Fathima el al. [47], откриват положителна корелация между стойностите на серумния висфатин и серумни триглицериди (TG) сред пациентите с ХБЗ, като това е в съгласие с резултатите на Mu et al. [113]. Му също показва положителната корелация на висфатин със серумния LDL и отрицателната такава със серумния HDL, като това се открива и в резултатите на Wahab. По този начин още веднъж се потвърждава ключовата ролята, на висфатин при атеросклерозата, свързана с уремия.

В проучване на Carrero el al [27], проведено сред пациенти с напреднало ХБЗ, се съобщава, че повишеният циркулиращ висфатин е свързан със загуба на апетит и намалена циркулация в нивата на аминокиселини и триацилглицероли. Установено е също, че висфатин е свързан със загуба на апетит при пациентите. Анорексията е често срещана сред пациентите с ХБЗ, като корелира с липсата на апетит. В проучването си авторите докладват, че високите стойности в циркулацията на висфатин се свързват с намален апетит. Смята се, че висфатин участва в регулацията на хранителните навици. Carrero el al [27], изследват стойностите на висфатин сред 246 пациента в стадий 5 на ХБЗ, започващи хемодиализно лечение. От получените резултати не се открива асоциация между нивата на серумен висфатин и индексът на телесна маса (ИТМ), или със стойностите на серумен лептин. В групата пациенти с влошен апетит, нивата на висфатин

са значително високи. Те докладват правопрпорционална корелационна връзка на висфатин с наличната анорексия при тази група пациенти и ниски стойности на серум албумин, холестерол и триглицериди, както и по-ниски основни и неесенциални серумни аминокиселини.

Известно е обаче, че субективната оценка на качеството на живот е многофакторна и следователно прогресията на бъбречната дисфункция може да не е единственият определящ фактор за нейното влошаване. В нашето проучване повече социално-демографски фактори (възраст, етническа принадлежност, пол, професионална дейност, образование, доходи) са свързани с намалено QOL, отколкото физически фактори. В допълнение към това е възможно субективни фактори като адаптация към заболяване и лечение, удовлетвореност от медицинския персонал и социална подкрепа, наред с други, да се намесят директно в оценката на QOL, но не са оценени в това проучване. Влиянието на тези различни фактори върху оценката на QOL може да обясни трудността при установяване на линейна връзка с GFR.

Резултатите от настоящото изследване показват, че пациентите с ниски нива на Висфатин имат по-лошо КЖ, незадоволително здравословно състояние, изпитват често болка, която оказва влияние върху тяхната работоспособност, имат лека физическа активност, боледивали са често преди започването на диализното лечение, често се хоспитализират в лечебно заведение и имат задоволително самочувствие.

В заключение може да се каже, че ниските нива на Висфатин в настоящата извадка се асоциират с наличието на възпалителен процес, прогресия на ХБЗ, лош хранителен статус, в резултат на което пациентите са в незадоволително здравословно състояние и лошо качество на живот.

ИЗВОДИ

- 1) Установена е диагностичната стойност на Висфатин като неинвазивен маркер на възпалението при пациенти, провеждащи диализно лечение.
- 2) Нивата на Висфатин значително се понижават при наличието на възпалителен процес при пациентите провеждащи диализно лечение.
- 3) Въпреки, че се установява съществена разлика в ИТМ между двете изследвани групи, не се доказва корелация между Висфатин и хранителния статус на изследваните пациенти.
- 4) Нивата на Висфатин корелират негативно с продължителността на диализното лечение.
- 5) Ниските нива на Висфатин се свързват с по-лошо качество на живот и незадоволително здравословно състояние.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

От проведените анализи и получените резултати момента става ясно, че серумният висфатин би могъл да бъде нов биомаркер за ендотелна дисфункция (ЕД) използван при пациенти с ХБЗ. Разкриват се възможните връзки между повишен висфатин и възпаление при пациентите с ХБЗ.

Резултатите от настоящото изследване са в противоречие с тези на повечето автори относно връзката между нивата на Висфатин и възпалителния процес, като при пациентите в напреднал стадий на ХБЗ се наблюдават по-ниски нива на Висфатин. Доказа се, че по-ниските нива на Висфатин се дължат на хроничния възпалителен процес и съпътстващите изменения, свързани с ХБЗ.

Следователно, с прогресия в степента на ХБЗ, нивата на висфатин сред тези пациенти най-често прогнозира повишената смъртност. Висфатин може да се разглежда като нов маркер при пациенти с ХБЗ с цел прогнозиране на усложненията и качеството на живот.

ПРИНОСИ

Приноси с теоретичен характер

- 1) Настоящото проучване доказва за първи път в България диагностично-прогностичната стойност на Висфатин като нов неинвазивен биомаркер при пациенти в различен стадий на ХБЗ.
- 2) Направен е подробен преглед на литературните данни относно същността на Висфатина и значението му като неинвазивен маркер на възпалителния процес.
- 3) За първи път е проведено подобно проследяване в страната, което да определя нивото на Висфатин, както и определяне на връзката му с други биомаркери.

Приноси с практико-приложен характер

- 1) Изследван е неинвазивен биомаркер, който не се изследва рутинно сред пациентите проследяващи се в Клиниката по нефрология на УМБАЛ „Св. Марина“ – Висфатин и ролята му в диагностиката на възпалителния процес.
- 2) Разработен и предложен е алгоритъм за прогресията на заболяването и оценка качеството на живот при пациентите с ХБЗ, които провеждат диализно лечение, на база приложението на съвременни неинвазивни биомаркери.

ПРУБЛИКАЦИИ, СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Staykova Sv., Petrov P., Grudeva L. Quality of life and regular diet in patients with chronic kidney disease. Scripta Scientifica Medica, 2019;51(3)12-18
2. Петров А., Бенкова-Петрова М., Стайкова Св., Петров П., Ненова Д., Димиева-Динева Я., Колева Т., Желязков К., Дамянова Д., Иванова Б., Ахмед Е., Колева Р. Разпространение на хронично бъбречно заболяване сред населението на град Варна, община Вълчи дол и община Аврен, Актуална нефрология, бр. 1, том 13, 2019, 16-19
3. Стайкова Св., Петров П. Биомаркери и качество на живот при пациенти с хронично бъбречно заболяване. Актуална нефрология, бр. 1, том 14, 2020, 17-24