МНОГОПРОФИЛНА БОЛНИЦА ЗА АКТИВНО ЛЕЧЕНИЕ
„НАЦИОНАЛНА КАРДИОЛОГИЧНА БОЛНИЦА”, СОФИЯ

КЛИНИКА ПО КАРДИОЛОГИЯ

Д-р Илияна Христова Петрова-Стоянова

ИЗСЛЕДВАНЕ НА БЪБРЕЧНАТА ФУНКЦИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ ПОДЛОЖЕНИ НА ИНВАЗИВНО АНГИОГРАФСКО ИЗСЛЕДВАНЕ С НОВ БИОМАРКЕР - НЕУТРОФИЛ ГЕЛАТИНАЗА АСОЦИИРАН ЛИПОКАЛИН (НГАЛ)

АВТОРЕФЕРАТ

на

ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД

за присъждане на образователна и научна степен „ДОКТОР”

Научни ръководители:

Проф. д-р Нина Гочева, дм

Проф. д-р Борис Богов, дм

Докторска програма – „Кардиология”

Професионално направление – Медицина

Област на висшето образование – Здравеопазване и спорт

София

2020 г.

Дисертационния труд е представен на 282 стандартни страници, визуалното онагледяване съдържа 82 таблици и 95 фигури, а в приложения са включени допълнително 28 таблици и 13 фигури. Библиографията съдържа 407 литературни източника, от които 4 на кирилица и 403 на латиница.

Дисертационния труд е обсъден и одобрен за публична защита на заседания на Първичното научно звено на 10.02.2020 г.

Дисертантът работи като асистент – кардиолог към Клиника по Кардиология в Национална Кардиологична Болница, София

Публичната защита на дисертационния труд ще се състои на 03.07.2020 година от 12,00 часа в залата на МБАЛ-НКБ, София, ул. „Коньовица“ 65

Съгласно „Правилника за условията и реда за придобиване на научните степени и заемане на академичните длъжности“ в МБАЛ „НКБ“ ЕАД София и въз основа на заповед на изпълнителния директор на НКБ е избрано научно жури в състав:

Председател:

Проф. д-р Борислав Георгиев, дм – вътрешен член

Членове:

Проф. д-р Елина Трендафилова, дм – вътрешен член

Проф. д-р Диана Трендафилова, дм – външен член

Доц. д-р Атанас Кундурджиев, дм – външен член

Проф. д-р Боряна Делийска, дмн – външен член

Резервни членове:

Проф. д-р Тошо Балабански, дм – вътрешен член

Доц. д-р Рая Иванова, дм – външен член

Материалите по защитата са на разположение в Отдел „Научна и учебна работа и информационно осигуряване“ към НКБ и са публикувани на интернет страницата на МБАЛ „НКБ“ ЕАД, София

СЪДЪРЖАНИЕ:

Въведение 5

Цел 7

Задачи 7

Материал 8

Методи 16

Резултати 19

I. Основни характеристики на групите пациенти 19

II. Динамични промени на серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ 29

III. Обобщено представяне на промените в креатинин, ГФ и НГАЛ във всяка група по отделно и междугрупови сравнения 36

IV. ROC анализ 46

V. Относителни промени в серумен креатинин, ГФ и НГАЛ по групи 51

VI. Корелационен анализ 56

VII. Влияние на други клинични състояния върху нивата на плазмен НГАЛ 57

VIII. Скали за рискова оценка на пациенти подложени на контрастно ангиографско изследване 58

Дискусия 67

Изводи 83

Приноси 85

Публикации и участия в научни форуми във връзка с дисертационния труд 86

Използвани съкращения на кирилица

АКБ	аорто-коронарен байпас операция
АХ	артериална хипертония
БМ	биомаркер
ГФ	гломерулна филтрация
ДЛП	дислипидемия
ЕДТА	Етилендиаминтетраацетат
ЕхоКГ	Ехокардиография
ЗД	захарен диабет
ИБС	исхемична болест на сърцето
Изх ↑НГАЛ	изходно висок НГАЛ
Изх нНГАЛ	изходно нормален НГАЛ
ИТМ	индекс на телесна маса
КБ	коронарна болест
КВ	контрастно вещество
КИН	контраст-индуцирана нефропатия
КИ-ОБУ	контраст-индуцирано остро бъбречно увреждане
МИ	миокарден инфаркт
НГАЛ	Неутрофил Гелатиназа Асоциран Липокалин
НКБ	Национална Кардиологична Болница
ОБУ	остро бъбречно увреждане
ОКС	остър коронарен синдром
ОМИ	остър миокарден инфаркт
ПКИ	перкутанна коронарна интервенция
САП	стабилна ангина пекторис
СБД	сериозна бъбречна дисфункция
$СБД_{креат}$	риск от сериозна бъбречна дисфункция изчислен спрямо креатинин
$СБД_{нгал}$	риск от сериозна бъбречна дисфункция изчислен спрямо НГАЛ
СКАГ	селективна коронарна ангиография
СН	сърдечна недостатъчност
ФИ	фракция на изтласкване
ФК	функционален клас
ХБЗ	хронично бъбречно заболяване
ХД	хемодиализа

Използвани съкращения на латиница

ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
AUC	area under curve (площ под кривата)
CI	confidence interval
Cut-off value	гранична стойност
CV	coefficient of variation
IABP	intra-aortic balloon pump (интра-аортна балонна контрапулсация)
IL-18	interleukin-18 (интерлевкин -18)
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KIM-1	Kidney Injury Molecule-1
L-FABP	Liver Fatty Acid Binding Protein
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
Me	median (медиана)
NGAL	Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin
NS	not significant
QD	quartile deviation (квартилно отклонение)
ROC	receiver operating characteristic

ВЪВЕДЕНИЕ

Непрекъснатия напредък на медицината и развитието на все по-сложни и високо технологични процедури, води до разширяване употребата на образните методики, както в диагностичен, така и в терапевтичен план. Минимално инвазивния подход, който е характерен за коронарната ангиография и перкутанните интервенции, позволява обхващането на голяма част от настоящите пациенти, бързо постигане на желаните резултати, минимален болничен престой, предотвратяване на големи нежелани събития и подобряване на дългосрочната прогноза. Наред с предимствата на инвазивната кардиология, несъмнено трябва да се имат предвид и потенциалните усложнения, характерни за всяка една методика. Влиянието на контрастното вещество върху бъбречната функция и различните степени на нейното увреждане, се нареждат сред слабите страни на ангиографските изследвания и в редица случаи може да доведе до избягване на тяхното приложение.

В литературата отдавна е описано, че настъпването на контраст-индуцираната нефропатия е свързано със съчетаното въздействие на множество патофизиологични механизми, което я превръща в трудно за предвиждане и предотвратяване състояние. Въпреки, че през последните години се съобщава за редуциране на честота на КИН вследствие на новите формули на контрастните вещества и предприемането на много по-адекватни профилактични мерки, сред кохортите с висок рисков профил (*пациенти с ОМИ със СТ-елевация, ХБЗ напреднал стадий, шоково състояние и др.*) честота остава висока, а последствията сериозни (*смъртност, ХД лечение и дългосрочно влошаване на бъбречната функция*). Стигайки до границите на съвременното познание за контрастната нефропатия, редица автори се фокусират върху тяхното преодоляване, търсейки нови молекулни механизми за терапевтично повлияване, други изследват все по-нови индивидуализирани превантивни стратегии, а трети автори се опитват да подобрят диагностичния процес чрез изследване и въвеждане на нови бъбречни биомаркери.

Предимствата и недостатъците на серумния креатинин като маркер за бъбречна функция са отдавна известни в литературата, и въпреки неговата масова употреба в клиничната практика, все повече се търсят начини за преодоляване на неговите слаби страни. Откриването, изучаването и натрупването на данни за новите структурни биомаркери в последните години, доведе до промяна в концептуалната рамка за остро бъбречно увреждане и въвеждане на нов подход, предложен от Работната група по Качествена инициатива при остра диализа (ADQI).[262] Съчетаването на информацията, която носи функционалния биомаркер серумен креатинин и допълването й с тази, установена от структурните биомаркери, може да спомогне допълнителното диагностицирането на различни състояния като субклинично ОБУ, преренална азотемия или „хемодинамично ОБУ“, да изясни фазите на развитие на остро тубулно увреждане. В литературата все повече се изследват с бъбречна насоченост биомаркери като Cystatin C, L-FABP, KIM-1, IL-18, NGAL и други.

В сферата на инвазивната кардиология обаче, отражението на тези съвременни тенденции от научното познание за бъбречната функция, среща две основни ограничения. На първо място, приемайки КИН като форма на остро тубулно увреждане, основните научни разработки в последните години са насочени към доказване на приложението на новите структурни биомаркери в тази насока. Изучаването на други клинични състояния, при които се позитивира само един от биомаркерите в комбинацията *(структурен или функционален)*, в контекста на контрастните изследвания, практически почти липсва или се откриват изолирани съобщения. Едва неколцина автора споменават наличието на субклинично КИ-ОБУ при ангиографски

проучвания, като публикуваната в тях информация за представянето на новите биомаркери, е предимно описателна и доста инсуфициентна.

На второ място, трябва да се отбележи, че не всички от изучаваните в нефрологията биомаркери, доказват своята диагностична способност при КИН. Редица от тях не могат да отграничат настъпването на усложнението при лицата, подложени на контрастно изследване спрямо останалата група *„без КИН“* или не демонстрират сериозни предимствата пред серумния креатинин. Късното повишаване на последният е основна причина за забавянето на диагностичния процес и стесняването на времевата рамка трябва да бъде сред основните предимства на новите биомаркери.

НГАЛ успява да преодолее посочените недостатъци с достатъчно натрупани доказателства, че молекулите му подлежат на бърза свръхрегулация след приложението на контрастно вещество и е възможно регистриране на повишени нива още в рамките на първите 4-6 часа.[325,327,329,331] Отчитането на промени в неговите стойности само сред лицата с настъпило бъбречно увреждане се потвърждава от редица автори и го поставя на едно от първите места при ранната диагностика на КИН. Същевременно динамичните му особености и референтни граници при специфични популации пациенти, подложени на контрастно изследване все още не са напълно изяснени.

В редица области на медицината се откриват научни съобщения относно ролята на НГАЛ като биомаркер, отразяващ влиянието на различни заболявания върху бъбречните структури (захарен диабет, сърдечна недостатъчност, ХБЗ и др.), изследва се връзката между исхемичната болест и експресията на НГАЛ, търси се предиктивната сила на изходно повишените му нива и определяне на прогнозата за бъбречната функция. Всички тези данни в литературата се цитират от отделни авторски колективи, без обаче да се предлага обобщен подход или анализ върху ролята на биомаркера при пациенти, чиято коморбидност може да съчетава всички изброени състояния. Приложимостта на НГАЛ като измерител на бъбречно състояние, отразяващо взаимодействието между придружаващите заболявания и приложението на контрастно вещество е сфера на научното познание, която е слабо изследвана и поставя много въпроси.

Не на последно място трябва да се отбележи, че в опитите да се предвиди настъпването на КИН и да се предприеме адекватно своевременно поведение, много автори се фокусират върху разработването на рискови скали и въвеждането им в клиничната практика. Общото за всички тях е, че изчислението на риска се базира върху стойностите на серумния креатинин. Дали е възможно надеждите, които се възлагат на новият биомаркер НГАЛ, да бъдат екстраполирани към неговото въвеждане в изходната оценка на пациентите и рискова стратификация, не е демонстрирано до момента в научните проучвания. Съществуват данни обаче, че повишените нива на НГАЛ могат да корелират с неблагоприятна прогноза в бъдеще и повишена смъртност и/или заболеваемост, както и с ускорената прогресия към ХБЗ.

В обобщение, може да се каже, че инвазивната кардиология е изключително динамична област от кардиологията, но инкорпорирането на съвременните данни относно новите структурни биомаркери, натрупани в нефрологията и другите медицински направления, заслужава специално внимание и се нуждае от допълнителни научни изследвания. Безспорно добавянето на информацията, която може да донесе изследването на НГАЛ към досегашния подход при КИН, може много да усложни настоящите представи, но само така е възможно да се *„повдигне завесата“* към новите хоризонти на недостатъчно изяснените научни области.

ЦЕЛ

Целта на проведеното научно проучване е да се изследва бъбречната функция при група от пациенти, които са подложени на планово инвазивно ангиографско изследване чрез приложението нов биомаркер – Неутрофил Гелатиназа Асоциран Липокалин (НГАЛ) и неговото съпоставяне спрямо серумния креатинин и ГФ.

ЗАДАЧИ

1. Да се проследи бъбречната функция при пациенти, подложени на планово инвазивно ангиографско изследване, чрез определяне нивата на серумен креатинин и плазмен НГАЛ

2. Да се изследва диагностичната способност на структурния биомаркер НГАЛ да идентифицира самостоятелни клинични състояния или да спомага за отграничаването на такива от обща група, дефинирана спрямо критериите на серумния креатинин

3. Да се установи ролята на НГАЛ при изследване влиянието и отражението на рисковите фактори, и/или клиничен профил на пациентите върху нивото на бъбречната функция

4. Да се изследват корелациите между стандартизирани скали за оценка на риска при пациенти, подложени на инвазивно ангиографско изследване и приложимостта на новия структурен биомаркер

5. Да се определи теоретичната обоснованост и клинична приложимост при класифициране на извадката спрямо нивата на новия биомаркер НГАЛ

6. Да се въведе комбиниран подход за анализиране на резултатите спрямо едновременното отчитане на изходни нива и регистрирани динамични промени в биомаркерите

7. Да се определи ролята на НГАЛ, неговата сензитивност и специфичност като ранен биомаркер за диагностициране на контраст-индуцирана нефропатия, както при пациенти със запазена бъбречна функция, така и в условия на изходно хронично бъбречно заболяване.

8. Да се разработи собствена рискова скала, която да инкорпорира в себе си данните от измерването на НГАЛ

МАТЕРИАЛ

I. **Обект на научното изследването:** Научното изследване е проведено сред пациенти с известна или суспектна коронарна болест на сърцето и планирани за инвазивно ангиографско изследване и/или перкутанна коронарна интервенция (ПКИ). Кохортата на селектираните пациенти е попълнена на няколко етапа - 2012 год. (когато е изследвана пилотната извадка) и две основни групи включени в периодите 2014 год. и 2017-2018 год. Диагнозата исхемична болест на сърцето е приета въз основа на клиничната анамнеза за стенокардна симптоматика дефинирана спрямо CCS (Canadian Cardiovascular Society); медицинска документация за преживян миокарден инфаркт или реваскуларизационна процедура; обективни данни от неинвазивни методи. При всички пациенти е проследена бъбречната функция изходно и след проведеното контрастно изследване, чрез определяне на стандартните показатели – креатинин и ГФ, и новия биомаркер НГАЛ в плазмени проби. Кръвните проби за изследване на посочените маркери са взети в часови интервали определени от дизайна на проучването.

II. **Предмет на научното изследване:** Сравняване възможностите на новия структурен биомаркер НГАЛ да улавя настъпването на остро бъбречно увреждане спрямо диагностичните способности на функционалния биомаркер серумен креатинин, при кохорта от пациенти с различно изходно ниво на бъбречна функция.

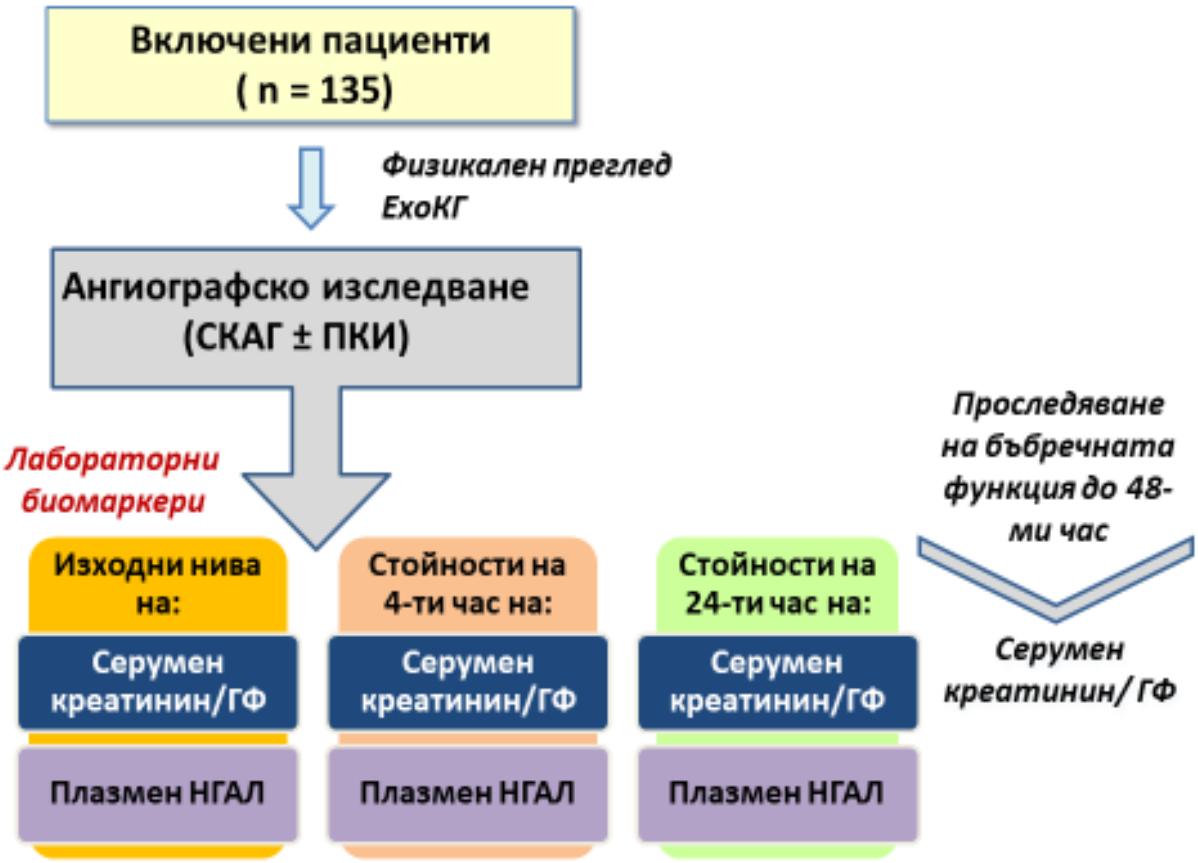
III. **Място на научното изследване:** Всички пациенти, които са обект на изследването са хоспитализирани в Клиника по Кардиология към Национална Кардиологична Болница (НКБ). Процедурите и изследванията свързани с диагностично-лечебният процес при тези пациенти са осъществени в съответните структурни звена на Кардиологичната клиника. Лабораторните изследвания са проведени в Отделението по Клинична Лаборатория към НКБ.

IV. **Характер на наблюдението:** Проучването е проспективно по отношение на включените пациенти, сравнително с използване на контролна група.

V. **Дизайн на научното изследване:** Проучването е проведено сред кохорта пациенти, хоспитализирани в кардиологична клиника, където е осъществен медицински преглед, назначена е медикаментозна терапия и са проведени необходимите функционални изследвания (ЕхоКГ). Въз основа на клиничното представяне са определени индикациите за провеждане на диагностично ангиографско изследване и всеки пациент е дал съгласието си за него чрез подписване на стандартно информирано съгласие, утвърдено за структурите на НКБ. Пациентите, които са подходящи за включване в научното изследване, са поканени да участват в него, получавайки допълнителна писмена и устна информация. След дадени изчерпателни разяснения и предоставено време за размисъл, те подписват информирано съгласие за участие в научното проучване. Освен стандартните лабораторни изследвания, назначени от лекуващия екип, за целите на проучването свързани с оценката на бъбречната функция, са взети допълнително следните кръвни проби – сутринта в деня на планираното ангиографско изследване (приети като изходни проби преди приложението на контрастно вещество), на 4-ти и 24-ти час след връщането на пациента от

катетеризационната лаборатория (означени като проби на съответния час след приложението на КВ). От тях чрез съответния лабораторен метод са определени нивата на серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ (фигура №1). Ангиографското изследване е осъществено в диагностичен и/или терапевтичен обем, необходим за постигане на оптимален резултат, чрез приложение на едно и също контрастно вещество от групата на ниско-осмоларните – Iomeprol. Количеството му е сведено до минимално необходимото за постигане на оптимална визуализация на сърдечните структури и провеждане на безопасна ангиопластика. С оглед превенцията на КИН, преди и след контрастното изследване пациентите получават активна рехидратация с физиологичен серум, в количество съобразено с телесното им тегло и актуално клинично състояние.

Основна цел на проучването е развитието на *Контраст-Индуцирана Нефропатия* след ангиографско изследване, дефинирана като абсолютно (≥ 44 µmol/l) или относително (≥ 25%) покачване на серумния креатинин спрямо изходната му стойност или намаляване на гломерулната филтрация с 25% (изчислена по MDRD формулата) до 48 часа след приложението на контрастно вещество. Допълнителни цели на проучването са настъпването на големи сериозни нежелани събития, сърдечносъдови усложнения и развитие на бъбречна недостатъчност с необходимост от хемодиализно лечение.



Фигура №1. Схематично представяне на дизайна на научното изследване

VI. Определяне на критериите при подбор и групиране на пациентите

А. Селекция на извадката

За участие в научното изследване са селектирани 145 пациента, от които в окончателният анализ са включени общо 135 пациента (при седем беше нарушен протокола на проучването на различен етап; при двама се наложи спешна хирургична интервенция след края на ангиографското изследване, а един пациент оттегли информираното си съгласие за провеждане на СКАГ). При подбора на лицата, обект на научното изследване се прилагат следните критерии:

а) Критерии за включване на пациенти в научното изследване са:

1. Възрастни лица над 18 години от двата пола
2. Пациенти с клинично изявена стабилна стенокардия (съгласно класификацията на CCS [Canadian Cardiovascular Society])[387], известна коронарна болест или клинични данни водещи към суспектна исхемична болест на сърцето.
3. Пациенти с поне един или комбинация от изброените рискови фактори – артериална хипертония, дислипидемия, захарен диабет, метаболитен синдром дефинирани като такива съгласно съответното ръководство на Европейското Кардиологично Дружество за сърдечно-съдова превенция. [388,389]
4. Пациенти, планирани за провеждане на диагностично инвазивно ангиографско изследване с или без едноетапна перкутанна коронарна ангиопластика.
5. Пациенти със запазена бъбречна функция (определена като ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2, изчислена по формулата на MDRD [Modification of Diet in Renal Disease]) или наличие на умерена бъбречна дисфункция (ХБЗ 3а стадий [ГФ 45-59 ml/min/1,73 m^2] или ХБЗ 3б стадий [ГФ 30-44 ml/min/1,73 m^2] съгласно класификацията на KDIGO)[345].

б) Критерии за изключване на пациенти от научното изследване са:

1. Пациенти, които са провели диагностично образно изследване с приложение на контрастно вещество в последните 7 дни преди настоящето ангиографско изследване.
2. Пациенти, на които предстои повторно образно изследване с приложение на контрастно вещество в рамките на 72 часа от настоящето ангиографско изследване.
3. Пациенти с остър коронарен синдром (Остър миокарден инфаркт със СТ-елевация, остър миокарден инфаркт без СТ-елевация, нестабилна стенокардия), при които е необходима спешна или неотложна коронарна ангиография и/или първична коронарна ангиопластика.
4. Нестабилно хемодинамично състояние на пациента или кардиогенен шок в последните 48 часа преди приложението на контрастно вещество, определени като систолно артериално налягане под 90 mmHg или необходимост от интраортна балонна контрапулсация (IABP).
5. Пациенти с напреднала и/или декомпенсирана застойна сърдечна недостатъчност (IV функционален клас по класификацията на NYHA (New York Heart Association). [390]
6. Установена левокамерна фракция на изтласкване ≤ 35% чрез ехокардиографско измерване
7. Пациенти с анамнеза за ОБУ в рамките на последния месец преди инвазивното изследване

8. Пациенти с тежка форма на ХБЗ – имат документирана гломерулна филтрация < 30 mL/min/1,73 m^2, изчислена по MDRD формулата в последните 3 месеца преди включването в клиничното проучване.
9. Пациенти с терминална бъбречна недостатъчност на редовно хемодиализно лечение
10. Проведена сърдечна катетеризация или аортно-коронарен байпас операция в рамките на последния месец
11. Необходимост от провеждането на голяма хирургична операция (напр. Аорто-коронарен байпас, клапна хирургия и др.) в рамките на 48-72 часа след контрастното изследване
12. Анамнеза за сериозни странични реакции към контрастни вещества
13. Пациенти, получаващи нестероидни противовъзпалителни средства (с изключение на аспирин до 325 мг/дневно), аминогликозидни антибиотици или други медикаменти с повишен нефротоксичен риск в рамките на 72 часа преди и след провеждането на ангиографското изследване с приложение на контрастно вещество
14. Пациенти с чернодробна дисфункция
15. Пациенти с аневризма на абдоминалната аорта
16. Пациенти с клинични и лабораторни данни за остро възпалително заболяване
17. Пациенти с неоплазми
18. Медицинско състояние или други обстоятелства, които биха значително понижили шансовете за получаване на надеждна информация, възпрепятстват проследяването на пациента или приключването на участието му в проучването.

Б. Класификация на групите пациенти

Съгласно новата концептуална рамка за ОБУ, въведена от Работната група по Качествена инициатива при остра диализа (ADQI)[262,283], се препоръчва диагностицирането на различни клинични състояния, да се основава на комбинацията от изменения, регистрирани във функционален биомаркер (серумен креатинин) и биомаркер, отразяващ структурни нарушения (НГАЛ).
Прилагането този принцип към настоящото научно изследване наложи класифицирането на пациентите да се осъществи спрямо **критерии, определящи изходните стойности** на биомаркерите и спрямо **критерии, дефиниращи динамичните промени** в биомаркерите (таблица №1).

Към първата група критерии се приложи дефиницията на KDIGO за стойности на серумен креатинин/ГФ, които отговарят на запазена/увредена бъбречна функция[345], а нивото на плазмен НГАЛ се определи като нормално/повишено спрямо зададените референтни граници от производителя на лабораторния кит (25-102 ng/ml; BioPorto Diagnostics A/S).

Към втората група критерии се приложиха следните определения: *без изменение на БМ* – серийно проследените стойности на показателя са в рамките на допустимите лабораторни коефициенти за вариация ($CV_{КРЕАТ}$ < 5%; $CV_{НГАЛ}$ < 2,8%); *малки вариации на БМ* – при регистриране на минимални динамични промени (CV 5-10%); *съществена динамика на БМ* – отчетените стойности при проследяването демонстрират повишение/понижение с >10% спрямо изходните нива на съответния показател.

Критерии спрямо изходните стойности на съответния биомаркер	Критерии за динамика на биомаркерите
Изходно запазен серумен креатинин и ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2	**Съществена динамика и на двата биомаркера**
Изходно повишен серумен креатинин и ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2	**Съществена динамика само на единия биомаркер**
Изходно нормален НГАЛ (25-102 ng/ml)	**Малки вариации на единия и/или двата биомаркера**
Изходно повишен НГАЛ (> 102 ng/ml)	**Без изменения на единия и/или двата биомаркера**

Таблица №1. Основни критерии, приложени към разглежданата извадка

Въз основа на посочените критерии всички пациенти се класифицираха в няколко основни групи и съответните подгрупи (фигура №2). В случаите, когато една и съща кохорта пациенти, покрива няколко критерия едновременно, се направи подгрупово разпределение на няколко нива и се проведе допълнителен анализ.

Приложението на описания подход при класифицирането на пациентите и детайлното разглеждане на използваните критерии може да се представи по следния начин:

1. **<u>Въз основа на изходната бъбречна функция при хоспитализацията, оценена чрез стойностите на серумен креатинин и съответно изчислената ГФ, пациентите се разделят на:</u>**

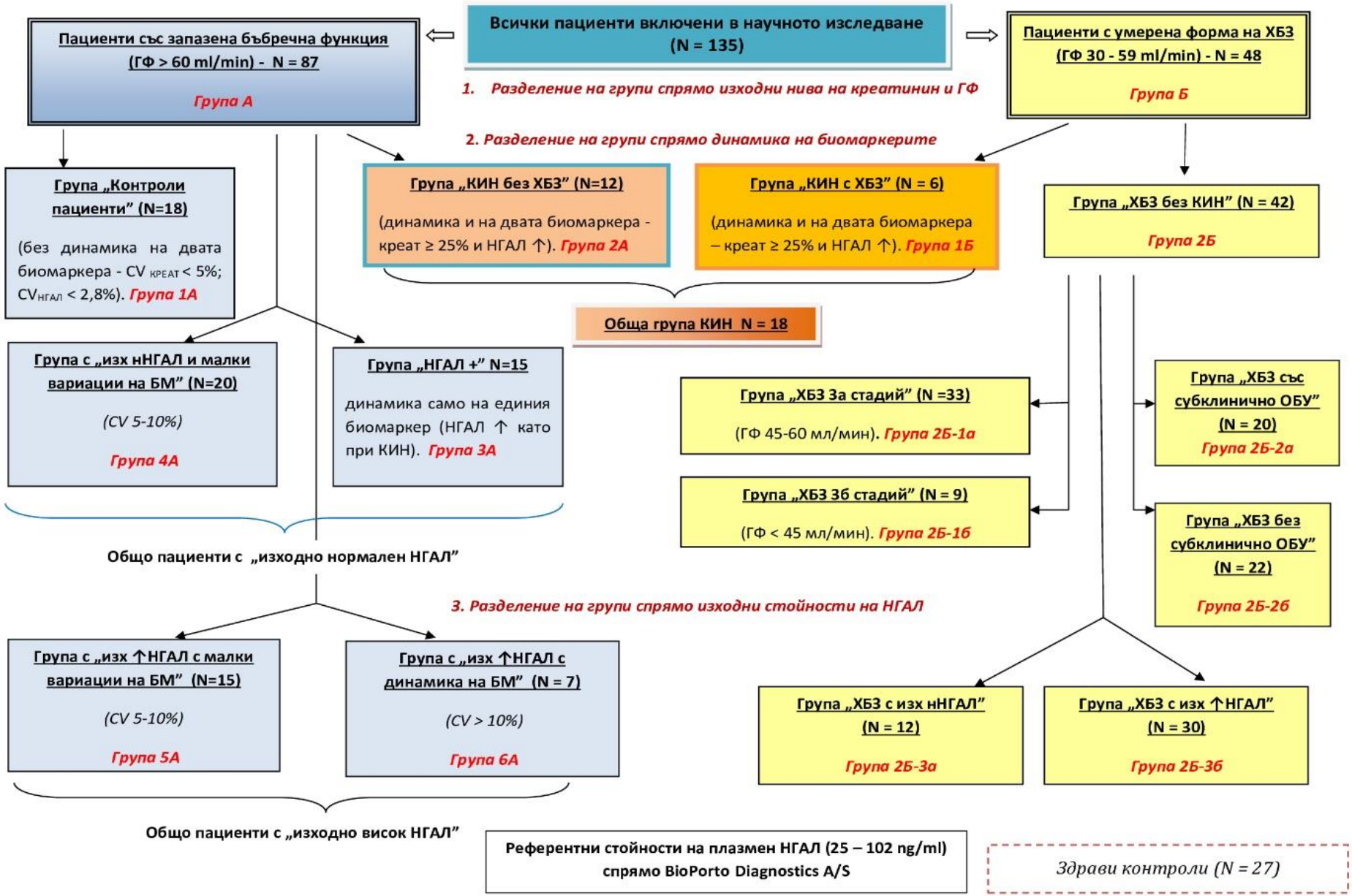
   1.1. Пациенти със запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2) (n=87) – **Група А.***

   1.2. Пациенти с умерено увредена бъбречна функция (умерена форма на ХБЗ) (ГФ 30-59 ml/min/1,73 m^2) (n=48) – **Група Б.***

   ** Въведено кодиране на групите за постигане на краткост при фигурното онагледяване в изложението на резултатите*

2. **<u>Въз основа на регистрираната динамика на биомаркерите, пациентите от двете основни групи се разделят на следните групи:</u>**

   2.1. Група „Контроли пациенти” – отговарящи едновременно на условията: запазена изходна бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2); изходно нормален плазмен НГАЛ (стойности в рамките на референтните граници 25-102 ng/ml определени от фирмата производител на диагностичния кит); без промяна в биомаркерите след контрастното изследване (коефициентите на вариация в стойностите на креатинин и НГАЛ не надвишават коефициентите за невъзпроизводимост на съответния лабораторен тест, зададени от фирмата производител и утвърдени от Отделението по Клинична Лаборатория към НКБ – $CV_{креат}$ < 5%; $CV_{нгал}$ < 2,8%). По тези критерии групата се сформира от 18 пациента и се кодира като 1А.



Фигура №2. Класификация на групите пациенти спрямо приложените критерии

CV – coefficient of variation

2.2. Група „КИН без ХБЗ” – пациенти с изходно запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2) и значителна промяна в биомаркерите след контрастното изследване. Съгласно дефиницията, диагнозата КИН се приема при регистрирано абсолютно покачване на креатинин с ≥ 44 μmol/l или относително ≥ 25% повишение, или при понижаване на ГФ с 25% в рамките на 48 часа след изследването. Тези условия се наблюдават при общо 12 пациента и съответно групата се означи като 2А.

2.3. Група „НГАЛ+” – пациенти с изходно запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2) и промяна само в един от биомаркерите – изменението в креатинина, не покрива дефиницията за КИН, но промените в плазмения НГАЛ са сходни с тези при групата „КИН без ХБЗ”. Сформираната група по тези критерии включва 15 пациента и кода, на който отговаря е 3А.

2.4. Група „изходно нормален НГАЛ и малки вариации на биомаркерите” (изх нНГАЛ и малки вариации на БМ) – включва пациенти с изходно запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2), изходно нормален НГАЛ и регистрирани минимални изменения в двата биомаркера след контрастното изследване (CV 5-10%). Динамичните промени на креатинин и НГАЛ надвишават приети за нормални коефициенти на вариация, но не достигат нивата необходими за приемане на клинична диагноза (КИН, остро бъбречно увреждане или субклинично остро бъбречно увреждане). В тази група попадат общо 20 пациента. Групата се кодира като 4А.

2.5. Група „КИН с ХБЗ” – пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2) и значителна промяна в изследваните биомаркери след контрастното изследване. Съгласно приетата дефиниция за КИН в групата се включват пациенти, с регистрирано абсолютно покачване на креатинин ≥ 44 μmol/l или относително повишение с ≥ 25% и/или понижение на ГФ с 25%. Броят на пациентите в групата е 6 и тя се кодира като 1Б.

2.6. Група „ХБЗ без КИН” – пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2), при които измененията на креатинина не покриват критериите за диагноза КИН. Включените в тази група пациенти са общо 42 и се приема код за групата 2Б.

Прилагането на общоприетата класификация и **критериите на KDIGO** за определяне степента на хронично бъбречно заболяване позволява **<u>вторично разпределение</u>** на основната група **„ХБЗ без КИН“** както следва:

- **Група „ХБЗ 3а стадий”** – пациенти с изходна ГФ 45-59 ml/min/1,73 m^2, при които динамиката на креатинина не покрива критериите за диагноза КИН. В групата се включват 33 пациента и се прие да се кодира като 2Б-1а.

- **Група „ХБЗ 3б стадий”** – пациенти с изходна ГФ 30-44 ml/min/1,73 m^2, при които динамиката на креатинина не покрива критериите за диагноза КИН. В групата се включват 9 пациента и съответния код е 2Б-1б.

Детайлното разглеждане на цялата група **„ХБЗ без КИН“** спрямо регистрираните изменение само на плазмения НГАЛ позволява да се сформират допълнително две подгрупи:

- **Група „ХБЗ със субклинично ОБУ”** - пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2) и промени в плазмения НГАЛ сходни с тези при групата „КИН с ХБЗ”. По тези критерии в тази група се включват 20 пациента. Прие се код за групата 2Б-2а.

- **Група „ХБЗ без субклинично ОБУ”** - пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2), без съществена динамика и в двата биомаркера. Броят на пациентите в тази група е 22. Прие се код за групата 2Б-2б.

3. **<u>Въз основа на изходните нива на плазмения НГАЛ класификацията се допълва със следните групи:</u>**

3.1. Обща група от „изходно нормален НГАЛ” (изх нНГАЛ) при запазена бъбречна функция – обхваща пациентите от групите „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ” и „НГАЛ+”. При всички тези пациенти изходните нива на НГАЛ преди контрастното изследване са в рамките на референтните граници (25-102 ng/ml), зададени от фирмата производител и утвърдени от Отделението по Клинична Лаборатория на НКБ. Общият брой на пациентите в обединената група е 35. На дефиницията „изходно нормален НГАЛ“ отговаря и описаната вече група „контроли пациенти“, но за целите на анализа тя се разглежда самостоятелно.

3.2. Обща група от „изходно висок НГАЛ” (изх ↑НГАЛ) при запазена бъбречна функция – включва 22 пациента с изходен НГАЛ > 102 ng/ml. Спрямо регистрираната динамика на биомаркерите след контрастното изследване, в тази група може да се направи допълнително подразделение на:

3.2.1. Група с „изх ↑НГАЛ с малка вариация на БМ”– Включва пациенти с изходно запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2), но изходното ниво на плазмен НГАЛ надвишава приетите референтните граници. Наблюдаваните изменения в двата биомаркера са минимални (CV 5-10%) и надвишават приетите лабораторни коефициенти на вариация, но не достигат нивата, необходими за поставяне на клинична диагноза. По тези критерии групата се сформира от 15 лица и се кодира като 5А

3.2.2. Група с „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ” –включва пациенти с изходно запазена бъбречна функция, но изходно повишен плазмен НГАЛ над референтните граници, при които динамичните промени на двата биомаркера са разнопосочни като изменение

(понижение на единия и/или повишение на другия БМ > 10%). В групата попадат 7 пациента и приетия код съответно е 6А.

3.3.Група „ХБЗ с изходно нормален НГАЛ" (ХБЗ с изх нНГАЛ) – пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2), при които не се развива КИН и изходните стойности на плазмения НГАЛ са в рамките на референтните граници (25-102 ng/ml). Тези критерии се покриват от 12 пациента. Групата се кодира като 2Б-3а.

3.4. Група „ХБЗ с изходно висок НГАЛ" (ХБЗ с изх ↑НГАЛ) - пациенти с изходно увредена бъбречна функция (ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2), при които не се развива КИН и изходните стойности на плазмения НГАЛ надвишават референтните граници (>102 ng/ml). Пациентите, отговарящи на тези критерии са общо 30. Групата се кодира като 2Б-3б.

МЕТОДИ

1. При всички пациенти, включени в научното изследване е събрана подробна **анамнеза** относно актуалното им клинично състояние спрямо изявата на стенокардия, симптоми на сърдечна недостатъчност и други оплаквания свързани със сърдечно-съдовата система. Пациентите са подробно разпитани за рисковите фактори, тяхната давност и наличие на придружаващи нефрологични заболявания. Провежданото медикаментозно лечение и потенциалните нефротоксични медикаменти са отбелязани в досието на всеки пациент.

2. **Физикалния преглед** се осъществява от лекуващия лекар на съответния пациент, чрез методите на оглед, палпация и аускултация. Артериалното налягане се измерва с анероиден сфигмоманометър с маншет, приложен към мишницата, в седнало/легнало положение след 5 минути покой.

3. **Клиничната диагноза** се постави въз основа на общоприетите критерии и данни от анамнезата, физикалния статус, лабораторни и други неинвазивни изследвания, ангиографската находка и терапевтично поведение.

4. При всички пациенти включени в научното изследване се осъществи конвенционална **ехокардиография** като част от стандартния диагностичен процес. Изследването е проведено с апарат Aloka prosound alpha 7 и включва оценката на размерите и обемите на сърдечните кухини, систолна и диастолна функция на лява камера, функция на дясна камера, анатомичните особености и функция на клапния апарат.

5. **Инвазивното ангиографско изследване** при пациентите се осъществи планово, на следващия ден след деня на хоспитализацията, чрез стандартен съдов достъп. Избора на терапевтичен подход – балонна ангиопластика и/или имплантиране на коронарен стент/-ове се определи от анатомичните особености на коронарната анатомия и таргетната лезия(и). Използваното контрастно вещество е Iomeprol (*от групата на ниско-осмоларните КВ*) в минимално необходимото количество, съобразено с рисковия профил и бъбречна функция на пациента. Всички инвазивни ангиографски изследвания са проведени в Отделението по Инвазивна Кардиология към НКБ.

6. **Изчисляване на рискови скорове** - за определяне на риска от развитие на КИН се използва широко известната скала на Мехран, изчислена чрез приложението на утвърден онлайн калкулатор. Определянето на риска от настъпване на сериозна бъбречна дисфункция (СБД) след контрастно изследване, се осъществи чрез рисковия модел на Браун, също калкулиран чрез онлайн платформа. Прогностичната роля на НГАЛ като маркер за бъбречно увреждане, се тества чрез модификация на рисковата скала на Браун, като при въвеждането на стандартно заложените параметри, стойността на серумния креатинин са заменя от съответното ниво на плазмен НГАЛ. При този подход за всеки пациент се получават два крайни резултата относно риска от сериозна бъбречна дисфункция – един, изчислен спрямо класическия подход със серумен креатинин ($СБД_{креат}$) и втори резултат, изчислен спрямо изходен НГАЛ ($СБД_{нгал}$).

7. **Лабораторни методи**

За определяне на показателите на бъбречната функция от всички пациенти са получени биологични кръвни проби преди и след провеждането на инвазивното ангиографско изследване съгласно протокола на проучването. Кръвта е взета чрез стандартна венепункция на кубиталната вена в два вакутейнера – първи съдържащ литиев хепарин за биохимично определяне на креатинин и втори с K_2EDTA (калиев етилен диамин тетраацетат - ЕДТА) за определяне на плазмен НГАЛ. Вакутейнерите се центрофугират за 10 минути при 2500 оборота/минута за отделяне на плазма, която впоследствие се прехвърля във вторични полипропиленови епруветки тип Eppendorf®. Биологичните материали се съхраняват при -20°C до окончателното им изследване, но за не повече от 30 дни от деня за замразяването им. Анализа за отчитане на креатинина се осъществява непосредствено след получаване на съответната плазмена проба, а анализа на плазмен НГАЛ след събиране и обработване на пълният комплект кръвни проби, определени според дизайна на проучването.

Нивата на **креатинина** се определят по метода на Jaffe, който се основава на неспецифична цветна реакция. За целта се използва биохимичен анализатор Olympus AU480. Препоръчваните референтни граници за креатинин при използвания метода са:

мъже < 50 години	74 – 110 µmol/l
мъже > 50 години	72 – 127 µmol/l
жени	58 – 96 µmol/l

Според стандарта по клинична лаборатория, утвърден от Министерство на Здравеопазването, коефициента за максимално допустима невъзпроизводимост при изследване на креатинин е под 5%. Вариационния коефициент, определен в Отделението по Клинична лаборатория на НКБ, при измервания от ден в ден и концентрация на креатинин от 110 µmol/l (ниска контролна стойност) е в диапазона 2,6 – 4,2%. При високата концентрация на креатинин 450 µmol/l (висока контролна стойност) съответно коефициента на вариация е 2,5 – 4,6%. Посочените стойности са напълно съпоставими със заложените по стандарт вариации допустими за този лабораторен метод.

Стойността на ГФ, която съответства на стойността на креатинин от всяка проба, е изчислена по формулата на MDRD, където ГФ = 186 x (серумен креатинин) $^{-1.154}$ x (възраст)$^{-0.203}$ x 0.742 (за женски пол) (мл/мин/1,73 м^2).[391]

За определянето на **плазмен НГАЛ** се използва реагентен кит NGAL Test™ с каталожен номер ST001CA (ревизия TNT 2015-09-EN) на фирма BioPorto Diagnostics A/S (Дания). Диагностичният кит NGAL Test™ се базира на принципа на турбидиметрично имунологично измерване на агрегирани частици, за количествено определяне на НГАЛ в човешка ЕДТА плазма. Диагностичният тест за НГАЛ се приложи върху автоматичен биохимичен анализатор тип Olympus AU400. За осъществяване на процесите по калибриране на апарата и контрол върху точността на получените резултати се използват съответните китове на фирмата производител – The NGAL Test™ Calibrator Kit ST002CA и The NGAL Test™ Control Kit ST003CA. Референтните стойности за НГАЛ при здрави хора, утвърдени от BioPorto Diagnostics A/S са посочени в таблица №2.

Вид проба	Популация	Брой	NGAL медиана [ng/ml]	NGAL граници [ng/ml]
ЕДТА плазма	Общо	200	52	**< 25 – 102**

Таблица №2. Референтни граници за стойностите на НГАЛ според BioPorto Diagnostics A/S

В отделението по Клинична Лаборатория към НКБ се проведе валидиране на плазмените нива на НГАЛ, чрез изследването му сред 27 лица в българската популация, определени като „здрави контроли”. Референтните стойности за плазмен НГАЛ са определени чрез изчисляване на медиана (61,5 ng/ml) и обхват в диапазона между 5-и и 95-и персентил (24,45 – 92,66 ng/ml). С оглед по-добра прецизност на теста, за патологочно отклонение се приемат стойности надвишаващи 99-ия персентил (101,5 ng/ml) (таблица №3). Получените референтни граници при здрави лица напълно съвпадат с препоръчваните от фирмата производител BioPorto Diagnostics A/S.

Вид проба	Популация	Брой	NGAL медиана [ng/ml]	NGAL граници [ng/ml]; (5 – 99 ‰)
ЕДТА плазма	Общо	27	61,5	**24,45 – 101,5**

Таблица №3. Референтни граници за стойностите на НГАЛ, измерен в ЕДТА плазма в отделението по Клинична лаборатория на НКБ

Вариационния коефициент на измерване на плазмения НГАЛ от ден в ден, определен в отделението по Клиничната лаборатория на НКБ, при ниската контролна стойност (205 ng/ml) е **2,48%.** Съответно съобщаваният от производителя коефициент при ниска контролна стойност (97 ng/ml) е **2,6%.** При висока контролна стойност, измереният в лабораторията коефициент на невъзпроизводимост от ден в ден е **2,24%,** при ниво на плазмен НГАЛ 500 ng/ml. Респективно същият коефициент, посочен като референтен от фирмата производител при плазмена концентрация на НГАЛ 2037 ng/ml е **2,8%.** Получените коефициенти на вариация при диагностичното прилагане на НГАЛ в НКБ са напълно съпоставими със зададените като референтни стойности от BioPorto Diagnostics A/S.

8. Статистически методи

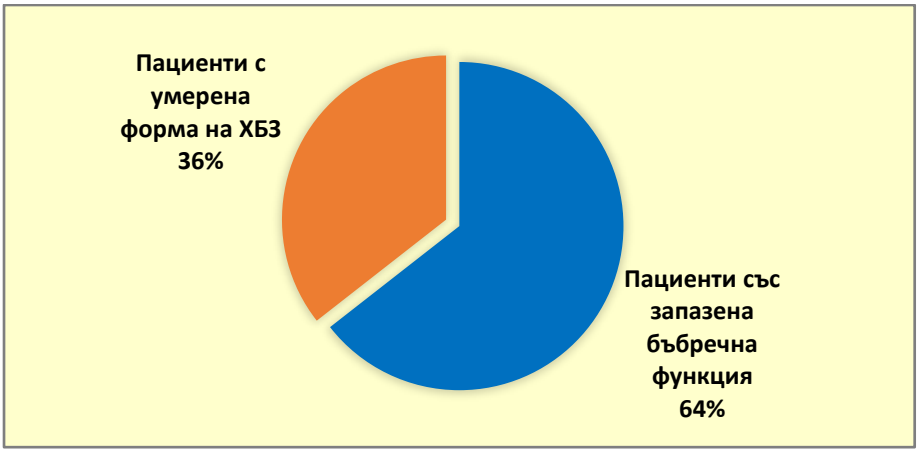
За обработка на данните от проучването е използван специализирания статистически пакет SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 16.0. Непрекъснатите променливи са представени като средна стойност ± стандартно отклонение (SD), или медиана (Me) и квартилно отклонение (QD), където това е необходимо. За изследване на зависимости между описателните категориини променливи се използва теста хи-квадрат на Пирсън (Chi-square test). Тестът на Колмогоров-Смирнов при една извадка (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) и тестът на Шапиро-Уилк (Shapiro-Wilk) са използвани за проверка на формата на честотното разпределение спрямо формата на нормалното разпределение. За сравнението на ранговите данни между повече от две независими групи, когато формата на честотното разпределение се различава от нормалното, са приложени непараметрични тестове на Кръскал-Уолис (Kruskal-Wallis test) и Ман-Уитни (Mann-Whithney). Сравняването на повторни измервания при непрекъснатите променливи серумен креатинин, ГФ и НГАЛ, е проведено чрез използването на непараметричния знаково-рангов тест на Уилкоксон (Wilcoxon Signed Ranks Test). За изследването на равенството между средните величини на повече от две групи е приложен тестът за еднофакторен дисперсионен анализ (Analysis of Variance – ANOVA), а за множествените сравнения впоследствие е приложен Post Hoc Tests – Tukey. При верифициране на нормално разпределение на изследваната променлива, за сравнителен двойкови анализ са приложени Т-тест при две независими групи (Independent-Samples T-test) или Т-тест при две зависими групи (Paired-Samples T-test).
Линейната корелационна връзка между количествени променливи, каквито са серумния креатини, ГФ и плазмен НГАЛ е изследвана чрез корелационния коефицент на Пирсън (Pearson Correlation). Диагностичната способност на посочените показатели е оценена чрез приложението на ROC анализ (Receiver Operating Characteristic) и изчисляване на площ под кривата (area under the curve, AUC). Стойност на AUC от 0,5 съответства на лотарийно очакваната, докато стойност от 1,0 означава перфектен биомаркер.
Използваното критично ниво на значимост е $\alpha=0,05$ и съответната нулева хипотеза се отхвърля, когато P стойността (P-value) е по-малка от α.

РЕЗУЛТАТИ

I. Основни характеристики на групите пациенти

1. Определяне на разпределението на отделните групи спрямо общата извадка и вътрегрупово участие

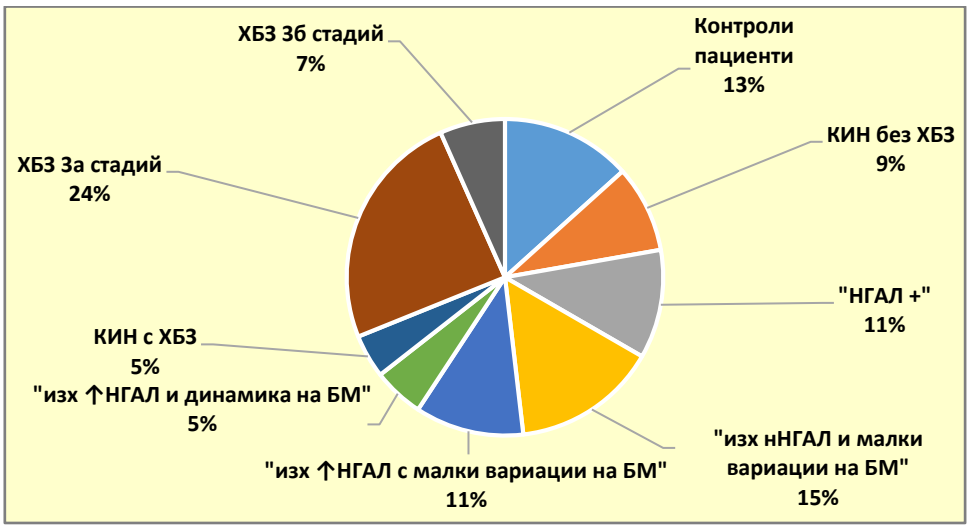
Въз основа на направената класификация на пациенти, включени в научното изследване може да се обобщи, че групата със запазена бъбречна функция представлява 64% (n=87/135) от всички лица, а групата с умерена форма на ХБЗ – 36% (n=48/135) (фигура №3).



Фигура №3. Разпределение на пациентите спрямо изходната гломерулна филтрация

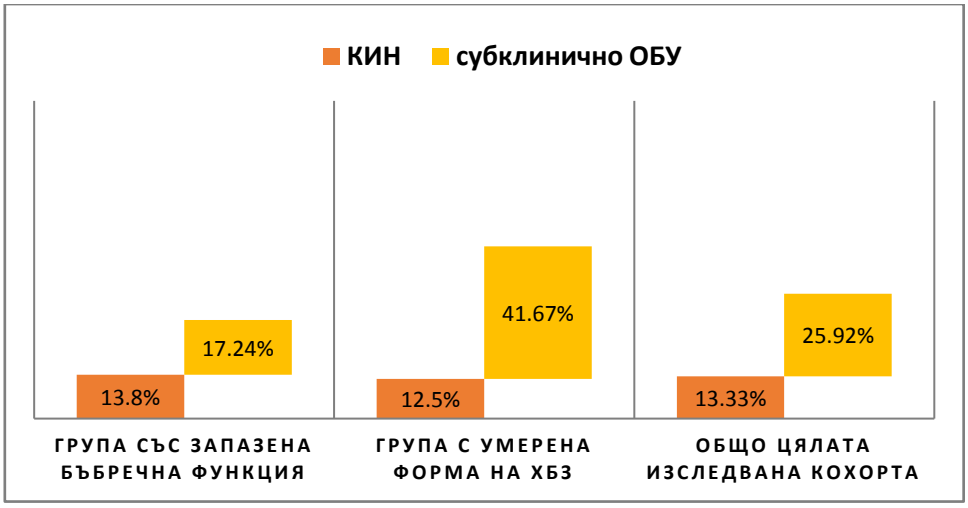
Подгруповото разпределение спрямо регистрираните динамични промени в биомаркерите показва, че в контролната група попадат 13,33% (n=18/135) от всички пациенти, честота на „КИН без ХБЗ“ съответно е 8,89% (n=12/135), на „НГАЛ+“ кохортата – 11,11% (n=15/135), при групите „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ – 14,82% (n=20/135), „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ – 11,11% (n=15/135), „изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“ – 5,18% (n=7/135). Отнесени към цялата кохорта изследвани пациенти честота на събитието „КИН с ХБЗ“ се наблюдава сред 4,44% (n=6/135), а на съответните групи „ХБЗ 3а стадий“ и „ХБЗ 3б стадий“ съответно се полагат 24,44% (n=33/135) и 6,68% (n=9/135) (фигура №4).

Прилагането на допълнителни критерии за класифициране, доведе до разпределението на една и съща кохорта от лица с ХБЗ (без остро бъбречно увреждане под формата на КИН) на няколко подгрупи. Спрямо изходното ниво на НГАЛ лицата се разпределят като „ХБЗ с изх нНГАЛ“ 25% (n=12/48) и като „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“ – 62,5% (n=30/48). Класифицирането на същите пациенти в подгрупи спрямо динамичните промени в НГАЛ определи групите „ХБЗ със субклинично ОБУ“ – 41,67% (n=20/48) и „ХБЗ без субклинично ОБУ“ – 45,83% (n=22/48). Групата „КИН с ХБЗ“ показва честота от 12,5% (n=6/48), когато се разглежда представянето й само сред лицата с хронично бъбречно увреждане.



Фигура №4. Разпределение на селектираните пациентите в основните групи спрямо динамиката на биомаркерите

В обобщение двете клинични събития, които са от особен интерес при настоящето научно изследване, са развитието на КИН и регистрирането на кохорта пациенти, които имат същия позитивен НГАЛ резултат като при КИН, но липсва аналогичната динамика в креатинин (групи означени като „НГАЛ+“ и „ХБЗ със субклинично ОБУ“). Отделното разглеждане на тези групи спрямо нивото на изходната бъбречна функция и общото им представяне в цялостната изследвана извадка е изобразено на фигура №5.



Фигура №5. Вътрегрупово представяне на събитията КИН и субклинично ОБУ при пациентите със запазена бъбречна функция и сред групата с ХБЗ, както и общо представяне спрямо цялата извадка

2. Описание по пол и възраст

Общия брой на селектираните за научното изследване пациенти е 135, от които 78 са мъже (57,8%) и 57 са жени (42, 2%). Групата с изходно запазена бъбречна функция (n=87) е представена от 52 (59,77%) мъже и 35 (40,23%) жени. В групата с умерена форма на ХБЗ (n=48) разпределението по пол е – 26 (54,17%) мъже и 22 (45,83%) жени.

Средната възраст на изследваната кохорта пациенти общо е 64,80 ± 8,42 години. В групата с изходно запазена бъбречна функция средната възраст се равнява на 62,85±8,43 год., а при пациентите с изходна ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2 средната възраст съответно е 68,27±7,28 год. Детайлно представяне на разпределението по пол и възраст в отделните групи е посочено в таблица №4.

Резултатите от сравнението между отделните групи по признака пол показват, че няма статистическа сигнификантна разлика между тях. По признака възраст, обаче се установява, че групата „ХБЗ 3а стадий” е с по-висока възраст спрямо „контроли пациенти” (p = 0,031) и група „НГАЛ+” (p = 0,017), а пациентите с ХБЗ 3б стадий са значително по-възрастни от всички пациенти със запазена бъбречна функция и с ХБЗ 3а стадий (p=0,017). Групата означена като „КИН с ХБЗ” показва сигнификантна разлика спрямо групата с най-нисък резултат („НГАЛ+”) (p = 0,026).

Основна група	Пол	N	%	Възраст			
				Mean	SD	Min	Max
Контроли пациенти	Жени	10	55,6	63,10	7,69	54,00	78,00
	Мъже	8	44,4	60,00	7,89	45,00	70,00
	Общо	18	100,0	61,72	7,71	45,00	78,00
КИН без ХБЗ	Жени	2	16,7	73,50	6,36	69,00	78,00
	Мъже	10	83,3	62,90	11,43	45,00	76,00
	Общо	12	100,0	64,67	11,29	45,00	78,00
„НГАЛ+”	Жени	8	53,3	57,13	6,98	46,00	67,00
	Мъже	7	46,7	64,43	3,95	59,00	69,00
	Общо	15	100,0	60,53	6,73	46,00	69,00
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	Жени	8	40,0	67,75	4,46	63,00	76,00
	Мъже	12	60,0	60,75	8,92	38,00	70,00
	Общо	20	100,0	63,55	8,11	38,00	76,00
Изх ↑ НГАЛ с малки вариации на БМ	Жени	5	33,3	62,60	7,47	56,00	73,00
	Мъже	10	66,7	64,00	10,68	48,00	82,00
	Общо	15	100,0	63,53	9,47	48,00	82,00
Изх ↑ НГАЛ с динамика на БМ	Жени	2	28,6	63,50	6,36	59,00	68,00
	Мъже	5	71,4	64,40	10,31	50,00	75,00
	Общо	7	100,0	64,14	8,82	50,00	75,00
КИН с ХБЗ	Жени	3	50,0	70,00	6,08	66,00	77,00
	Мъже	3	50,0	66,67	5,77	60,00	70,00
	Общо	6	100,0	68,33	5,61	60,00	77,00
ХБЗ без КИН	Жени	19	45,2	67,21	7,14	57,00	79,00
	Мъже	23	54,8	69,13	8,08	52,00	84,00
	Общо	42	100,0	68,26	7,64	52,00	84,00
• ***ХБЗ 3а стадий***	Жени	13	39,4	65,23	7,07	57,00	79,00
	Мъже	20	60,6	67,65	7,43	52,00	79,00
	Общо	33	100,0	66,70	7,28	52,00	79,00
• ***ХБЗ 3б стадий***	Жени	6	66,7	71,50	5,58	63,00	77,00
	Мъже	3	33,3	79,00	5,00	74,00	84,00
	Общо	9	100,0	74,00	6,30	63,00	84,00

Таблица №4. Възрастово-полови характеристики на изследваните пациенти

3. Рисков профил на пациентите

Артериалната хипертония, като основен рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания се наблюдава при всички участници в научното изследване (n=135; 100%).

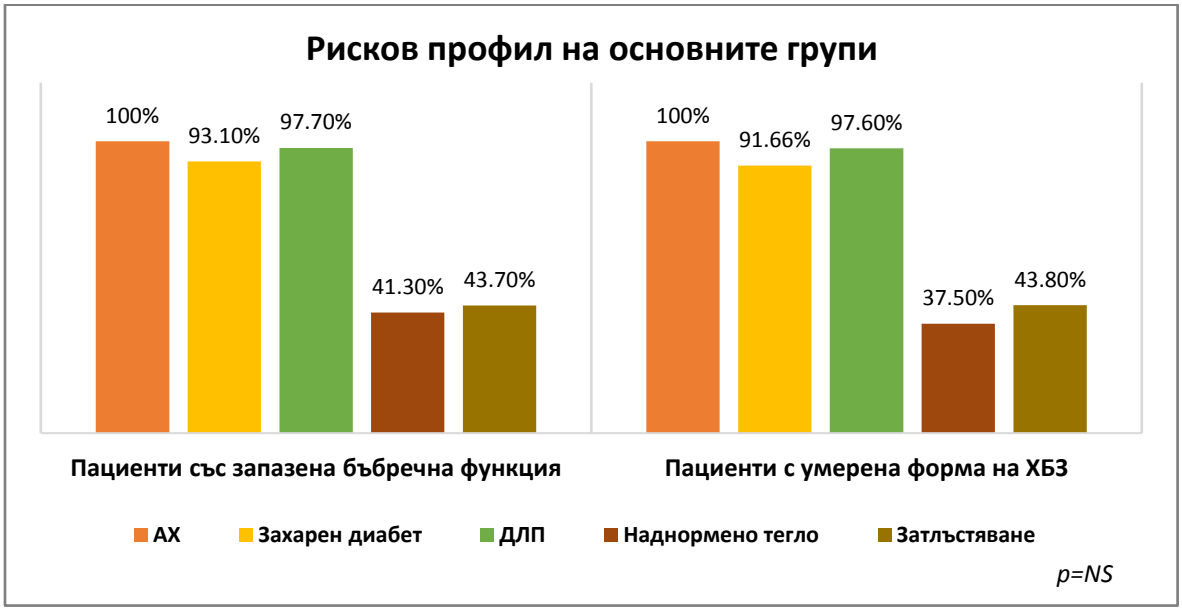
Другия рисков фактор **захарен диабет 2 тип** се установява при 125 пациента (92,59%), като изцяло от диабетици са представени групите „КИН без ХБЗ” и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ”. При всички останали групи заболяването се среща при над 80% от участниците. По отношение на продължителността на ЗД 2 тип, не се установява сигнификантна разлика между групите, но се оформя тенденцията при пациенти със запазена бъбречна функция средната продължителност на заболяването да бъде в диапазона между 5 и 6 години, докато при пациентите с ХБЗ този период достига до средно 9 години.

Дислипидемията като рисков фактор сред изследваните пациенти се докладва при общо 132-ма (97,78%) от цялата кохорта, като не се установява статистическа сигнификантна разлика между отделните групи.

Изчисляването на **индекса на телесна маса** при изследваните пациенти, показва че нормално телесно тегло (ИТМ < 25 kg/m^2) имат едва между 12% и 33% в отделните групи. Наднорменото тегло (ИТМ 25-29,9 kg/m^2) се наблюдава при 26-58% от

пациентите, а затлъстяването (ИТМ ≥ 30 kg/m^2) е рисков фактор сред минимум 33% до 50% при някои групи. Общо за цялата извадка може да се направи извода, че средно 40% имат наднормено тегло и средно 43,7% попадат в границите на затлъстяването, докато телесно тегло в нормални граници се установява едва при средно 16,3% (p=0,833).

Обобщено рисковият профил на пациентите със запазена бъбречна функция и тези с умерена форма на ХБЗ не се различава съществено, както се вижда от фигура №6.



Фигура №6. Обобщено представяне на рисковите фактори при двете основни групи пациенти

4. Сърдечно-съдови и придружаващи заболявания

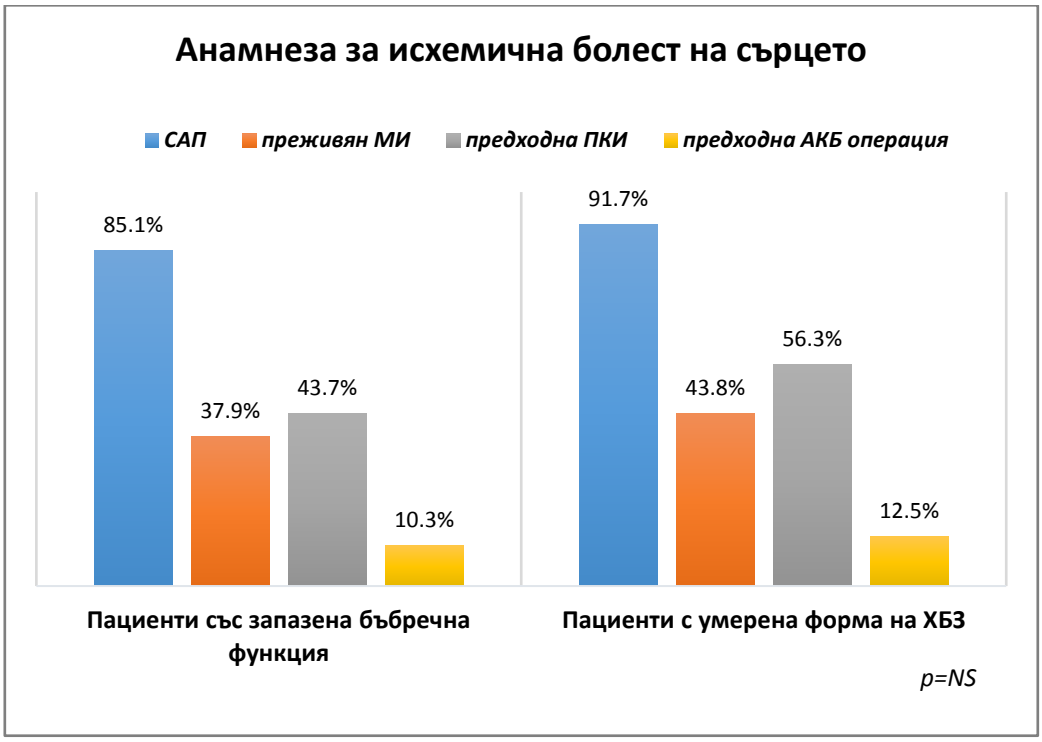
4.1. Исхемична болест на сърцето

Повода за хоспитализацията при пациентите, които са обект на настоящето научно изследване, е клиничната изява на **стабилна стенокардия** при над 80% във всяка една група. Малка част от пациентите нямат оплаквания от регистъра на стенокардните, но са насочени за хоспитализация и диагностично уточняване поради анамнеза за преживян МИ, осъществена предходна реваскуларизационна процедура (ПКИ и/или АКБ), изява на сърдечна недостатъчност или друго кардиологично заболяване. Въпреки, че не се установява сигнификантна разлика по отношение на различията в групите, то има тенденцията за преобладаване на висок клас стенокардна симптоматика при пациентите, които развиват КИН (при „КИН без ХБЗ“ – 75%, а при „КИН с ХБЗ“ 66,67% са в трети функционален клас). Сред останалите групи разпределението между II ФК и III ФК САП е почти балансирано. Анамнестичните данни за **преживян в миналото миокарден инфаркт** се установяват при част от изследваните пациенти (n=54/ 40%), като няма съществено различие в честота между пациенти със запазена бъбречна функция (n=33/37,93%) и пациентите с изява на ХБЗ (n=21/43,75%).

Анамнеза за **предходна перкутанна коронарна интервенция** (ПКИ) се докладва при почти половината от всички пациенти (n=65/48,15%), а съответното разпределение в двете основни групи е – пациенти със запазена бъбречна функция n=38 (43,68%) и пациенти с умерена форма на ХБЗ n=27 (56,27%). Детайлното разглеждане по групи сочи, че относителен дял на предишни ПКИ над 50%, се описва при групите „изх

нНГАЛ и малки вариации на БМ“, „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ и всички подгрупи с ХБЗ. С оглед влиянието, което може да има наличието на **предходна аорто-коронарен байпас операция**, върху обема на ангиографското изследване и количеството контрастно вещество, необходимо за изобразяване на коронарната анатомия, се разгледа отделно тази характеристика на пациентите. В общата популация броят на такива пациенти не е голям (n=15/11,11%). Сравнението между отделните групи показва, че при „КИН без ХБЗ“ и „ХБЗ 3б стадий“ лицата с анамнеза за АКБ операция преобладават сигнификантно, спрямо групите с липсата на такива пациенти.

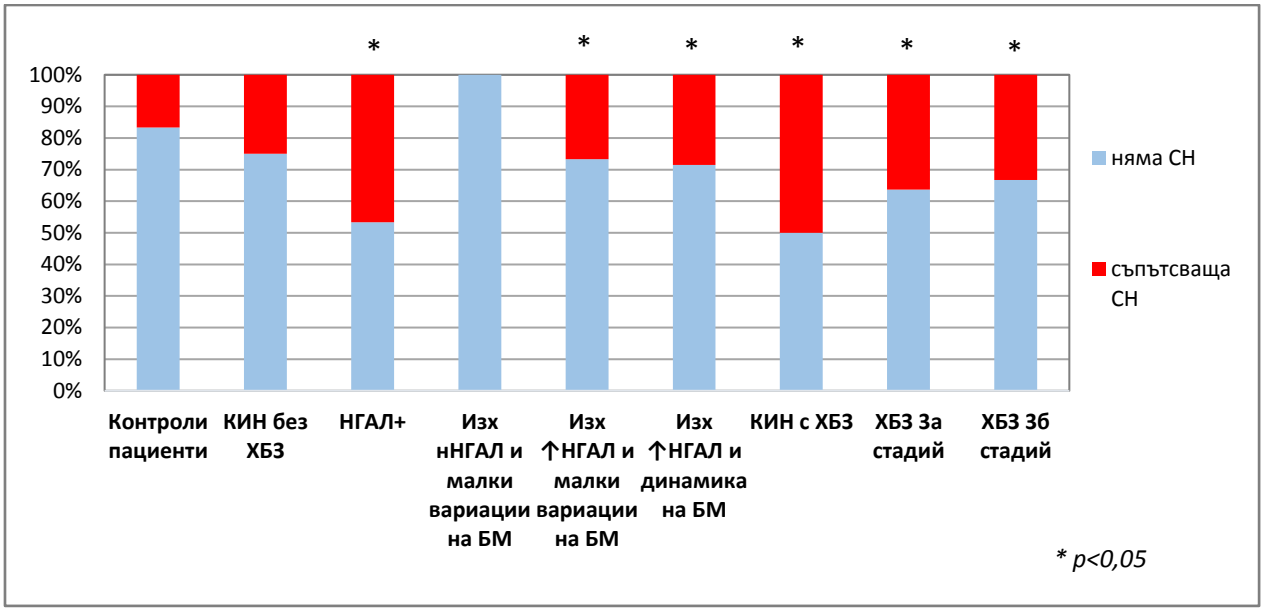
Обобщеното представяне на анамнестичните данни и клинична изява на ИБС при двете основни групи пациенти е посочено на фигура №7.



Фигура №7. Клинично и анамнестично представяне на ИБС при двете основни групи пациенти

4.2.Сърдечна недостатъчност

Освен клинични прояви на исхемична болест на сърцето, при част от пациентите се установява анамнеза и обективна находка за съпътстваща сърдечна недостатъчност. Единствено при групата „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ” нито един от пациентите няма СН. В групите „контроли пациенти” и „КИН без ХБЗ” относителния дял на пациенти със СН спрямо цялата група не надвишава 25% и не се установяват разлики спрямо групата, където липсва тази патология. При всички останали групи лицата с прояви на СН имат по-голям относителен дял (от 26 до 47%) и това води до сигнификантна разлика спрямо пациентите без СН (*група „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“*) (фигура №8).



Фигура №8. Сравнение между всички групи спрямо съпътстваща сърдечна недостатъчност
** посочените групи са сравнени спрямо кохорта без СН (група „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“) (p< 0,05)*

Определянето на функционалния клас СН сочи, че при пациентите със запазена бъбречна функция от общо 19 (21,84%) които имат прояви на СН, по-голямата част са във втори функционален клас (n=14/16,09%), а трети ФК са наблюдава само при n=5 (5,75%). При групата с прояви на ХБЗ преобладава клиничната изява на по-тежка форма на СН – във II ФК са едва 8 (16,67%) пациента, а III ФК са 10 пациента (20,84%) от общо 18 за групата. Сравнението между отделните групи показва, че спрямо пациентите, при които не се наблюдава тази съпътстваща патология, групите „НГАЛ+”, „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ” и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ” имат значително повече пациенти във втори функционален клас (p < 0,05), а групите с ХБЗ значително повече пациенти в трети ФК (p < 0,05).
Клиничният преглед при всички пациенти показва, че преди провеждането на инвазивното ангиографско изследване, те са били в напълно компенсирано състояние, без прояви на белодробен застой или периферни отоци. Голяма част от пациентите със СН провеждат редовно лечение с бримкови диуретици, като то съответства на разпределение по групите, където има такива представители.

4.3. Други придружаващи заболявания

От всички пациенти, включени в научното изследване е получена информация относно придружаващите заболявания извън кардиологичната анамнеза. Резултатите показват, че в цялата кохорта от пациенти се установяват заболявания като периферно-съдова болест (n=21/15,56%), мозъчно-съдова болест (n=16/11,85%), хронична обструктивна белодробна болест (ХОББ) (n=11/8,14%), подагра (n=5/3,7%), някакъв вид автоимунна болест (n=3/2,22%).

Насоченото търсене на информация относно наличието на **нефрологични заболявания** показва, че сред пациентите със запазена бъбречна функция при общо 16 (11,85%) от тях има данни за нефролитиаза, прекаран пиелонефрит или предишен епизод на ОБУ. В групата с ХБЗ при преобладаваща част от пациентите липсва информация относно етиологичния фактор довел до хронично увреждане на бъбречната функция. При едва 10 (7,4%) от пациентите в тази група има данни относно бъбречно заболяване

в миналото, предходен епизод на ОБУ или наличие на друг фактор. Статистическия анализ не показва преобладаването на някое от описаните придружаващи заболявания сред разглежданите основни и допълнителни групи.

5. Общо клинично състояние, ехокардиографско изследване и медикаментозна терапия

При всички пациенти включени в научното изследване е осъществен физикален преглед, направени са необходимите лабораторни изследвания, осъществено е ехокардиографско изследване и назначена медикаментозна терапия. Преобладаваща част от тези параметри нямат значително отклонение от нормата или сигнификантно различие между групите. С влошен контрол на АН са само пациентите от групи „КИН без ХБЗ“, „изх↑НГАЛ с динамика на БМ“ и „ХБЗ 3а стадий“ ($p < 0,05$ спрямо контролната група).
Осъществената ехокардиография показва, че систолна ЛК функция е запазена със средна фракция на изтласкване (ФИ) близка до нормалната (55-60%) при повечето групи. При пациентите с ХБЗ се очертава тенденцията за лекостепенна систолна дисфункция (ФИ ~ 50%), без да се достига статистическа сигнификантна разлика.

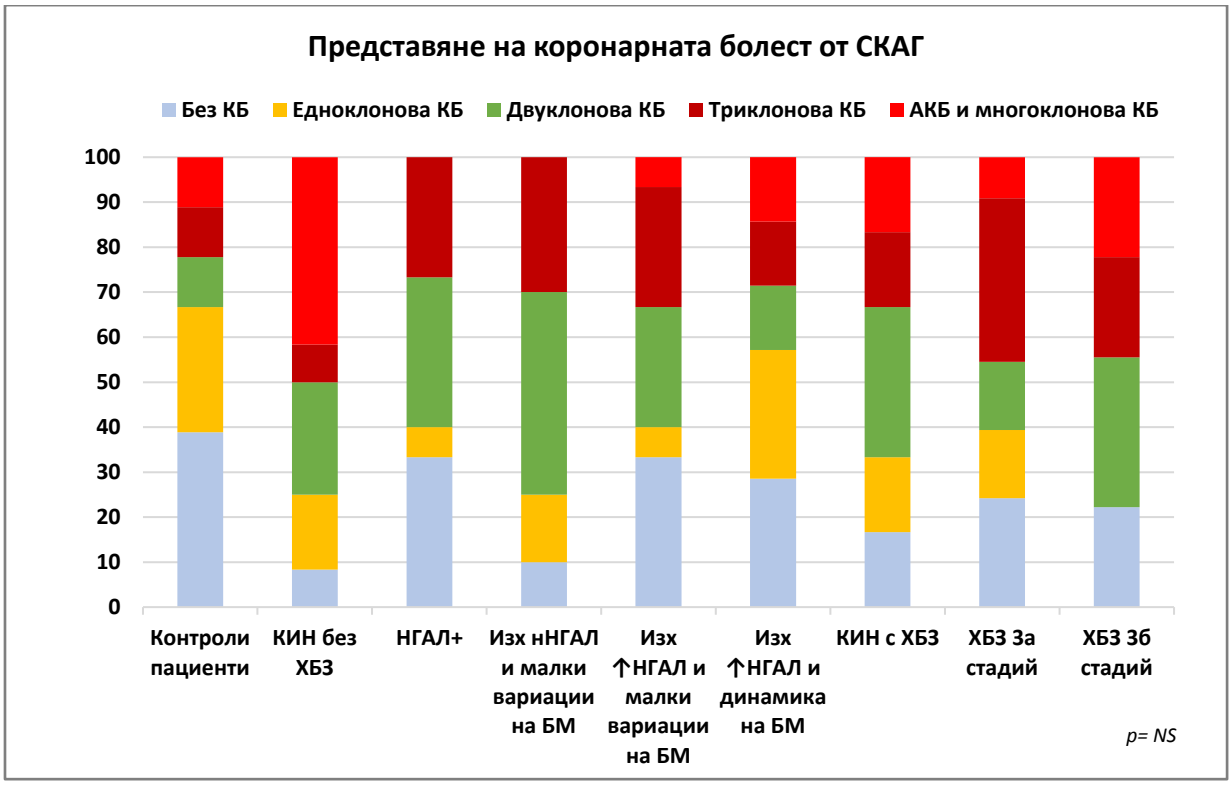
6. Характеристики на инвазивното ангиографско изследване

Инвазивното ангиографско изследване е проведено при всички пациенти, обект на научното изследване съгласно установения протокол. Резултатите показват, че основните характеристики на ангиографията като съдов достъп, общо рентгеново време и общо процедурно време, не се различават съществено между изследваните групи. При 94% от случаите основния достъп е бил през радиалната артерия и само в ~ 6% се е наложило използването на феморален достъп. Средната продължителност на СКАГ±ПКИ варира от 2,8 до 14,36 минути измерено в рентгеново време, и от 30 до 55 минути представено като общо процедурно време.

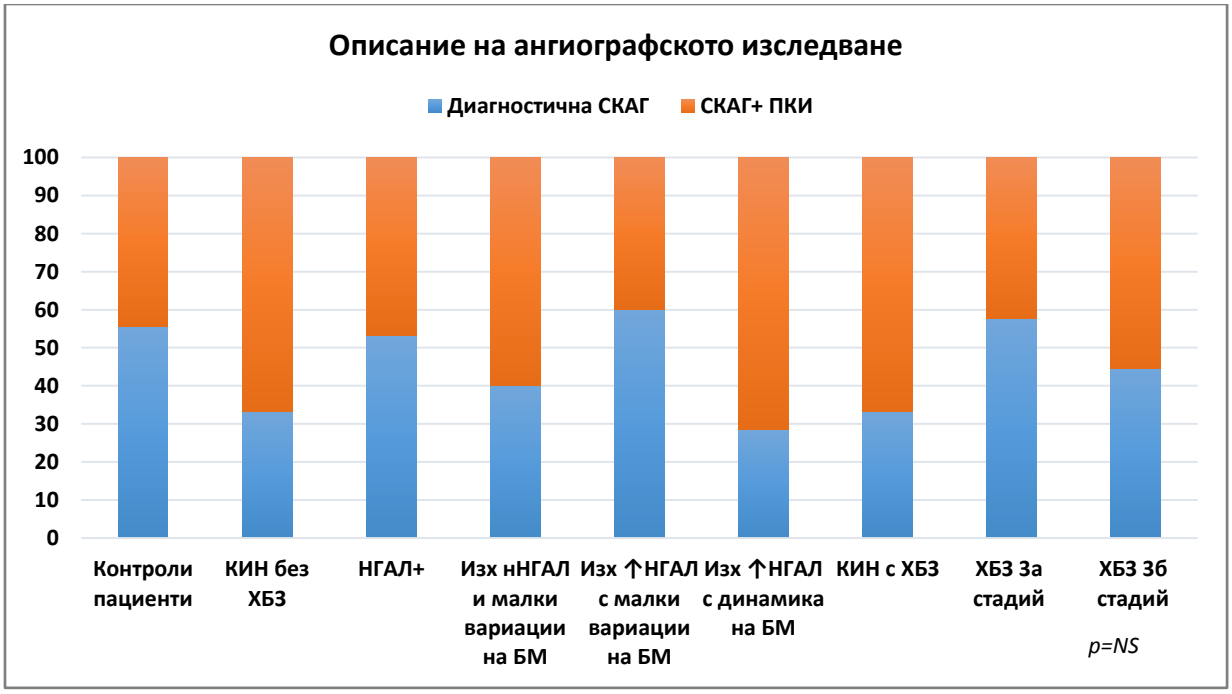
Ангиографската находка показва, че липсва коронарна болест в над 30% от случаите при контролната група, „НГАЛ+“ и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“. Изявата на коронарната болест (КБ) под формата на двуклонова и триклонова се установява най-малко сред контролите (22,2%), при средно 30% в групите „КИН без ХБЗ“ и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“, а във всички останали групи обобщеното представянето на двете форми е между 50 и 70%. Трябва да се отбележи, обаче че отделното разглеждане на коронарната анатомия, като наличие на предходна оперативна реваскуларизация (АКБ) при многоклонова болест, показва най-високо представяне сред пациентите, развиващи КИН (с и без ХБЗ). Въпреки, липсата на сигнификантна разлика между изследваните групи се очертава тенденцията за изява на по-тежки форми на коронарна болест при групите с ХБЗ и при лицата с КИН в групата със запазена бъбречна функция (фигура №9).

Ангиографското изследване представлява само диагностична коронарография сред 48,89% от включената извадка и комбинация от СКАГ+ПКИ при общо 51,11% от пациентите. При сравненията между групите има тенденция за преобладаване на интервенционалните процедури в някои групи като **„КИН без ХБЗ“**, **„КИН с ХБЗ“**, **изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ и изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“**, където отношението е над 60% в полза на ПКИ (*p = NS*) (фигура №10). Детайлното разглеждане на особеностите на ПКИ показва, че в групите „НГАЛ+“ и „ХБЗ 3б стадий“ има

значително повече интервенирани бифуркационни лезии (p< 0,05 спрямо контролна група), а в групите с КИН (с и без ХБЗ) има сигнификантно повече интервенционални процедури на хронично оклудирани лезии (p< 0,05).

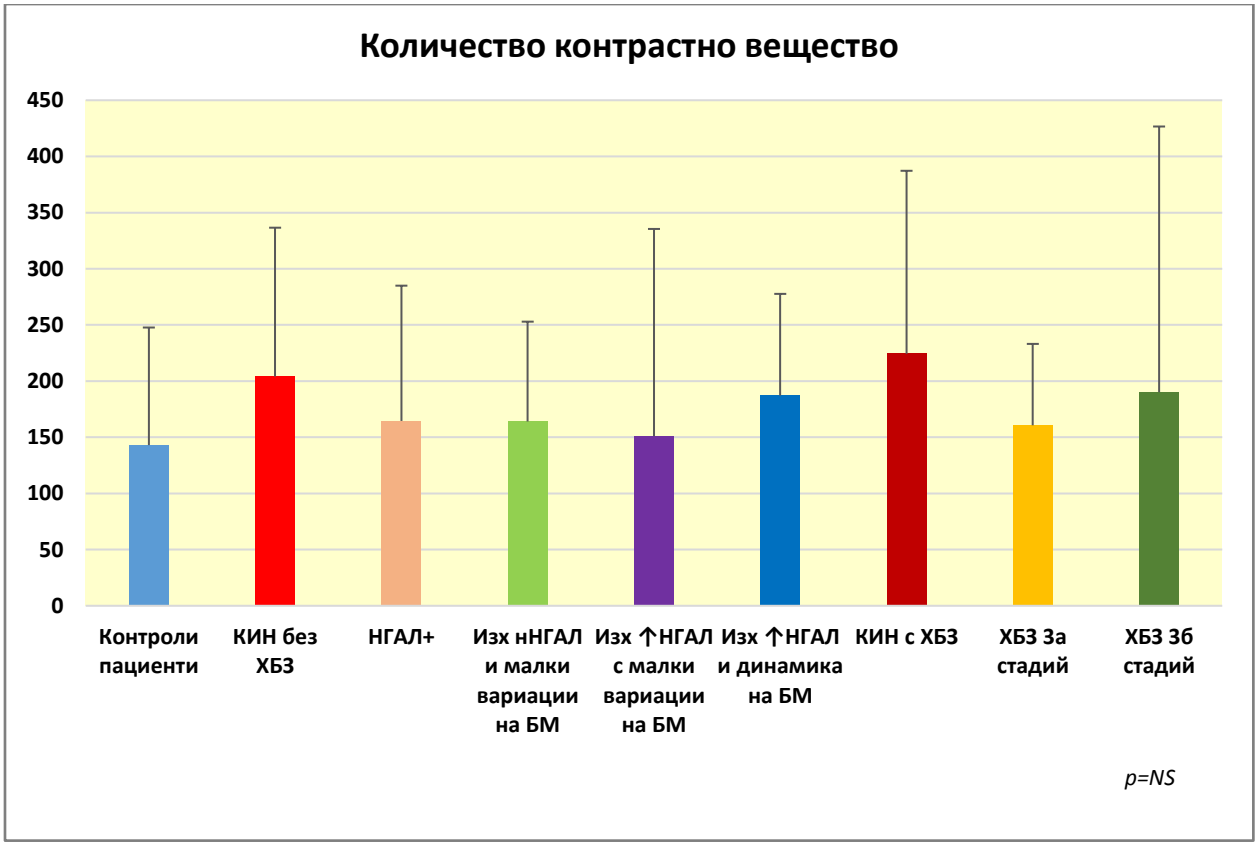


Фигура №9. Разпределение по групи спрямо коронарната анатомия установена при инвазивното изследване



Фигура №10. Разпределение в групите спрямо вида на ангиографското изследване
СКАГ – селективна коронарна ангиография; ПКИ – перкутанна коронарна ангиопластика

<u>Използваното количество контрастно вещество</u> по време на ангиографското изследване е средно около 150 мл. Въпреки липсата на сигнификантна разлика между разглежданите групи, се очертава тенденцията при лицата от групите „КИН без ХБЗ“ и КИН с ХБЗ“ средното количество контрастно вещество да надвишава 200 мл (фигура №11). При контролната група приложеното количество КВ е най-ниско спрямо останалите групи.



Фигура №11. Графично представяне на средното количество контрастно вещество използвано по време на ангиографското изследване при отделните групи

Според данните в литературата, много по-точен показател от общото количество КВ е изчисляването на **<u>отношението „количество КВ/гломерулната филтрация“</u>** (*Gurm et al. препоръчват референтни граници за него между 2 и 3*). Резултатите от настоящето проучване показват, че стойности на отношението „количество КВ/ГФ“ < 2 се наблюдават само при контролна група и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“. Нива между 2 и 2,5 на това отношение се установяват при групите „НГАЛ +“ и „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“, а при всички останали то се доближава или > 3 (таблица №5). Сравнителния анализ показва, че употребеното количество КВ отнесено към съответната ГФ, е сигнификантно по-голямо при „КИН без ХБЗ“ и при всички пациенти с ХБЗ (*спрямо групата с най-нисък резултат „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“, p< 0,05).*

Показател	Група	N	Mean	Median	SD	Min	Max	Chi-Square	df	p
Отношение „Количество КВ/ГФ“	Контроли пациенти	18	1,92	1,27	1,54	0,30	5,16	19,36	8	**0,013**
	КИН без ХБЗ	12	2,92	2,41	1,93	0,73	6,12			
	НГАЛ+	15	2,17	1,61	1,66	0,48	5,90			
	Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	20	2,17	1,99	1,25	0,55	5,30			
	Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	15	1,81	1,35	1,83	0,78	8,17			
	Изх ↑НГАЛ с динамика на БМ	7	2,70	2,90	1,22	0,71	3,95			
	КИН с ХБЗ	6	5,02	3,00	5,43	2,00	16,07			
	ХБЗ 3а стадий	33	2,91	3,12	1,28	1,05	6,16			
	ХБЗ 3б стадий	9	4,90	3,40	5,95	1,09	19,92			

Таблица №5. Представяне на отношението „количество контрастно вещество/гломерулна филтрация“ при отделните групи

II. Динамични промени на серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ

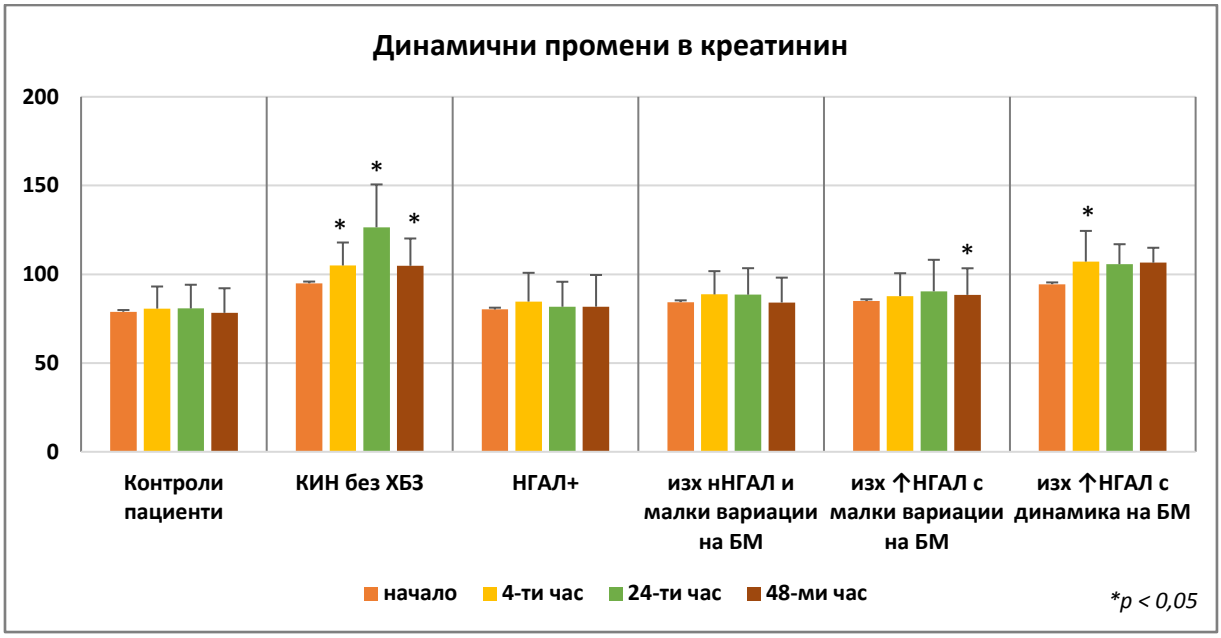
1. Динамични промени в серумния креатинин

Според дизайна на научното изследване лабораторните проби за изследване на серумен креатинин са получени изходно преди контрастното изследване, на 4-ти, 24-ти и 48-ми час след него. От направения сравнителен анализ в отделните часови интервали се установява, че при контролната група пациенти, група „НГАЛ+“ и група „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ няма сигнификантна промяна в нивата на серумен креатинин, отчетени в края на изследването спрямо изходните нива. Изолирано повишение само в една стойност на показателя се отчита при групите „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ (48-ми час) и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“ (4-ти час).

Групата с най-значими промени в серумния креатинин е **„КИН без ХБЗ“**, където спрямо изходни нива от 94,90±10,63 µmol/l, на 4-ти час след СКАГ показателя достига до 104,97±12,93 µmol/l (p = 0,019), като на 24-ти час (126,46±24,17 µmol/l; p = 0,002) и на 48-ми час (104,79 ±15,39 µmol/l; p = 0,007) се запазва значителното му нарастване. Повишаването на креатинина в тази група е статистически сигнификантно в почти всички времеви интервали. Описаните тенденции при всички лица с изходно запазена бъбречна функция са представени графично на фигура №12.

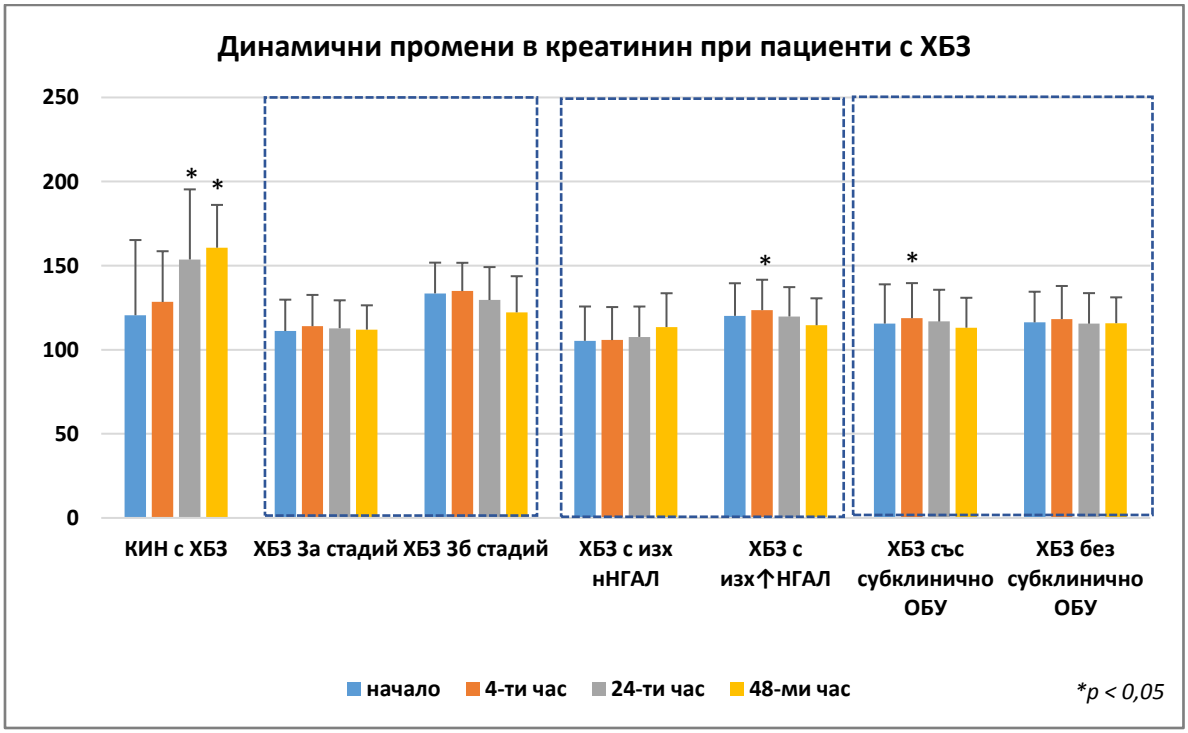
При групата **„КИН с ХБЗ“** се установява, че спрямо изходното ниво (120,52 ± 44,70 µmol/l), серумният креатинин се повишава сигнификантно на 24-ти час (153,68 ± 41,67 µmol/l, p = 0,028) и 48-ми час (160,68 ± 25,44 µmol/l, p=0,042).

Цялостното разглеждане на **„обобщена група КИН“**, независимо от изходната бъбречна функция показва, че креатинина се променя сигнификантно в почти всички часови интервали, като от изходни нива 103,44±28,55 µmol/l се повишава до 123,42±32,88 µmol/l на 48-ми час (p=0,001).



Фигура №12. Графично представяне на динамичните промени в серумния креатинин при пациенти със запазена бъбречна функция
***** *сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p<0,05)*

При останалите пациенти с ХБЗ, при които не са наблюдава контраст-индуцирано увреждане, се установява общата тенденция, нивата на серумния креатинин в края на изследвания период да не се отличават сигнификантно спрямо изходните стойности. Изолирано преходно повишение на показателя се установява само при отделни групи („ХБЗ с изх ↑НГАЛ“, „ХБЗ със субклинично ОБУ“), което обаче не променя описаната тенденция (фигура №13).



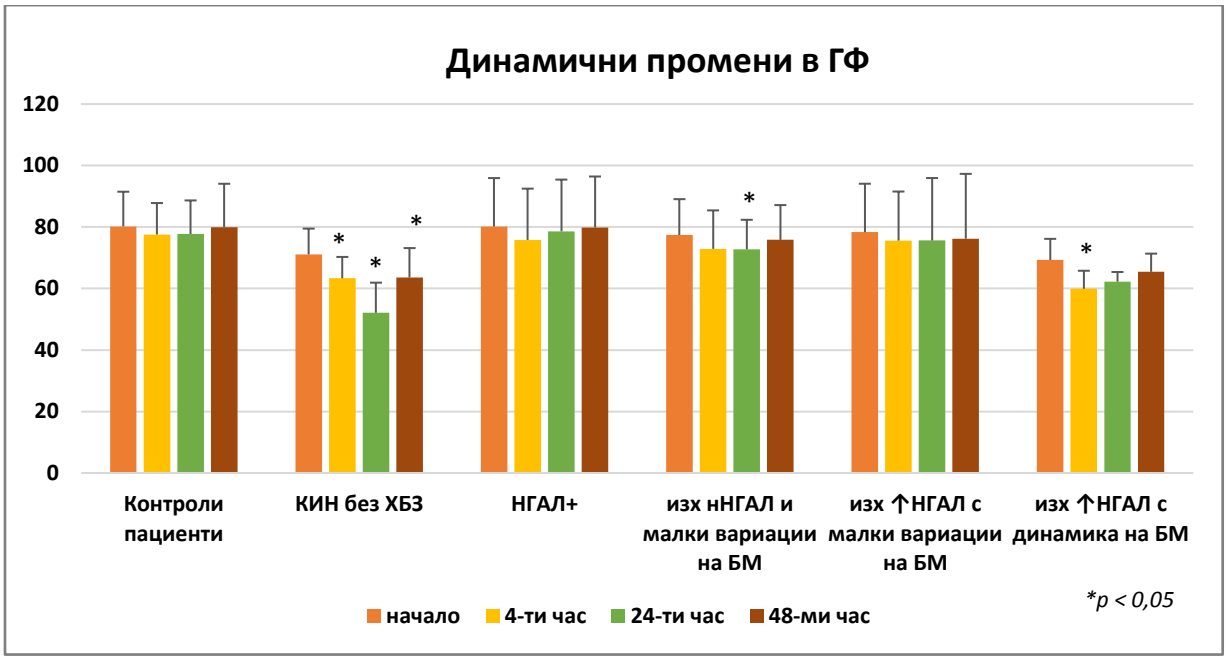
Фигура №13. Динамични промени в серумния креатинин при пациенти с умерена форма на ХБЗ (*с пунктирани линии е означено разделянето на общата група „ХБЗ без КИН“ по различни критерии)*
***** *сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p < 0,05)*

2. Динамични промени в гломерулната филтрация

Общите тенденции описани при динамика на серумния креатинин, се установяват и при анализа на показателя ГФ.

При пациентите от контролната, „НГАЛ+“ и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ групи, нивата на ГФ не се променят сигнификантно за целия наблюдаван период на научното изследване. Понижение на отделни стойности на ГФ се установява при групите „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ (24-ти час) и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“ (4-ти час), което обаче не повлиява тенденцията изходните и финалните нива на показателя да са сходни.

Най-динамични са измененията при пациентите с постконтрастно бъбречно увреждане, попадащи в група **„КИН без ХБЗ“**, където спрямо изходни стойности 71,10±8,39 ml/min, на 4-ти час ГФ се понижава до 63,35±6,93 ml/min (p = 0,019). Тази тенденция продължава и през следващите периоди на наблюдение (24-ти час - 52,12±9,79 ml/min, p = 0,002 и 48-ми час - ГФ 63,57±9,59 ml/mi, p = 0,007). Сравнителния анализ на нивата на ГФ между отделните часови интервали показва, че регистрираното изменение между 4-ти и 24-ти час е статистически значимо (p = 0,010), както и между 24-ти и 48-ми час (p = 0,005) (фигура №14)

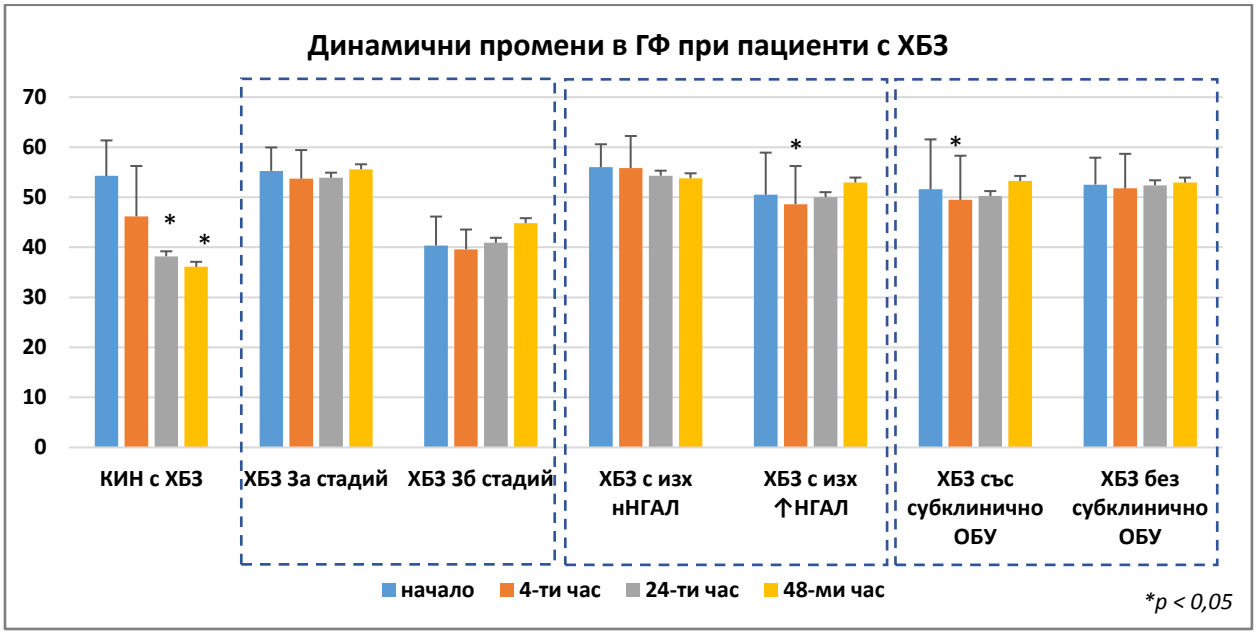


Фигура №14. Графично представяне на динамичните промени в гломерулната филтрация по часови интервали при пациенти със запазена бъбречна функция
** сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p<0,05)*

Сред лицата с изходно увредена бъбречна функция, отново най-демонстративни са динамичните промени, наблюдавани при групата **„КИН с ХБЗ“**, където понижението на ГФ започва от 4-ти час, но достига сигнификантност на 24-ти час (38,20 ± 10,09 ml/min спрямо изходни стойности 54,26 ± 7,10 ml/min; p=0,028) и продължава да се понижава до 48-мия час (36,10 ± 6,52 ml/min; p = 0,043) (фигура №17).

Разглеждането на **„обобщена група КИН“**, обединява описаните по отделно динамични промени в двете подгрупи и очертава тенденцията за сигнификантно понижение на ГФ, започващо още на 4-ти час след контрастното приложение и продължаващо до 24-тия час.

При всички останали пациенти с ХБЗ, но без развитие на КИН, се установява общата тенденция в края на изследвания период нивата на ГФ да бъдат сходни с изходните (*p=NS*). Изолирано преходно понижение на ГФ се регистрира при отделни подгрупи („ХБЗ с изх ↑НГАЛ“, „ХБЗ със субклинично ОБУ“), което обаче не се отразява върху цялостно очертаната тенденция (фигура №15).



Фигура №15. Графично представяне на динамичните промени в ГФ по часови интервали при различните подгрупи с ХБЗ. *(с пунктирани линии е означено разделянето на общата група „ХБЗ без КИН“ по различни критерии).*
** сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p<0,05)*

3. Динамични промени в плазмения НГАЛ

Конкретните стойности на новия биомаркер при групите със запазена бъбречна функция, отразени по часови интервали са дадени в таблица №6, а сравнителния статистически анализ в таблица №7.

При контролната група пациенти се регистрират най-ниските нива на плазмен НГАЛ, които практически не се променят в динамика. Липса на сигнификантно изменение при последващи измервания, се установява също и при групите „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“, и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“, но съответните нива на показателя са различни за всяка от посочените групи.

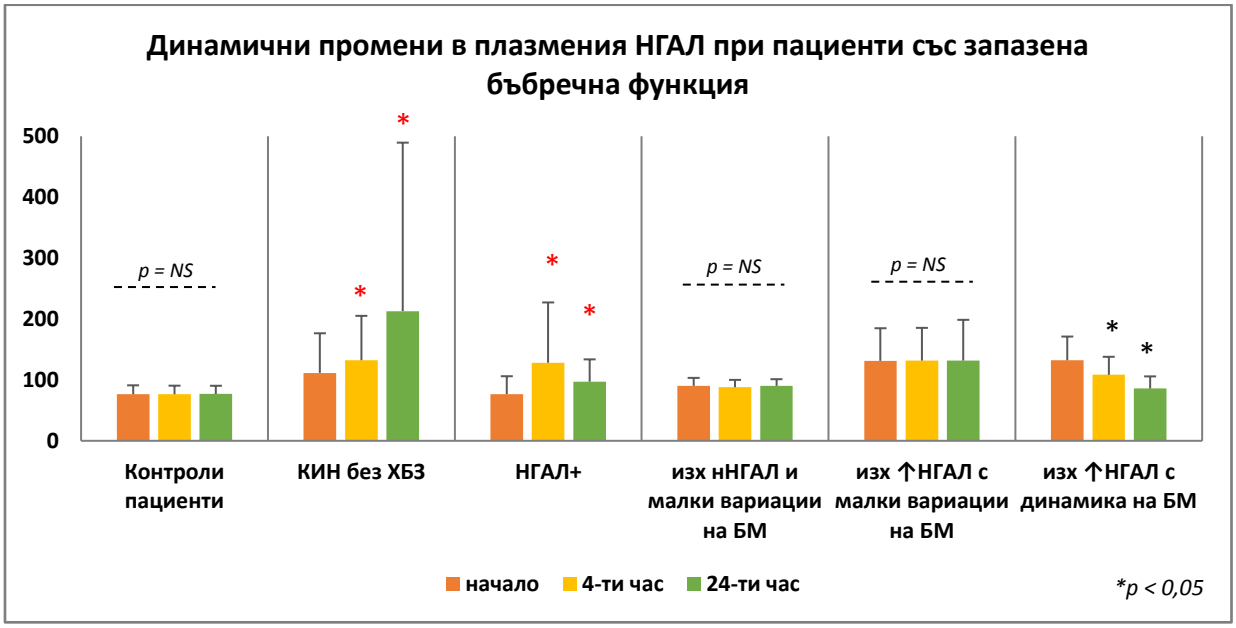
Както при разглеждането на серумен креатинин и ГФ, отново най-демонстративните промени в изследвания показател се наблюдават при група **„КИН без ХБЗ“**, където изходното ниво на плазмен НГАЛ е 111,48 ± 65,06 ng/ml, но впоследствие бързо се повишава – на 4-ти час до 132,33±72,83 ng/ml (p=0,006) и на 24-ти час достига до 212,93±276,61 ng/ml (p=0,008) (фигура №16).

Аналогична на тази тенденция е промяната, която се установява при пациентите от група **„НГАЛ+“**, където бързо и сигнификантно повишение се наблюдава още на 4-ти час (128,18±99 ng/ml спрямо изходно ниво 76,69±29,32 ng/ml, p=0,002). Към 24-ти час след контрастното изследване стойностите на НГАЛ все още се задържат повишени (97,05±36,66 ng/ml, p= 0,001).

Последната група от кохортата със запазена бъбречна функция („изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“), показва съвсем противоположна от описаната до тук находка, със сигнификантно понижение на НГАЛ във всеки следващ часови интервал спрямо предходното измерване.

Наименование на групата	НГАЛ	N	Mean	Median	SD	Min	Max
Контроли пациенти	начало	18	76,40	80,30	14,70	49,00	99,10
	4-ти час	18	76,39	76,55	14,12	50,30	102,20
	24-ти час	18	76,86	77,95	13,47	50,90	102,70
КИН без ХБЗ	начало	12	111,48	97,55	65,06	28,30	286,40
	4-ти час	12	132,33	109,25	72,83	58,50	329,80
	24-ти час	12	212,93	130,95	276,61	24,50	1055,00
НГАЛ+	начало	15	76,69	80,00	29,32	26,50	122,50
	4-ти час	15	128,18	94,00	99,00	30,40	404,60
	24-ти час	15	97,05	100,70	36,66	37,80	152,00
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	начало	20	90,24	91,75	13,06	64,30	107,50
	4-ти час	20	87,95	89,00	12,09	57,30	107,00
	24-ти час	20	90,19	90,95	10,96	68,00	105,90
Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	начало	15	131,29	119,70	53,53	93,00	314,00
	4-ти час	15	131,69	122,60	53,73	92,50	319,10
	24-ти час	14	131,74	112,70	66,86	86,10	352,60
Изх ↑НГАЛ с динамика на БМ	начало	7	132,26	130,80	38,90	82,80	192,60
	4-ти час	7	108,36	112,00	29,53	72,60	154,10
	24-ти час	6	85,85	83,85	19,90	63,40	113,40
§ Обобщена група КИН	начало	18	121,91	114,25	59,37	28,30	286,40
	4-ти час	18	139,59	122,25	65,57	58,50	329,80
	24-ти час	18	202,88	132,95	225,29	24,50	1055,00

Таблица №6. Стойности на плазмения НГАЛ по часови интервали при пациенти със запазена бъбречна функция и при обобщена група КИН



Фигура №16. Графично представяне на динамичните промени в плазмения НГАЛ по часови интервали при групите със запазена бъбречна функция

** сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p < 0,05)*

Група	НГАЛ	начало	начало	4-ти час
	Статистика	4-ти час	24-ти час	24-ти час
Контроли пациенти	Z	-0,071	-0,450	-0,829
	p	0,943	0,653	0,407
КИН без ХБЗ	Z	-2,747	-2,040	-0,784
	p	**0,006**	**0,008**	0,937
НГАЛ +	Z	-3,067	-3,352	-0,852
	p	**0,002**	**0,001**	0,394
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	Z	-0,724	-0,101	-0,803
	p	0,469	0,920	0,422
Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	Z	-0,126	-0,734	-0,031
	p	0,900	0,463	0,975
Изх ↑НГАЛ с динамика на БМ	Z	-2,366	-2,201	-2,201
	p	**0,018**	**0,028**	**0,028**
§ Обобщена група КИН	Z	-2,984	-3,506	-1,415
	p	**0,003**	**<0,001**	0,157

Таблица № 7. Сравнителен анализ на стойностите на плазмен НГАЛ по часови интервали при пациентите със запазена бъбречна функция и при обобщена група КИН.

При пациентите от група **„КИН с ХБЗ“**, плазмения НГАЛ също демонстрира сигнификантно повишение - от изходни нива 142,77± 43,45 ng/ml, на 4-ти час се отчитат 154,12±50,66 ng/ml и на 24-ти час се достига до 182,78±59,24 ng/ml (p=0,028). Както показва сравнителния статистически анализ сигнификантното повишение на плазмения НГАЛ в тази група настъпва в интервала между 4-ти и 24-ти час (p=0,028) (таблици №8, 9 и фигура №17).

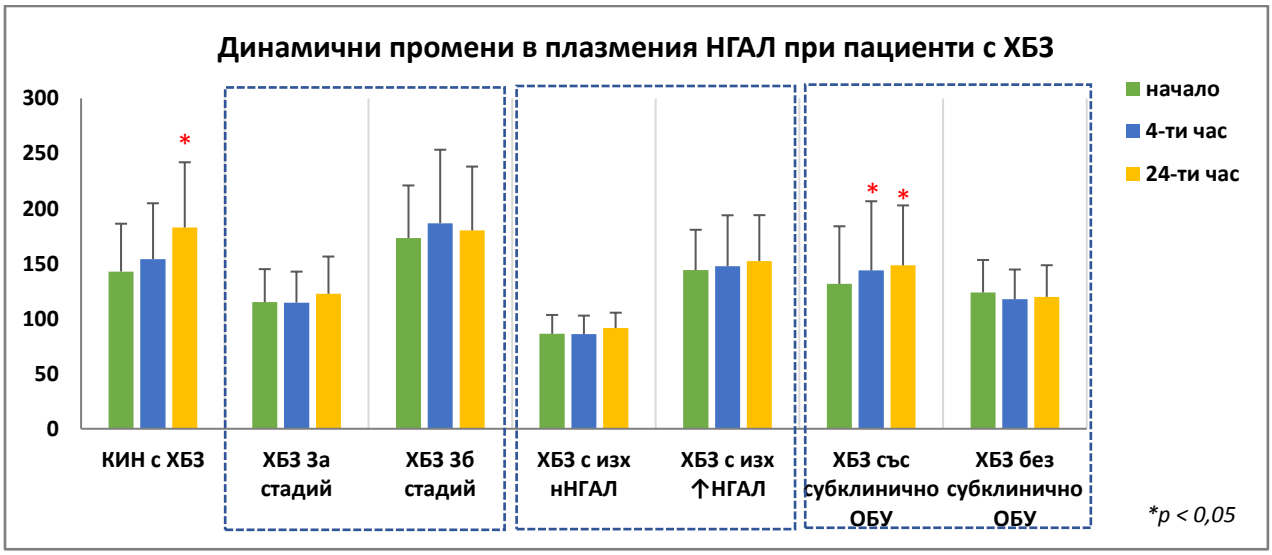
Разглеждането на всички пациенти в „**обобщена група КИН“**, потвърждава описаните тенденции в отделните подгрупи, със сигнификантно повишение на плазмения НГАЛ още на 4-ти час (139,59±65,57 спрямо 121,91±59,37 ng/ml; p=0,003) и задържащо се до 24-ти час (202,88±225,29 ng/ml; p<0,001) (таблици №6,7).

Общото анализиране на получените резултати за НГАЛ сред останалите пациенти с ХБЗ, но без постконтрастно бъбречно увреждане, показва липса на сигнификантна промяна във времето, както при групите разделени спрямо стадия на заболяването (ХБЗ 3а и 3б стадий), така и при групите, класифицирани според изходното ниво на НГАЛ („ХБЗ с изх нНГАЛ“ и „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“) (таблица №9).

Внимание заслужават динамичните изменения на новия биомаркер при групата **„ХБЗ със субклинично ОБУ“**, където още на 4-ти час се отчита сигнификантно повишение (143,68± 62,93 ng/ml спрямо изходни нива 131,54 ± 52,36 ng/ml, p=0,040) и то продължава до 24-тия час (148,38±54,46 ng/ml, p=0,015). При пациентите от противоположната група с „ХБЗ без субклинично ОБУ“ не се регистрира сигнификантно изменение на плазмения НГАЛ. Описаните динамични промени в новия биомаркер при пациентите с умерена форма на ХБЗ са представени на фигура №17.

Наименование на групата	НГАЛ	N	Mean	Median	SD	Min	Max
КИН с ХБЗ	начало	6	142,77	147,55	43,45	93,20	198,00
	4-ти час	6	154,12	165,90	50,66	92,50	223,10
	24-ти час	6	182,78	196,55	59,24	108,50	265,80
§ Обща група „ХБЗ без КИН“	начало	42	127,47	123,75	41,61	57,60	249,00
	4-ти час	42	129,98	128,10	48,85	50,10	302,10
	24-ти час	40	134,08	136,00	45,34	68,30	249,70
• **ХБЗ 3а стадий**	начало	33	114,98	115,60	29,98	57,60	190,40
	4-ти час	33	114,53	114,40	28,18	50,10	180,00
	24-ти час	32	122,58	125,30	33,82	68,30	182,50
• **ХБЗ 3б стадий**	начало	9	173,30	150,30	47,66	128,80	249,00
	4-ти час	9	186,62	154,10	66,77	112,70	302,10
	24-ти час	8	180,10	178,35	57,99	109,20	249,70
❖ **ХБЗ с изх нНГАЛ**	начало	12	86,16	81,45	17,19	57,60	109,70
	4-ти час	12	85,89	86,55	16,85	50,10	106,40
	24-ти час	12	91,40	92,75	14,00	71,70	111,00
❖ **ХБЗ с изх ↑НГАЛ**	начало	30	144,00	133,55	36,70	100,70	249,00
	4-ти час	30	147,61	135,25	46,26	100,60	302,10
	24-ти час	28	152,37	146,95	41,63	68,30	249,70
ХБЗ със субклинично ОБУ	начало	20	131,54	121,30	52,36	57,60	249,00
	4-ти час	20	143,68	135,40	62,93	50,10	302,10
	24-ти час	20	148,38	146,80	54,46	68,30	249,70
ХБЗ без субклинично ОБУ	начало	22	123,78	126,20	29,50	67,00	190,40
	4-ти час	22	117,52	119,50	27,10	71,70	180,00
	24-ти час	20	119,79	119,65	28,71	71,70	171,20

Таблица №8. Стойности на плазмения НГАЛ по часови интервали при пациенти с умерена форма на ХБЗ и отделните подгрупи



Фигура № 17. Графично представяне на динамичните промени в плазмен НГАЛ по часови интервали при различните подгрупи с ХБЗ *(с пунктирани линии е означено разделянето на общата група „ХБЗ без КИН“ по различни критерии).*
** сравнение спрямо изходните стойности в съответната група (p < 0,05)*

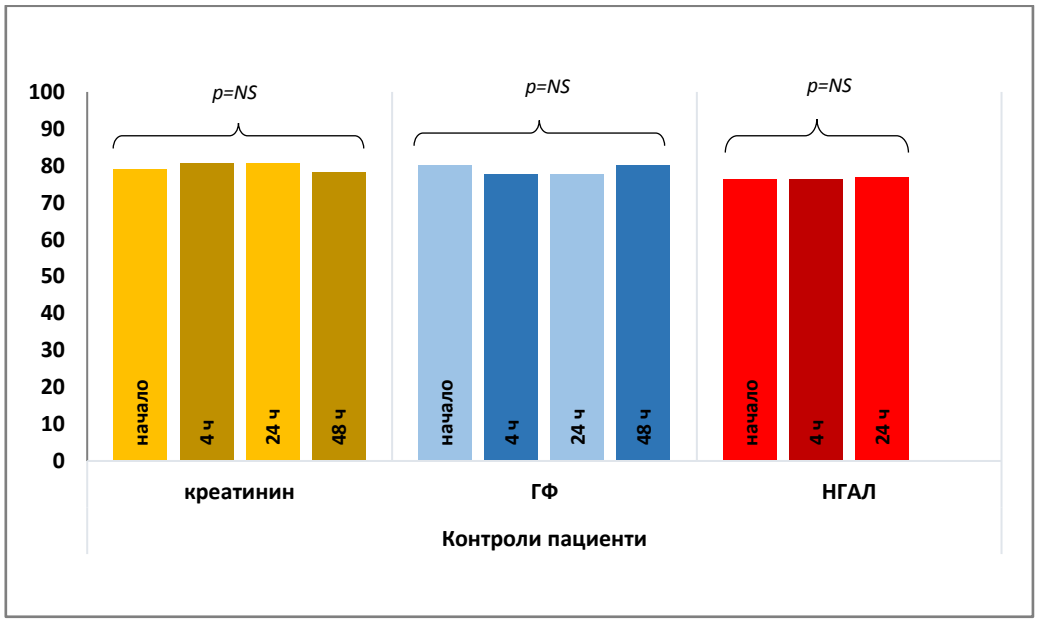
Група	НГАЛ	начало	начало	4-ти час
	Статистика	4-ти час	24-ти час	24-ти час
КИН с ХБЗ	Z	-1,153	-2,201	-2,201
	p	0,249	**0,028**	**0,028**
§ Обща група "ХБЗ без КИН"	Z	-,400	-1,893	-1,088
	p	0,689	0,058	0,277
• **ХБЗ 3а стадий**	Z	-0,384	-1,903	-2,201
	p	0,701	0,057	0,280
• **ХБЗ 3б стадий**	Z	-1,125	-0,560	-1,120
	p	0,260	0,575	0,263
❖ **ХБЗ с изх нНГАЛ**	Z	-,549	-1,478	-1,201
	p	0,583	0,139	0,230
❖ **ХБЗ с изх ↑НГАЛ**	Z	-,617	-1,435	-,601
	p	0,537	0,151	0,548
➢ **ХБЗ със субклинично ОБУ**	Z	-2,053	-2,427	-,483
	p	**0,040**	**0,015**	0,629
➢ **ХБЗ без субклинично ОБУ**	Z	-2,078	-,871	-1,348
	p	0,380	0,384	0,178

Таблица №9. Сравнителен анализ на стойностите на стойностите на плазмен НГАЛ по часови интервали при пациенти с умерена форма на ХБЗ

III. Обобщено представяне на промените в креатинин, ГФ и НГАЛ във всяка група по отделно и междугрупови сравнения

1. Контроли пациенти

Общото разглеждане на динамичните промени в серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ вътрегрупово показва, че при контролните пациенти няма сигнификантно изменение в биомаркерите преди и след контрастното изследване (p=NS) (фигура №18).



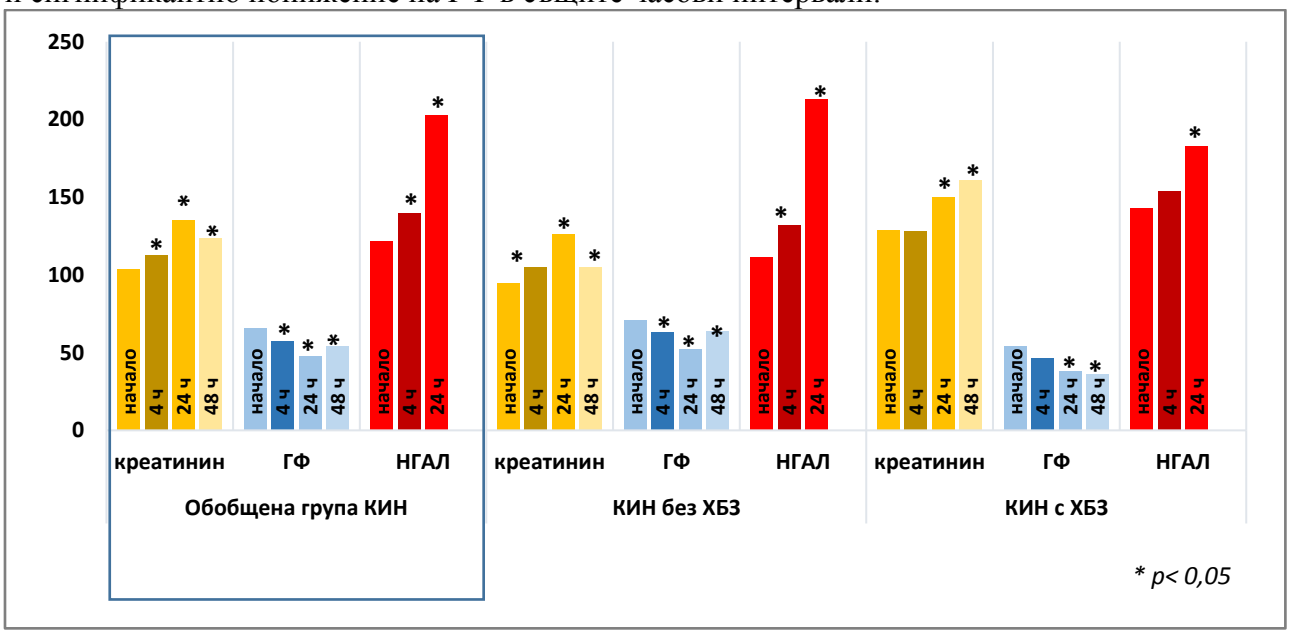
Фигура №18. Вътрегрупова динамика на изследваните показатели при контроли пациенти

2. Пациенти с контраст-индуцирана нефропатия

2.1. *Вътрегрупова динамика на показателите*

При пациенти с **„КИН без ХБЗ“**, серумния креатинин започва да се повишава сигнификантно още в първите часове след контрастното изследване и това повишение е сигнификантно през почти всички следващи часови интервали. Изменението на ГФ е аналогично, но с противоположна посока. Плазмения НГАЛ демонстрира ранно повишение на плазмените си нива (още на 4-ти час) след контрастното приложение и сигнификантно покачване до 24-ти час, където достига най-високите си стойности (фигура №19 и таблица №10) Динамичните промени при пациенти с **„КИН с ХБЗ“** са аналогични при трите показателя, с тази разлика, че сигнификантното изменение спрямо изходните стойности се отчита чак на 24-тия час след ангиографското изследване.

При **„обобщена група КИН“** се запазват описаните тенденции с ранно и бързо повишение на серумен креатинин и плазмен НГАЛ, отчетени като абсолютни стойности и сигнификантно понижение на ГФ в същите часови интервали.



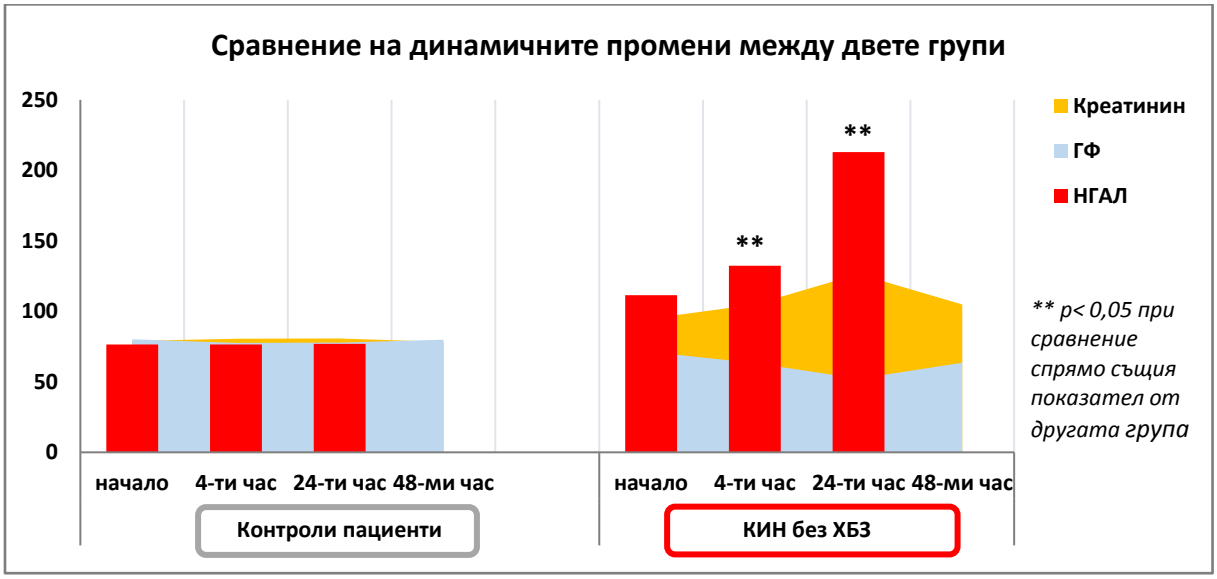
Фигура №19. Динамични промени в серумен креатинин, ГФ и НГАЛ при пациентите с контраст-индуцирана нефропатия, представени като отделни групи и като една обобщена група.
** p < 0,05 спрямо изходните стойности на съответния показател в отделната група*

Група	Вътрегрупови сравнения на показателите (стойности на p)	начало	начало	начало	4-ти час	4-ти час	24-ти час
		4-ти час	24-ти час	48-ми час	24-ти час	48-ми час	48-ми час
Обобщена група КИН	Креатинин	0,018	0,000	0,001	0,000	0,124	0,010
	ГФ	0,008	0,000	0,001	0,001	0,331	0,009
	НГАЛ	0,003	<0,001	NA	0,157	NA	NA
КИН без ХБЗ	Креатинин	0,019	0,002	0,007	0,006	0,859	0,005
	ГФ	0,019	0,002	0,007	0,010	0,953	0,005
	НГАЛ	0,006	0,008	NA	0,937	NA	NA
КИН с ХБЗ	Креатинин	0,463	0,028	0,043	0,028	0,042	0,893
	ГФ	0,345	0,028	0,043	0,028	0,043	0,893
	НГАЛ	0,249	0,028	NA	0,028	NA	NA

Таблица №10. Статистическа значимост на динамичните промени при съответните показатели проследени във времето при пациенти с КИН
NA (not available) – няма изследване на лабораторни проби за посочения часови интервал според дизайна на проучването

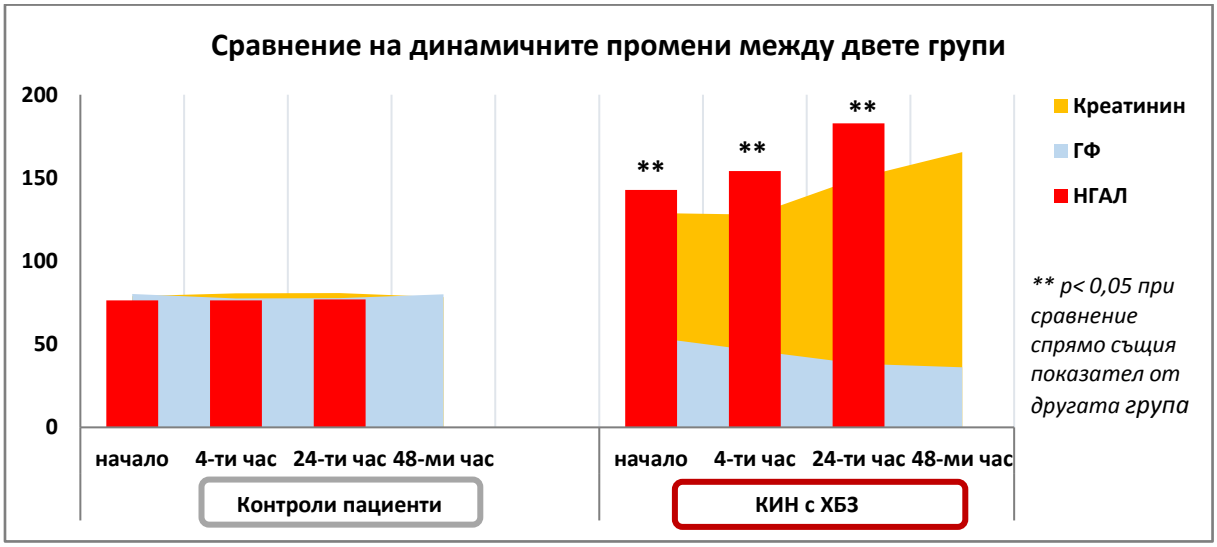
2.2. *Междугрупови сравнения на показателите*

Сравнението между **контролната група** пациенти и група **„КИН без ХБЗ“** показва, че стойностите на серумен креатинин и ГФ още изходно са статистически сигнификантно по-високи (p<0,05) и в динамика се запазва това различие. Изходните нива на НГАЛ не се различават съществено от тези при контролната група (p=0,072), но впоследствие с настъпването на повишението му, отстоянието става сигнификантно (*стойности на 4-ти и 24-ти час спрямо същите при контролната група, p<0,05*) (фигура №20).

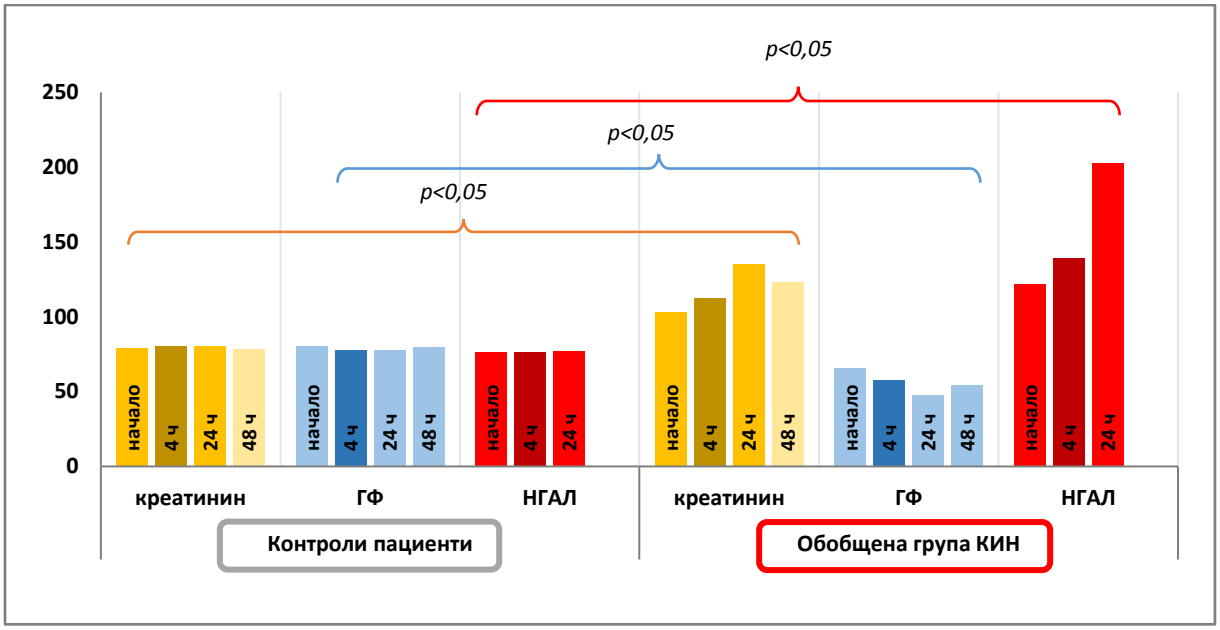


Фигури №20. Графично представяне на сравнението между група „контроли пациенти“ и група „КИН без ХБЗ“

При групите **„КИН с ХБЗ“** и при **„обобщената група КИН“** се демонстрира статистически сигнификантна разлика между всички стойности (изходни, 4-ти и 24-ти час) получени за серумен креатинин, ГФ и НГАЛ спрямо съответстващите им нива, измерени при контролната група (*p< 0,05 за всички междугрупови сравнения*)(фигури №21,22).

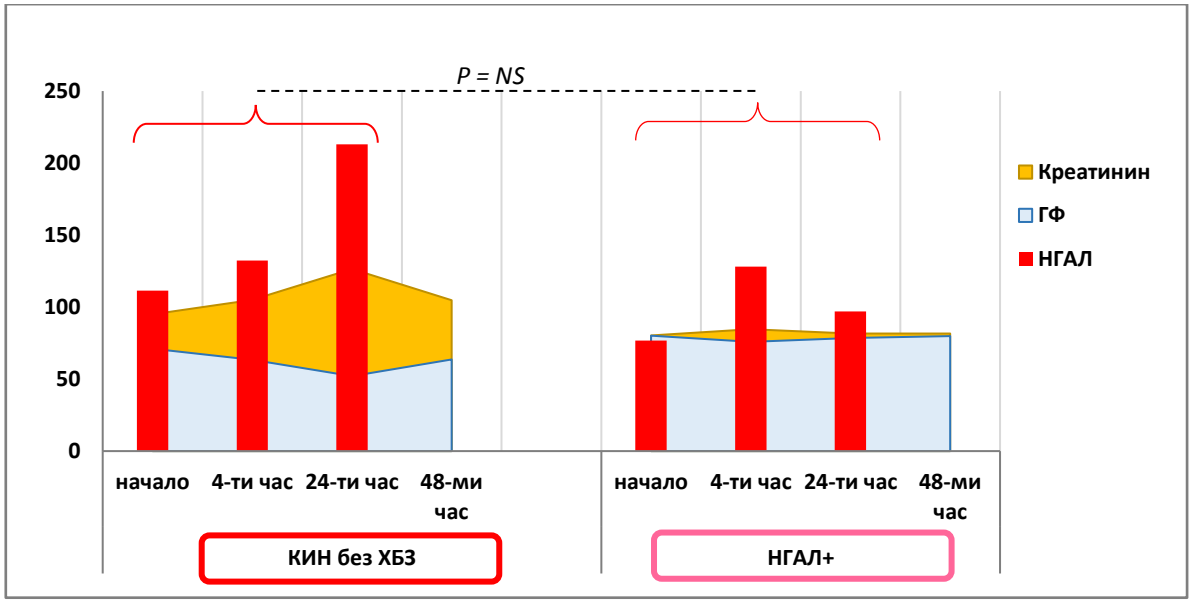


Фигури №21. Графично представяне на сравнението между група „контроли пациенти“ и група „КИН с ХБЗ“



Фигура №22. Сравнение на показателите при обобщена група КИН спрямо съответните стойности при контролната група пациенти

Съпоставянето на групите **„КИН без ХБЗ“** и **„НГАЛ+“** показва, че докато всички стойности на серумен креатинин и ГФ са сигнификантно различни между двете групи (p < 0,05), то изходните нива на НГАЛ и впоследствие проследените в динамика, изключително се доближават и не се установява сигнификантна разлика между тях (p = NS) (фигура №23).



Фигура №23. Сравнение на показателите между групите „КИН без ХБЗ“ и „НГАЛ+"

Креатинин/ГФ – начало (p<0,05); 4-ти час (p<0,05); 24-ти час (p<0,05); 48-ми час (p<0,05)
НГАЛ – начало (p=0,088); 4-ти час (p=0,354); 24-ти час (p=0,164)

3. Другите групи пациенти със запазена бъбречна функция

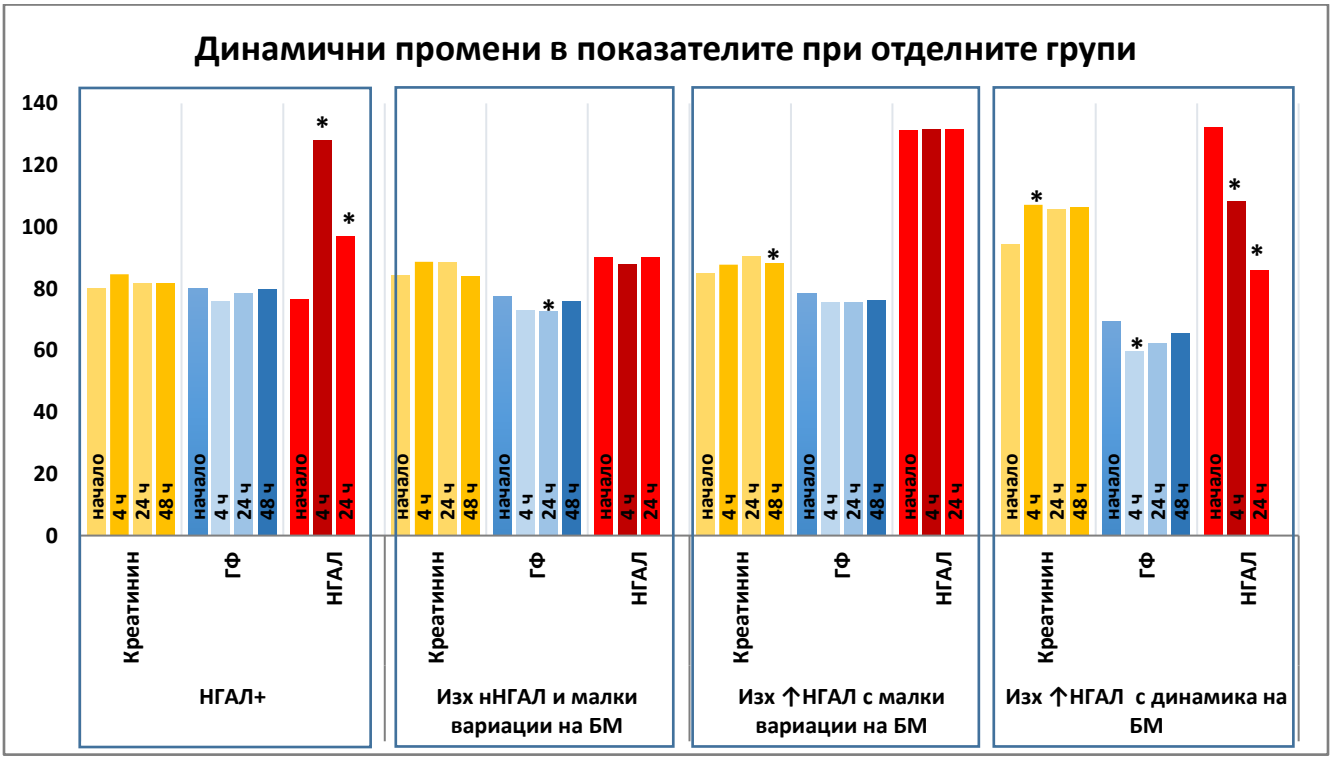
3.1. Вътрегрупова динамика на показателите

Едновременното съпоставяне на регистрираните изменения в креатинин, ГФ и НГАЛ във всяка една група по отделно може да бъде илюстрирано с фигура №24 и таблица №11.

При групата **„НГАЛ+“** прави впечатление, че серумния креатинин и ГФ не търпят съществено изменение след провеждането на контрастното изследване, докато плазмения НГАЛ нараства още в първите 4 часа след него (p=0,002) и задържа значително по-високи стойности спрямо изходните си нива (p= 0,001).

При групата **„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“** като цяло се установява липса на сигнификантна динамика в показателите, с изключение на ГФ, която към 24-тия час демонстрира преходно понижение спрямо началните стойности. Аналогична тенденция се установява и при групата **„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“**, където само креатинина показва минимално покачване достигащо сигнификантност, а вариациите на останалите показатели са незначителни.

При последната група от пациентите със запазена изходна бъбречна функция - **„изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“** се демонстрира бърза промяна на серумния креатинин и ГФ в рамките на първите часове след контрастното изследване, след което се забавя ходя на изменението. Същевременно НГАЛ показва динамика противоположна на тази при креатинина, като от високите изходни стойности започва сигнификантно понижение още на 4-ти час след контрастното изследване и то продължава до 24-тия час, когато практически се достига до почти нормални нива на биомаркера.



Фигура №24. Динамика на серумен креатинин, ГФ и НГАЛ в отделните групи пациенти
** p < 0,05 спрямо изходните стойности на съответния показател в отделната група (отразява вътрегруповата динамика)*

Група	Вътрегрупови сравнения на показателите (стойности на p)	начало 4-ти час	начало 24-ти час	начало 48-ми час	4-ти час 24-ти час	4-ти час 48-ми час	24-ти час 48-ми час
НГАЛ +	Креатинин	0,096	0,292	0,889	0,079	0,233	0,729
	ГФ	0,074	0,334	0,701	0,084	0,158	0,826
	НГАЛ	0,002	0,001	NA	0,394	NA	NA
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	Креатинин	0,126	0,051	0,649	0,486	0,258	0,378
	ГФ	0,084	0,036	0,609	0,472	0,272	0,331
	НГАЛ	0,469	0,920	NA	0,422	NA	NA
Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	Креатинин	0,139	0,167	0,041	0,551	0,388	0,583
	ГФ	0,233	0,272	0,071	0,975	0,530	0,638
	НГАЛ	0,900	0,463	NA	0,975	NA	NA
Изх ↑НГАЛ с динамика на БМ	Креатинин	0,028	0,173	0,068	0,463	0,465	0,715
	ГФ	0,028	0,173	0,068	0,463	0,465	0,715
	НГАЛ	0,018	0,028	NA	0,028	NA	NA

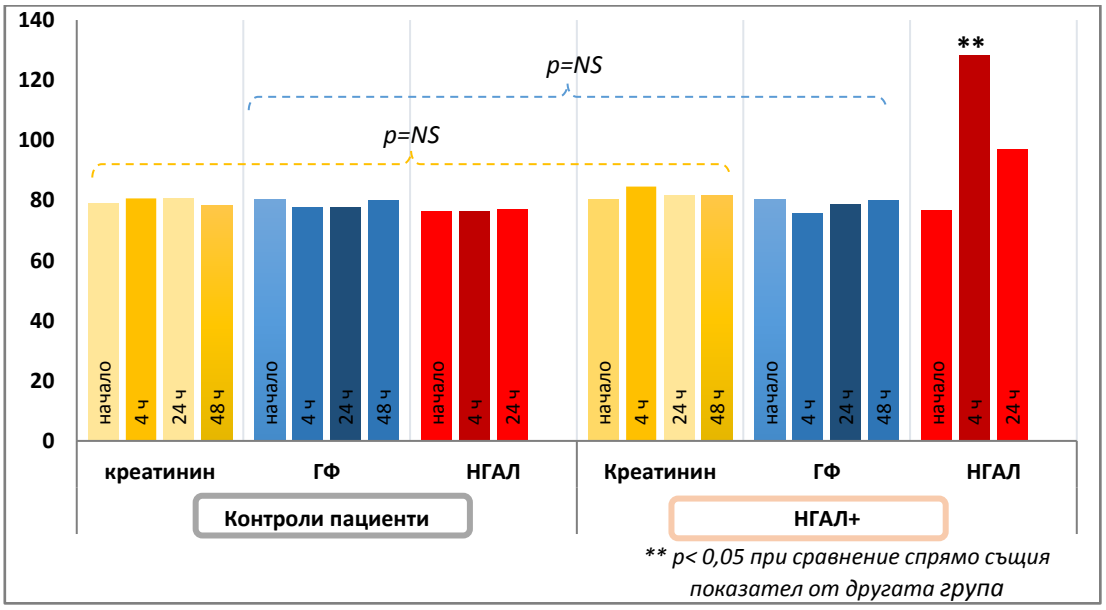
Таблица №11. Сравнителен анализ на измененията в показателите по часови интервали при групи пациенти със запазена бъбречна функция

NA (not available) – няма изследване на лабораторни проби за посочения часови интервал според дизайна на проучването

3.2. Междугрупови сравнения на показателите

Сравнителния анализ между контролната група и останалите групи с изходна ГФ > 60 ml/min/1,73m^2 ясно показва, че резултатите се различават, когато за оценка на бъбречната функция се прилага функционалния биомаркер серумен креатинин и когато за оценката се използва структурния биомаркер – НГАЛ.

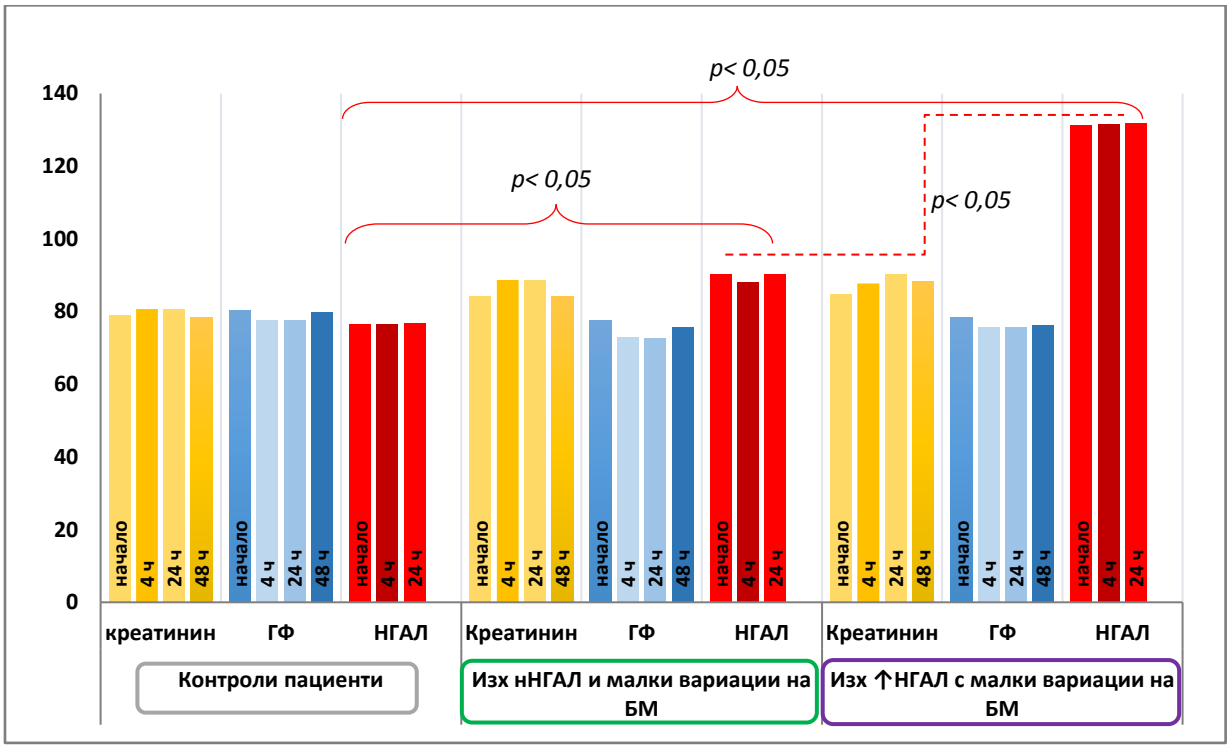
Съпоставянето между **контролната група** и **„НГАЛ+“** демонстрира липса на сигнификантно отличаване между всички отчетени стойности на серумен креатинин и ГФ. Повишението на НГАЛ, което се наблюдава при втората група, води до регистриране на сигнификантно по-високи нива на 4-ти час спрямо контролите (p=0,024) (фигура №25).



Фигура №25. Сравнителен анализ на показателите между контролна група пациенти и група „НГАЛ+“

Креатинин/ГФ – начало (p=NS); 4-ти час (p=NS); 24-ти час (p=NS); 48-ми час (p=NS); НГАЛ – начало (p=0,899); 4-ти час (p=0,024); 24-ти час (p=0,086)

Сравнението между изходните нива и регистрираните след контрастно приложение, на серумен креатинин/ГФ при **контролната група** пациенти, група **„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“** и **група „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“**, показва липса на сигнификантно отличаване в съответните стойности във всеки часови интервал. Нивата на плазмен НГАЛ (изходни, на 4-ти и 24-ти час), обаче са сигнификантно по-високи спрямо контролната група (p < 0,05). Допълнителното съпоставяне на последните две групи демонстрира същата тенденция – несигнификантна разлика в стойностите на креатинин/ГФ, но статистически сигнификантно по-високи нива на плазмен НГАЛ във всички часови интервали, при пациентите с „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ (p < 0,05) (фигура №26).



Фигура №26. Сравнителен анализ на показателите между контролната група пациенти с група „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ и група „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“

За всички междугрупови сравнения: Креатинин/ГФ – начало (p=NS); 4-ти час (p=NS); 24-ти час (p=NS); 48-ми час (p=NS); За всички междугрупови сравнения: НГАЛ – начало (p<0,05); 4-ти час (p<0,05); 24-ти час (p<0,05)

Сравнението на последната подгрупа **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“** спрямо **контролната група** показва статистически сигнификантна разлика за всички измервания на серумен креатинин/ГФ в съответните часови интервали. Съпоставянето на съответните измервания за НГАЛ в двете групи демонстрира следните разлики - изходно ниво (p<0,001), на 4-ти час (p=0,015) и на 24-ти час (p=0,351).

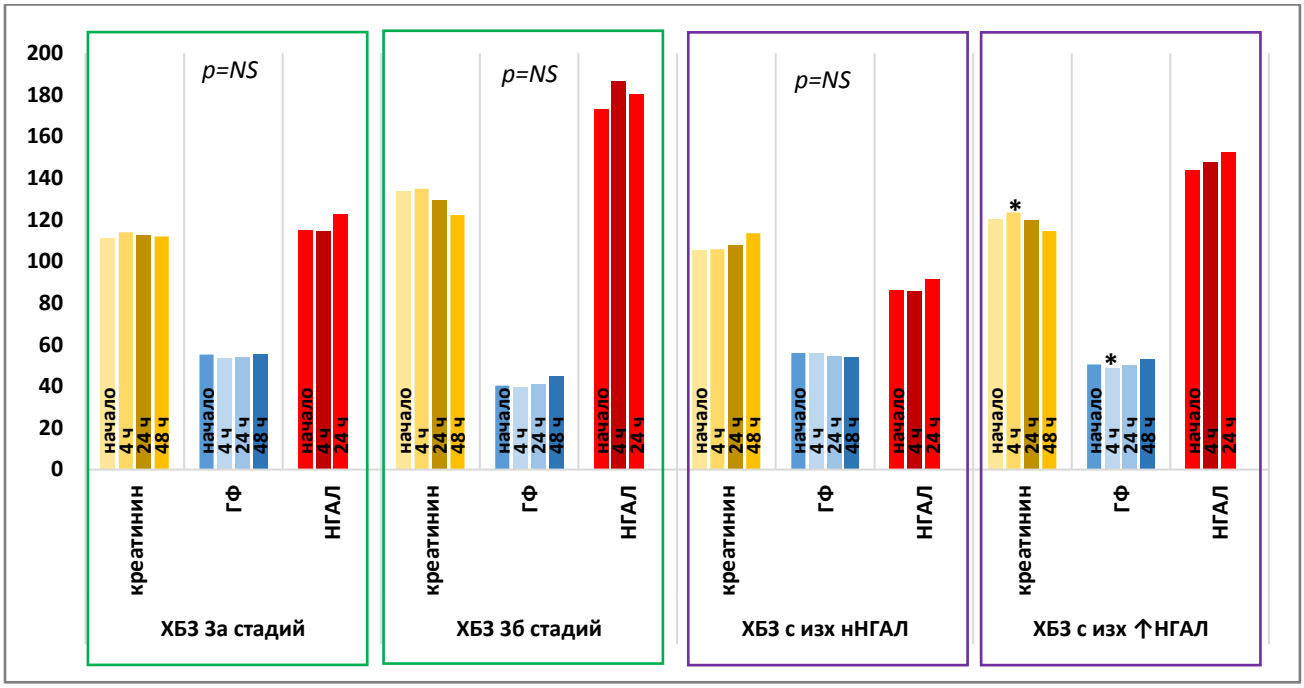
4. Групи пациенти с хронично бъбречно заболяване

4.1. *Вътрегрупова динамика на показателите*

Динамиката на показателите при групата „КИН с ХБЗ“ беше представена в съответния раздел за пациенти с КИН. Изменението на креатинин, ГФ и НГАЛ сред останалите пациенти с ХБЗ, които нямат контраст-индуцирано увреждане, следва да бъде представено тук (фигури №27, таблица №12).

Класифицирането им спрямо стадия на ХБЗ в съответните подгрупи (**„ХБЗ 3а стадий“** и **„ХБЗ 3б стадий“**) показва различни изходни нива за съответните показатели, но проследяването им в динамика не демонстрира съществена разлика.

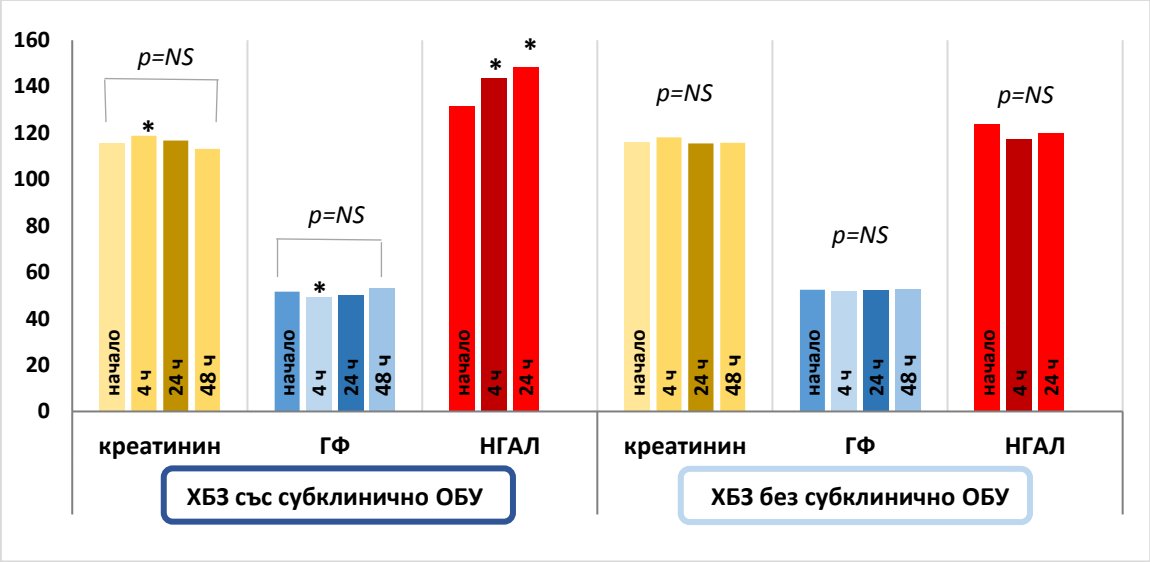
Разделянето на същата кохорта, но спрямо изходните нива на НГАЛ (**„ХБЗ с изх нНГАЛ“** и **„ХБЗ с изх ↑НГАЛ“**), демонстрира, че в първата подгрупа трите изследвани показателя не търпят съществено изменение преди и след контрастното изследване. При подгрупата „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“ серумния креатинин и ГФ показват преходна промяна към 4-ти час, но в края на изследвания период нивата им не се различават сигнификантно спрямо изходните. Стойностите на НГАЛ изходно надвишават референтните граници, но в динамика не търпят съществена промяна (фигура №27).



Фигура №27. Вътрегрупова динамика на серумен креатинин, ГФ и НГАЛ при пациенти с ХБЗ, при които не настъпва КИН, разделени на подгрупи спрямо различни критерии
** p < 0,05 спрямо изходните стойности на съответния показател в отделната група (отразява вътрегруповата динамика)*

Последното класифициране на лицата с ХБЗ, но без развитие на КИН в двете подгрупи **„ХБЗ със субклинично ОБУ“** и **„ХБЗ без субклинично ОБУ“** успява да открои пациентите със съществена динамика на показателите. Резултатите сочат, че при пациентите с **„ХБЗ и субклинично ОБУ“** стойностите на серумния креатинин и ГФ, отчетени изходно и в края на наблюдавания период не се различават съществено, за разлика от плазмения НГАЛ, където има трайна тенденция за повишение на нивата му. Статистическия анализ показва, че вариациите в нивата на креатинин и ГФ може да се натрупат в отделни часови интервали, което да доведе до отчитане на сигнификантна разлика, без обаче това да повлиява общата тенденция (фигура №28 и таблица №12).

За разлика от тази група, при нейната противоположност (**„ХБЗ без субклинично ОБУ“**) не се регистрира значително отклонение на стойностите след контрастното изследване спрямо изходните нива при трите показателя.



Фигура №28. Динамика на серумен креатинин, ГФ и НГАЛ при групи „ХБЗ със субклинично ОБУ“ и „ХБЗ без субклинично ОБУ“
** p < 0,05 спрямо изходните стойности на съответния показател в отделната група (отразява вътрегруповата динамика)*

Група	Вътрегрупови сравнения на показателите (стойности на p)	начало 4-ти час	начало 24-ти час	начало 48-ми час	4-ти час 24-ти час	4-ти час 48-ми час	24-ти час 48-ми час
• **ХБЗ 3а стадий**	Креатинин	0,089	0,217	0,709	0,688	0,277	0,456
	ГФ	0,082	0,186	0,823	0,814	0,344	0,573
	НГАЛ	0,701	0,057	NA	0,280	NA	NA
• **ХБЗ 3б стадий**	Креатинин	0,213	0,726	0,345	0,499	0,116	0,225
	ГФ	0,214	0,674	0,225	0,398	0,075	0,138
	НГАЛ	0,260	0,575	NA	0,263	NA	NA
❖ **ХБЗ с изх нНГАЛ**	Креатинин	0,906	0,306	0,500	0,449	0,068	0,500
	ГФ	0,814	0,224	0,345	0,374	0,068	0,500
	НГАЛ	0,583	0,139	NA	0,230	NA	NA
❖ **ХБЗ с изх ↑НГАЛ**	Креатинин	0,020	0,782	0,239	0,207	0,006	0,095
	ГФ	0,016	0,631	0,263	0,280	0,006	0,136
	НГАЛ	0,537	0,151	NA	0,548	NA	NA
➢ **ХБЗ със субклинично ОБУ**	Креатинин	0,044	0,525	0,234	0,532	0,013	0,069
	ГФ	0,046	0,433	0,249	0,687	0,021	0,100
	НГАЛ	0,040	0,015	NA	0,629	NA	NA
➢ **ХБЗ без субклинично ОБУ**	Креатинин	0,322	0,493	0,844	0,888	0,754	0,722
	ГФ	0,338	0,520	0,875	0,968	0,875	0,790
	НГАЛ	0,380	0,384	NA	0,178	NA	NA

Таблица №12. Сравнителен анализ на измененията в показателите по часови интервали при групи пациенти с хронично бъбречно заболяване.
NA (not available) – няма изследване на лабораторни проби за посочения часови интервал според дизайна на проучването

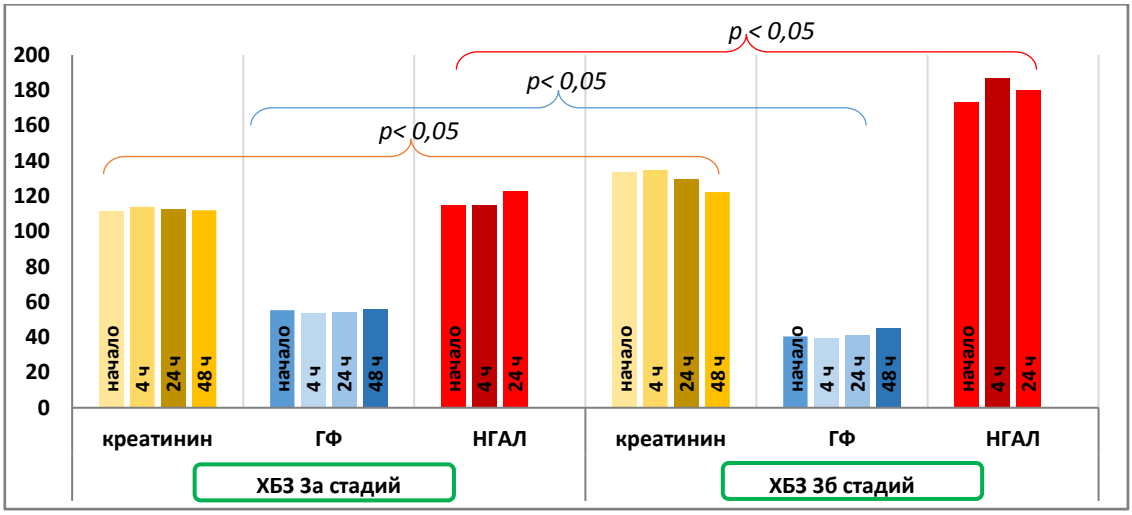
4.2. *Междугрупови сравнения на показателите*

Сравнението между **<u>всички подгрупи с ХБЗ</u>** спрямо **<u>контролната група</u>** пациенти по отношение на изследваните показатели е представено на таблица №13. Статистическия анализ ясно показва, че при всички групи с ХБЗ, както изходните стойности на серумен креатинин, така и проследените след контрастното изследване, са сигнификантно по-високи от тези при контролите. Аналогична е тенденцията при ГФ, където се установяват сигнификантно по-ниски нива. Относно плазмения НГАЛ единствено при групата **„ХБЗ с изх нНГАЛ“** нивата му се доближават до тези при контролните пациенти и няма сигнификантна разлика. При всички останали пациенти с ХБЗ стойностите на НГАЛ са сигнификантно по-високи, както изходно, така и след приложението на контрастното вещество.

Сравнение на показателите	Контролна група пациенти						
	ХБЗ без КИН	ХБЗ с изх нНГАЛ	ХБЗ с изх ↑ НГАЛ	ХБЗ 3а стадий	ХБЗ 3б стадий	ХБЗ със субклинично ОБУ	ХБЗ без субклинично ОБУ
	p	p	p	p	p	p	p
Изходен креатинин (μmol/l)	<0,001	0,002	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Креатинин на 4-ти час (μmol/l)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Креатинин на 24-ти час (μmol/l)	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Креатинин на 48-ми час (μmol/l)	<0,001	0,010	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Изходна ГФ (ml/min)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ГФ на 4-ти час (ml/min)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ГФ на 24-ти час (ml/min)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
ГФ на 48-ми час (ml/min)	<0,001	0,005	<0,001	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
Изходен NGAL (ng/ml)	<0,001	0,227	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
NGAL на 4-ти час (ng/ml)	<0,001	0,117	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
NGAL на 24-ти час (ng/ml)	<0,001	0,018	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Таблица №13. Статистически анализ на сравнението на изследваните показатели при контролната група пациенти спрямо подгрупите с ХБЗ

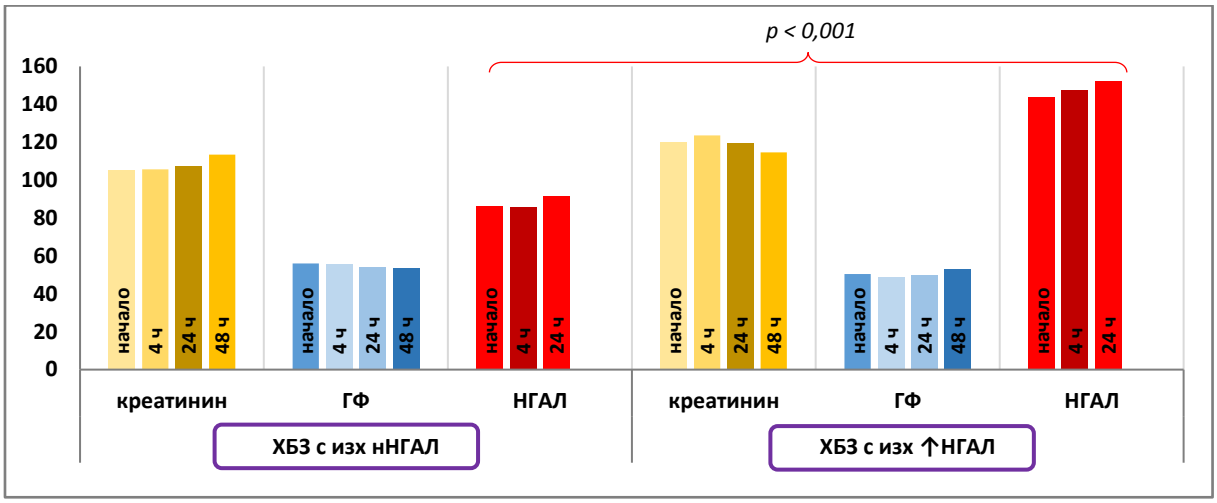
Съпоставянето на групата **<u>„ХБЗ 3а стадий“</u>** спрямо **<u>„ХБЗ 3б стадий“</u>** ясно демонстрира, че всички стойности на изследваните показатели са сигнификантно по-високи при лицата с напреднал стадий на бъбречно увреждане (фигура №29).



Фигура №29. Сравнителен анализ на показателите между групите „ХБЗ 3а стадий“ и „ХБЗ 3б стадий“

Креатинин/ГФ – начало (p<0,05); 4-ти час (p<0,05); 24-ти час (p<0,05); 48-ми час (p<0,05); НГАЛ – начало (p<0,05); 4-ти час (p<0,05); 24-ти час (p<0,05)

Внимание заслужава и сравнението на двете подгрупи **„ХБЗ с изх нНГАЛ“** и „**ХБЗ с изх ↑НГАЛ“**, което ясно демонстрира, че изходните и крайните нива на серумен креатинин/ГФ не се различават съществено. Получените стойности за НГАЛ, обаче са сигнификантно по-високи при втората група, както изходно, така и след контрастното изследване (фигура №30).



Фигура №30. Сравнителен анализ на показателите между групите „ХБЗ с изх нНГАЛ“ и „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“

Креатинин/ГФ – начало (p=0,056); 4-ти час (p=0,012); 24-ти час (p=0,057); 48-ми час (p=1,00); НГАЛ – начало (p<0,001); 4-ти час (p<0,001); 24-ти час (p<0,001)

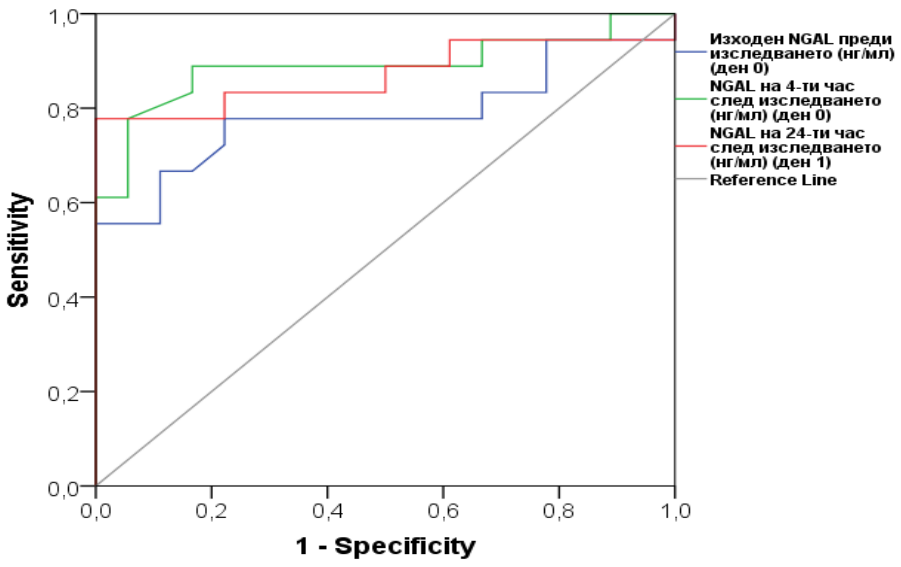
IV. ROC анализ

ROC анализът, проведен при всички пациенти от **„обобщена група КИН“** показва, изключително добра диагностична способност на плазмения НГАЛ за ранно улавяне на КИН – на 4-ти час изчислената площ под кривата (AUC) е 0,889 (p<0,001), със сензитивност 88,89% и специфичност 83,33% при гранична стойност 90,20 ng/ml. Към 24-ти час след контрастното изследване се запазва тази тенденцията за диагностична сила на НГАЛ при сензитивност 83,33% и специфичност 77,78% (AUC 0,870; p<0,001) (таблица №14). ROC кривите съответстващи на тези показатели са дадени на фигура №31.

Група	Показател	AUC	SE	p	95%CI		Cut-off	Сензити-вност (%)	Специфи-чност (%)
Обобщена група КИН	**Изходен NGAL (ng/ml)**	**0,785**	0,083	**0,003**	0,623	0,948	**86,35**	**77,78**	**77,78**
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**0,889**	0,061	**<0,001**	0,768	1,000	**90,20**	**88,89**	**83,33**
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	**0,870**	0,068	**<0,001**	0,738	1,000	**88,30**	**83,33**	**77,78**

Таблица №14. ROC анализ на диагностичната способност на плазмен НГАЛ при всички пациенти, които развиват КИН

AUC – площ под кривата; SE – standard error; CI (confidence interval) – интервал на доверителност; cut-off стойност – гранична стойност



Фигура №31. ROC криви за диагностичната способност на плазмен НГАЛ при всички пациенти с КИН (обединена група от „КИН без ХБЗ“ и „КИН с ХБЗ“)

ROC анализа проведен за ролята на НГАЛ при отделните подгрупи от пациенти с изходно запазена бъбречна функция, като цяло потвърждава тенденцията, описана при „обобщената група КИН“.

При групата **„КИН без ХБЗ“**, НГАЛ показва отлична диагностична способност на 4-ти час с AUC 0,847 (95% CI:0,677-1,000; p=0,001) и референтна стойност 90,20 ng/ml при сензитивност и специфичност от 83,33% всяка. Сигнификантна остава диагностичната сила и при отчитане на измененията на 24-ти час след ангиографското изследване - AUC 0,806 (95% CI:0,617-0,994; p=0,005), сензитивност 75%, специфичност 77,78% и референтна стойност 88,30 ng/ml (таблица №15 и фигура №32).

При групата **„НГАЛ+“**, способността на новия биомаркер да улови рано настъпващите промени в бъбречната функция, се потвърждава от ROC анализа – на 4-ти час след контрастното изследване AUC е 0,731 (p=0,024) при сензитивност 73,33% и специфичност 72,22% (изчислената гранична стойност за НГАЛ е 85,65 ng/ml) (таблица №15 и фигура №33).

При разглеждането на останалите групи пациенти, които имат изходно запазена бъбречна функция се установява, че диагностичната сила на НГАЛ да разграничи клинични състояния, които не биха се отличили спрямо серумния креатинин, остава сигнификантна (таблица №15).

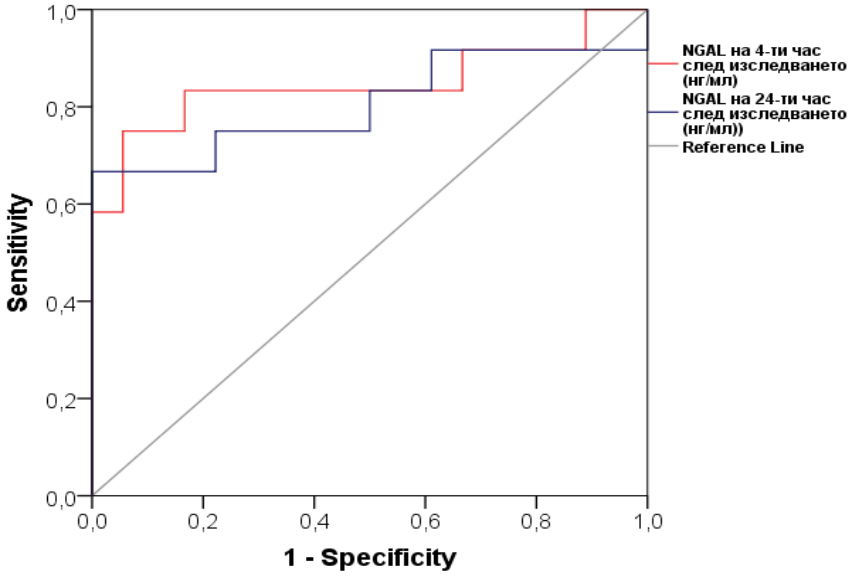
Настъпването на контраст-индуцирана нефропатия в условията на ХБЗ (група **„КИН с ХБЗ“**) също може добре да бъде диагностицирано с новия биомаркер, който показва по-високи гранични стойности като 92,85 ng/ml (*изходно)*, 94,60 ng/ml (*на 4-ти час*) и 105,60 ng/ml (*на 24-ти час*), при сензитивност и специфичност достигащи до 100% и изключително надеждни стойности за площ над кривата (AUC ≥ 0,963; p<0,05) (таблица №16 и фигура №34).

При всички останали подгрупи с ХБЗ, но без развитие на КИН и класифицирани по различни критерии, се запазва тенденцията за добра диагностична способност на изследвания нов биомаркер (таблица №37). Особен интерес представлява ROC анализа на подгрупата с **„ХБЗ със субклинично ОБУ“**, където се демонстрира AUC 0,901 (95% CI: 0,791 – 1,000; p<0,001) на 4-ти час и AUC 0,907 (95% CI: 0,811 – 1,000; p<0,001) на 24-ти час, за диагностичната сила на биомаркера при съответните гранични стойности от 97,35 ng/ml и 94,70 ng/ml. ROC кривите, които изобразяват този резултат са представени на фигура №35.

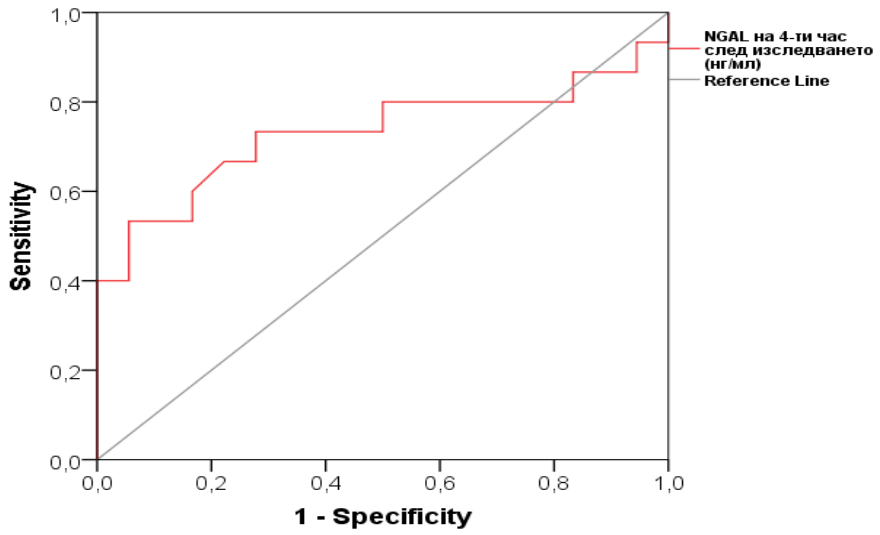
Група	Показател	AUC	SE	p	95%CI		Cut-off	Сензитивност (%)	Специфичност (%)
КИН без ХБЗ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,697	0,113	0,072	0,476	0,918	82,40	66,67	66,67
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**0,847**	**0,087**	**0,001**	0,677	1,000	**90,20**	**83,33**	**83,33**
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	**0,806**	**0,096**	**0,005**	0,617	0,994	**88,30**	**75,00**	**77,78**
НГАЛ +	Изходен NGAL (ng/ml)	0,513	0,110	0,899	0,297	0,729	79,60	60,00	44,40
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**0,731**	**0,098**	**0,024**	0,539	0,924	**85,65**	**73,33**	**72,22**
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,676	0,109	0,086	0,461	0,890	87,95	60,00	72,22
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,760	0,078	0,006	0,607	0,912	82,40	75,00	66,67
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,728	0,083	0,017	0,565	0,891	84,20	65,00	66,67
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,783	0,075	0,003	0,637	0,930	84,00	70,00	66,67
Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,988	0,013	<0,001	0,962	1,000	95,45	92,86	94,44
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,984	0,016	<0,001	0,952	1,000	94,70	92,86	94,44
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,960	0,032	<0,001	0,898	1,000	95,70	78,60	94,44
Изх ↑НГАЛ и динамика на БМ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,949	0,053	0,001	0,846	1,000	100,10	83,33	100,00
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,787	0,115	0,039	0,562	1,000	89,70	66,67	83,33
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,630	0,153	0,351	0,330	0,929	92,20	50,00	94,44

Таблица №15. ROC анализ на диагностичната способност на плазмен НГАЛ при пациенти със запазена бъбречна функция

AUC – площ под кривата; SE – standard error; CI (confidence interval) – интервал на доверителност; cut-off стойност – гранична стойност



Фигура №32. ROC криви за диагностичната способност на плазмения НГАЛ измерен на 4-ти и 24-ти час след ангиографското изследване при групата „КИН без ХБЗ“

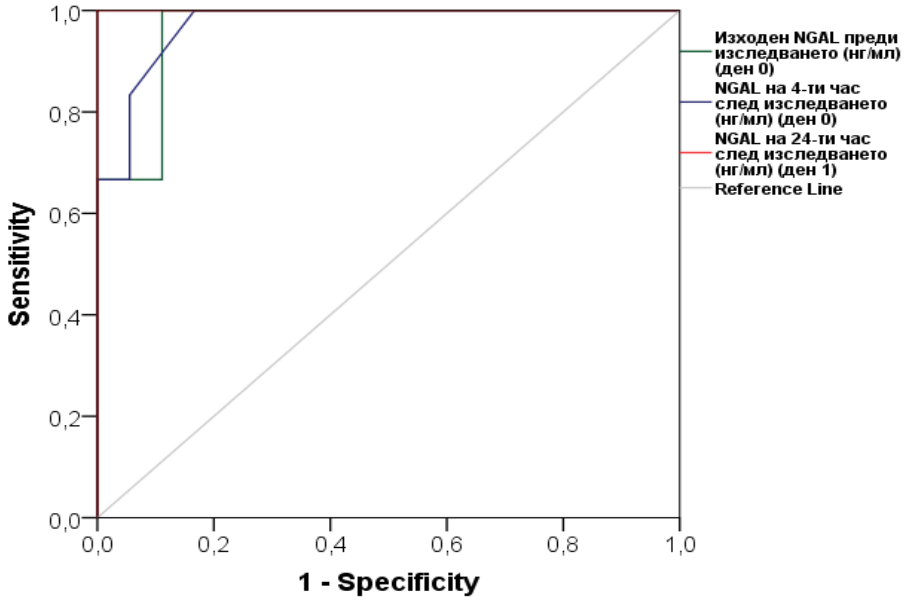


Фигура №33. ROC-крива за диагностичната способност на плазмения НГАЛ измерен на 4-ти час след ангиографското изследване при групата „НГАЛ+“

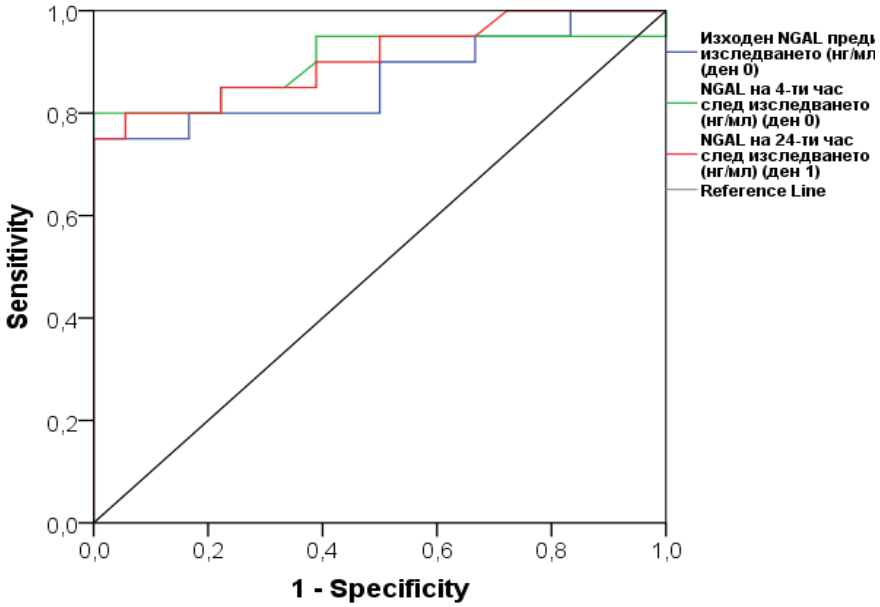
Група	Показател	AUC	SE	p	95%CI		Cut-off	Сензитив-ност (%)	Специфи-чност (%)
КИН с ХБЗ	Изходен NGAL (ng/ml)	**0,963**	**0,036**	**0,001**	0,893	1,000	**92,85**	**100,00**	**88,89**
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**0,972**	**0,029**	**0,001**	0,915	1,000	**94,60**	**83,33**	**94,44**
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	**1,000**	**0,000**	**0,000**	1,000	1,000	**105,60**	**100,00**	**100,00**
ХБЗ 3а стадий	Изходен NGAL (ng/ml)	**0,862**	0,051	<0,001	0,761	0,962	90,95	78,13	83,33
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**0,875**	0,049	<0,001	0,779	0,971	93,25	78,13	94,44
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	**0,885**	0,046	<0,001	0,795	0,974	93,15	78,13	94,44
ХБЗ 3б стадий	Изходен NGAL (ng/ml)	**1,000**	0,000	<0,001	1,000	1,000	96,55	100,00	94,44
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	**1,000**	0,000	<0,001	1,000	1,000	107,45	100,00	100,00
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	**1,000**	0,000	<0,001	1,000	1,000	105,95	100,00	100,00
ХБЗ с изх нНГАЛ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,632	0,107	0,228	0,422	0,842	80,05	66,70	50,00
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,671	0,105	0,117	0,465	0,878	80,40	66,70	55,60
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,759	0,089	0,018	0,585	0,934	80,75	75,00	61,11
ХБЗ с изх ↑НГАЛ	Изходен NGAL (ng/ml)	1,000	0,000	<0,001	1,000	1,000	96,55	100,00	94,44
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,998	0,003	<0,001	0,991	1,000	96,55	100,00	94,44
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,971	0,025	<0,001	0,921	1,000	99,50	92,90	94,44
ХБЗ със субклинично ОБУ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,867	0,062	<0,001	0,745	0,988	90,95	80,00	83,33
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,901	0,056	<0,001	0,791	1,000	97,35	80,00	94,44
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,907	0,049	<0,001	0,811	1,000	94,70	80,00	94,44
ХБЗ без субклинично ОБУ	Изходен NGAL (ng/ml)	0,913	0,051	<0,001	0,813	1,000	91,20	85,00	83,33
	NGAL на 4-ти час (ng/ml)	0,899	0,053	<0,001	0,795	1,000	93,25	85,00	94,44
	NGAL на 24-ти час (ng/ml)	0,908	0,049	<0,001	0,812	1,000	93,15	85,00	94,44

Таблица №16. ROC анализ на диагностичната способност на плазмен НГАЛ при пациенти с умерена форма на ХБЗ

AUC – площ под кривата; SE – standard error; CI (confidence interval) – интервал на доверителност; cut-off стойност – гранична стойност



Фигура №34. ROC криви за диагностичната способност на плазмен НГАЛ при група „КИН с ХБЗ“



Фигура №35. ROC криви за диагностичната способност на НГАЛ при група „ХБЗ със субклинично ОБУ“

V. Относителни промени в серумен креатинин, ГФ и НГАЛ по групи

1. Описание на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ и сравнителен анализ вътрегрупово

Клиничното тълкуване на динамиката в показателите серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ се осъществи, освен чрез анализ върху абсолютни стойности на всеки показател, също и чрез анализ на настъпилите относителни промени в съответните часови интервали (*начало→4-ти час, 4-ти→24-ти час и начало→24-ти час).* Стойностите на относителните промени са представени като средна величина медиана (Me) и квартилно отклонение (QD). Статистически анализ се осъществи както вътрегрупово, сравнявайки делтата (Δ) на трите основни показателя (*Δкреат/ΔГФ, Δкреат/ΔНГАЛ, ΔГФ/ΔНГАЛ)*, така и междугрупово за всеки отделен показател, сравнявайки го с Δ (%) при контролната група пациенти.

Конкретните резултати показват, че при **контролната група** пациенти относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ са в рамките на 3-4% и не се различават статистически сигнификантно по между си при вътрегруповите двойкови сравнения.

При пациентите от **„обобщена група КИН“** се установява, че серумния креатинин нараства средно с 27,48% (QD 10,62%), а ГФ се понижава с 24,42% (QD 7,18%) в рамките на първите 24 часа. Плазменият НГАЛ при тези пациенти се повишава със средно 8,76% (QD 16,09%) в интервала *начало→ 4-ти час* и с 22,73% (QD 13,53%) за целия интервал *начало→24-ти час*. При групата **„КИН без ХБЗ“** измененията в креатинин/ГФ са аналогични, докато при плазмения НГАЛ най-демонстративните промени се наблюдават в първите 4 часа след контрастното изследване (средно ↑ 14,11%). При пациентите от групата **„КИН с ХБЗ“** най-значимите относителни изменения на трите показателя се установяват на 24-ти час (креатинин – 28,03%, ГФ – 24,67% и плазмен НГАЛ – 28,81%). Вътрегруповият сравнителния анализ, осъществен при ***„обобщена група КИН“, „КИН без ХБЗ“ и „КИН с ХБЗ“*** показва, че няма сигнификантно различие в степента на относителното изменение при стандартните биомаркери (креатинин/ГФ), спрямо съответното повишение на новия биомаркер (НГАЛ) за съответните часови интервали (*p=NS за всички подвойкови сравнения Δкреат/ΔГФ, Δкреат/ΔНГАЛ, ΔГФ/ΔНГАЛ*).

При групата **„НГАЛ+“** си установява, че най-значително е относителното изменение при плазмения НГАЛ в интервала *начало→4-ти час* (средно ↑ 35,25%) и то значително надвишава малките колебания при другите два показателя (*Δкреат/ΔНГАЛ - p=0,004* и *ΔГФ/ΔНГАЛ - p=0,005).* Тази тенденция се установява и за целия интервал *начало→24-ти час (Δкреат/ΔНГАЛ - p=0,001* и *ΔГФ/ΔНГАЛ - p=0,001).*

При групите **„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“,** относителните промени са в диапазона на 3-8,5% средно, без да се достига сигнификантна разлика в Δ сравнението между отделните показатели. При последната група **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“** се установява разнопосочна промяна на биомаркерите – докато серумния креатинин се повишава със средно 11,08 %, то плазмения НГАЛ се понижава със средно 31,96% в интервала *начало→24-ти час* (*Δкреат/ΔНГАЛ - p=0,028*).

Разглеждането на отделните подгрупи пациенти с ХБЗ, при които не се установява КИН, показва, че относителните промени в креатинин и ГФ са в рамките на 2-7%, а в НГАЛ 4-10% и няма сигнификантна разлика между тях (*p=NS за всички подвойкови сравнения Δкреат/ΔГФ, Δкреат/ΔНГАЛ, ΔГФ/ΔНГАЛ*). Трябва да се отбележи, обаче че при подгрупата **„ХБЗ със субклинично ОБУ“** повишението на плазмения НГАЛ в интервала *начало→24-ти час* достига средно 12,16%, което надвишава значително

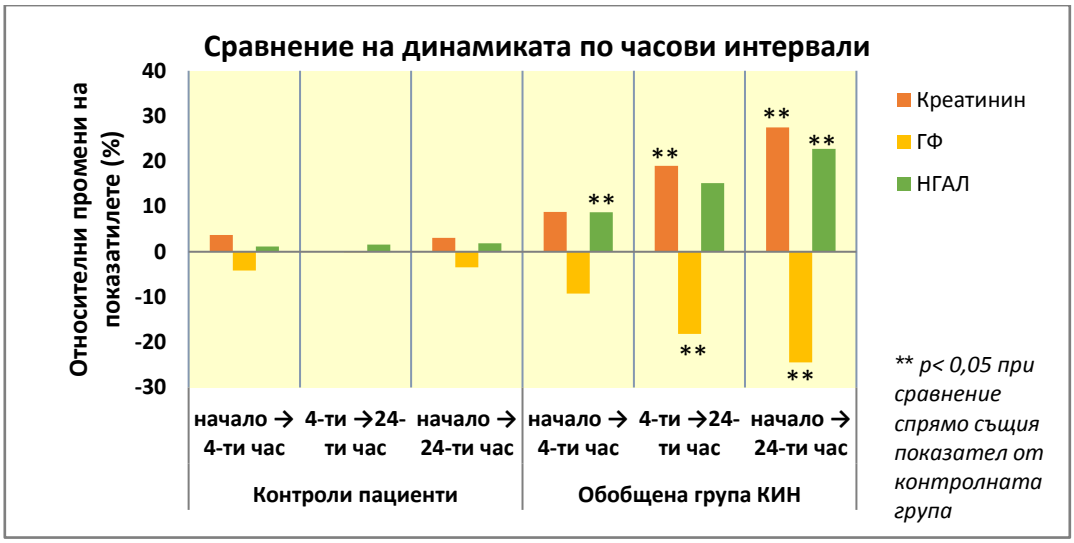
кореспондиращите относителни промени в креатинин (*Δкреат/ΔНГАЛ - p=0,011*) и ГФ (*ΔГФ/ΔНГАЛ - p=0,006*).

2. Сравнителен анализ на относителните промени в показателите спрямо контролната група

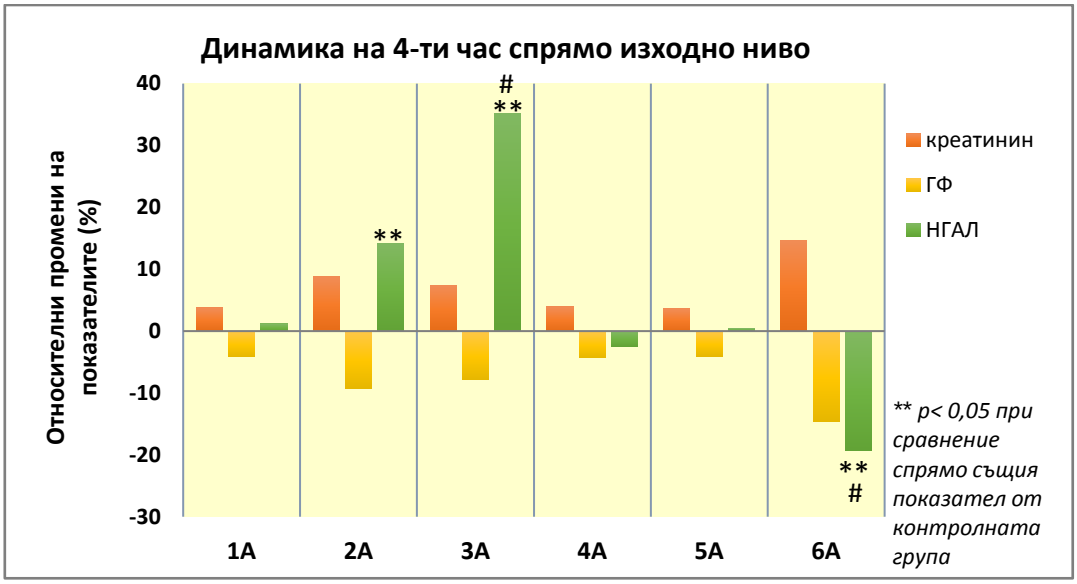
Съпоставянето на делта измененията (%) в показателите креатинин, ГФ и НГАЛ при всички групи с изходно запазена бъбречна функция, спрямо контролната група пациенти е представено на фигури №36,37,38.

При сравнението на **„обобщена група КИН“** с контролните лица се установява, че най-рано и сигнификантно настъпва относителното повишение при плазмения НГАЛ (*начало → 4-ти час*), което е последвано от относителната промяна в серумен креатинин и ГФ (*4-ти→24-ти час*). Общото отчитане на относителните промени в трите показателя (*начало→ 24-ти час*) показва, че те са сигнификантно по-високи сред пациентите, които развиват КИН спрямо контролните пациенти (фигура №36). Тази тенденция за регистриране на най-ранни делта изменения първо в НГАЛ, а впоследствие при креатинин/ГФ, са запазва в същите часови интервали и при подгрупата **„КИН без ХБЗ“** (фигури №37,38). При пациентите от група **„КИН с ХБЗ“** се установява, че първите сигнификантни Δ промени в трите показателя спрямо контролните пациенти, се регистрират в следващия часови диапазон (*4-ти→24-ти час*) и остават такива до 24-тия час (фигури №39,40).

При останалите групи със запазена бъбречна функция, сравнителния анализ показва, че само при **„НГАЛ+“** и **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“** се наблюдават значими промени, като те се отнасят единствено до относителните промени при новия биомаркер (фигури №37,38). Спрямо контролната група при група „НГАЛ+“ има значително делта повишение (*за интервали начало→4-ти час и начало→24-ти час, p<0,001*), а при група „изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“ измененията са в противоположна посока.



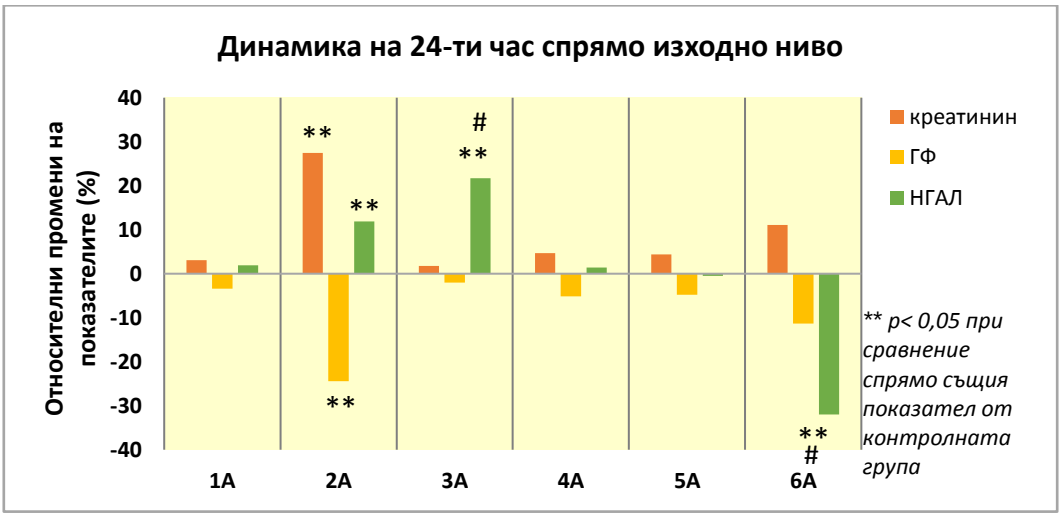
Фигура №36. Сравнение на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ при всички пациенти с КИН спрямо контролна група пациенти



Фигура №37. Представяне на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ, които настъпват до 4-ти час след контрастното изследване при групите със запазена бъбречна функция

 # p < 0,05 спрямо Δ на другите показатели в същата група

Означения: група 1А – контроли пациенти; група 2А – пациенти с „КИН без ХБЗ"; група 3А – пациенти включени в „НГАЛ+" група; група 4А – пациенти с „изходно нормален НГАЛ и малки вариации на биомаркерите"; група 5А – пациенти с „изходно висок НГАЛ с малки вариации на биомаркерите"; група 6А – пациенти с „изходно висок НГАЛ с динамика на биомаркерите"



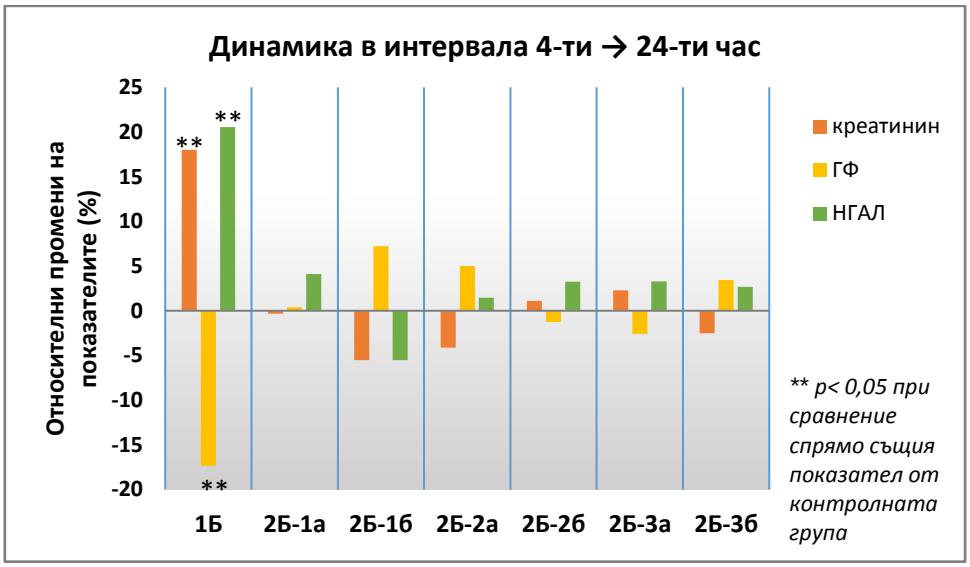
Фигура №38. Представяне на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ, които настъпват до 24-ти час след контрастното изследване при групите със запазена бъбречна функция

 # p < 0,05 спрямо Δ на другите показатели в същата група

Означения: група 1А – контроли пациенти; група 2А – пациенти с „КИН без ХБЗ"; група 3А – пациенти включени в „НГАЛ+" група; група 4А – пациенти с „изходно нормален НГАЛ и малки вариации на биомаркерите"; група 5А – пациенти с „изходно висок НГАЛ с малки вариации на биомаркерите"; група 6А – пациенти с „изходно висок НГАЛ с динамика на биомаркерите"

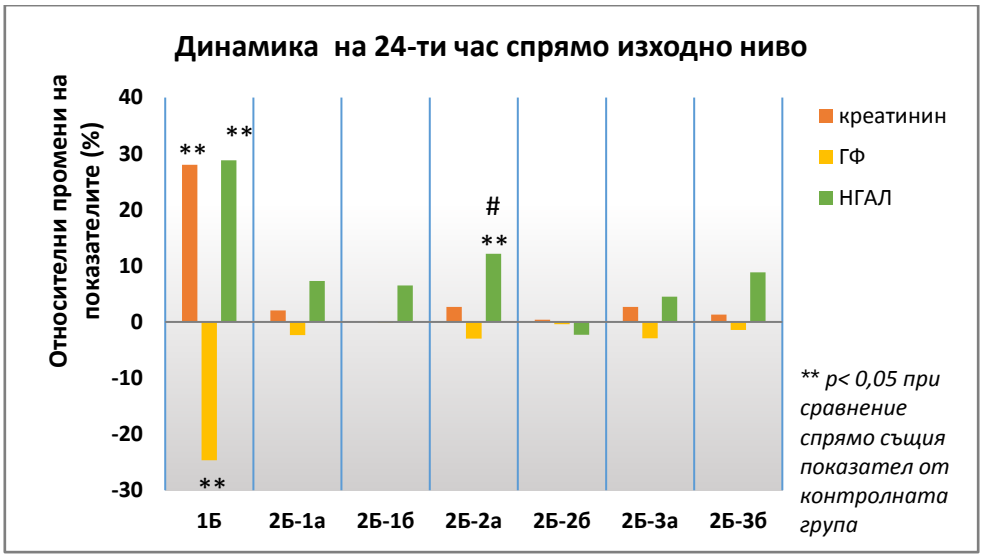
Резултатите за отделните подгрупите с ХБЗ показват, че с изключение на относителните изменения при „КИН с ХБЗ", които вече бяха описани, единствената друга група, където

се регистрира сигнификантна динамика е **„ХБЗ със субклинично ОБУ“**. При тази подгрупа се установява, че относителното повишение (%) на НГАЛ в рамките на първите 24 часа след контрастното изследване, значително надвишава това при контролната група (p=0,009), както и относителните изменения при другите два показателя (креатинин/ГФ) вътрегрупово (фигура №40).



Фигура №39. Представяне на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ, които настъпват между 4-ти и 24-ти час след контрастното изследване при групите с хронично бъбречно заболяване

Означения: група 1Б – пациенти с „КИН с ХБЗ“; група 2Б-1а – пациенти с ХБЗ 3а стадий; група 2Б-1б – пациенти с ХБЗ 3б стадий; група 2Б-2а – пациенти с „ХБЗ със субклинично ОБУ“; група 2Б-2б – пациенти с „ХБЗ без субклинично ОБУ“; група 2Б-3а – пациенти с „ХБЗ с изходно нормален НГАЛ“; група 2Б-3б – пациенти с „ХБЗ с изходно висок НГАЛ“.



Фигура №40. Представяне на относителните промени в креатинин, ГФ и НГАЛ, които настъпват до 24-ти час след контрастното изследване при групите с хронично бъбречно заболяване

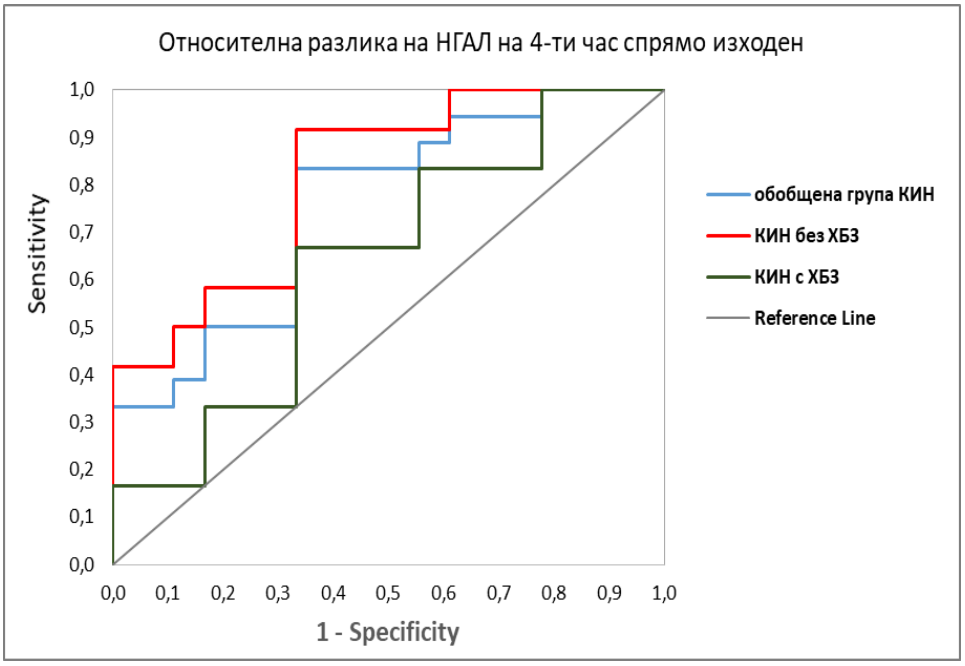
 # p < 0,05 спрямо Δ на другите показатели в същата група

Означения: група 1Б – пациенти с „КИН с ХБЗ“; група 2Б-1а – пациенти с ХБЗ 3а стадий; група 2Б-1б – пациенти с ХБЗ 3б стадий; група 2Б-2а – пациенти с „ХБЗ със субклинично ОБУ“; група 2Б-2б – пациенти с „ХБЗ без субклинично ОБУ“; група 2Б-3а – пациенти с „ХБЗ с изходно нормален НГАЛ“; група 2Б-3б – пациенти с „ХБЗ с изходно висок НГАЛ“.

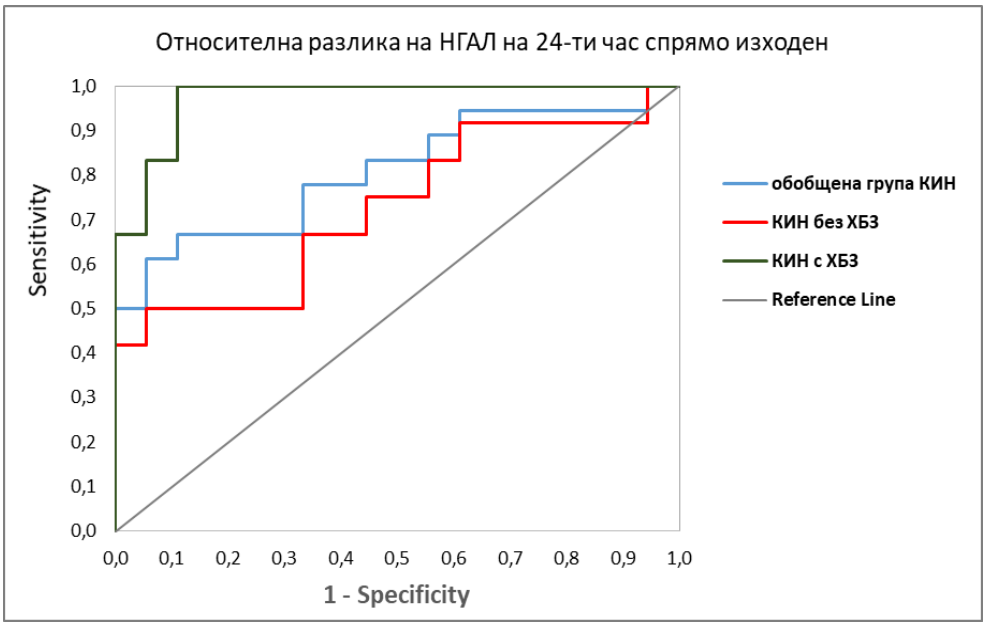
3. ROC анализ на относителните промени в плазмен НГАЛ по групи

ROC анализа, проведен върху относителните промени настъпващи в плазмения НГАЛ, потвърждава диагностичната сила на биомаркера, демонстрирана при абсолютни стойности, но съвпадение между двата вида анализи се постига само при част от групите.

Диагностичната способност за улавяне на контраст-индуцирано бъбречно увреждане се установява за делта (%) измененията, регистрирани още в интервала *начало→4-ти час* – при **„обобщена група КИН“** (AUC 0,756 [95% CI: 0,598– 0,914]; p=0,009) и при група **„КИН без ХБЗ“** (AUC 0,815 [95% CI: 0,662– 0,968]; p=0,004). За интервала *начало→24-ти час* стойностите на AUC остават изключително високи при тези групи (съответно 0,809 и 0,727). При групата **„КИН с ХБЗ“** относителното изменение на НГАЛ до 4-ти час не достига статистическа значимост, но такава се установява в другите два разглеждани времеви интервала – *4-ти→24-ти час* AUC 0,935 (95% CI: 0,822-1,000; p=0,002) и *начало→24-ти час* AUC 0,972 (95% CI: 0,915-1,000; p=0,001). Ранните относителни промени на биомаркера показват сензитивност 61,1%-75% и специфичност 66,7% при съответните групи. Референтна стойност от 14,30% повишение на НГАЛ в рамките на 24 часа след контрастно изследване, демонстрира сензитивност 66,67% и специфичност 88,89% сред пациентите от „обобщена група КИН“ (фигури № 41,42).



Фигура №41. Обобщено представяне на ROC кривите на относителните промени в НГАЛ, наблюдавани в интервала *начало→ 4-ти час* при пациенти с КИН и съответните подгрупи спрямо изходната бъбречна функция



Фигура №42. Обобщено представяне на ROC кривите на относителните промени в НГАЛ, наблюдавани в интервала *начало→24-ти час* при пациенти с КИН и съответните подгрупи спрямо изходната бъбречна функция

ROC анализа върху относителните промени в НГАЛ при останалите групи пациенти, демонстрира статистическа сигнификантност само при три от тях и утвърждава диагностичната сила на новия биомаркер да отграничи съответните клинични състояния.

При групата **„НГАЛ+“** относителната промяна в НГАЛ, настъпваща на 4-ти час показва AUC 0,870 (p<0,001) при референтна стойност 9,94% (сензитивност 86,67%, специфичност 83,33%), а общо за интервала *начало→24-ти час* стойностите са: AUC 0,893 (p<0,001), референтна граница 11,33% (сензитивност 80%, специфичност 77,78%).

При групата „**ХБЗ със субклинично ОБУ“**, относителното повишение на НГАЛ с 8,89% на 24-ти час спрямо изходното ниво показва сензитивност 75% и специфичност 72,22% при AUC (95% CI:0,581-0,913; p=0,009).

Регистрираното сигнификантно понижение на НГАЛ при пациентите от група **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“**, също се оценява като диагностично значимо с AUC ≥ 0,880 (p<0,001) за всички часови интервали.

Резултатите при всички останали групи пациенти, не демонстрират статистическа сигнификантност при ROC анализа на отчетените делта изменения в НГАЛ.

VI. Корелационен анализ

Осъществяването на корелационен анализ и изчисляване коефициента на Пирсън дава представа за взаимовръзките между серумен креатинин, ГФ и плазмен НГАЛ.

Резултатите показват, че изходните нива на НГАЛ предиктират сигнификантно последващата динамика в същия показател и демонстрират силна корелационна връзка при всички групи (p<0,05).

Изследването на взаимоотношението между серумен креатинин и съответното ниво на НГАЛ в същия часови интервал сочи, че няма значима корелация между двата показателя, която да достига статистическа сигнификантност (p = NS).

Данните, получени при изчисляването на корелационна връзка между ГФ и плазмен НГАЛ (*отчетени в едни и същи часови интервали*) са представени в таблица №17.

При група **„КИН без ХБЗ“** се установява, че всички измервания на НГАЛ (*изходно, 4-ти час, 24-ти час*) имат силна негативна корелация със съответните нива на ГФ (r= -0,733, r= -0,642, r= -0,598; p<0,05). При групите **„КИН с ХБЗ“ и „обобщена група КИН“** също се отчитат сигнификантни корелации между нивата на НГАЛ и ГФ в съответстващите часови интервали. Сигнификантна връзка между изследваните показатели се установява също при групата „ХБЗ със субклинично ОБУ“ и при част от измерванията в група „ХБЗ с изх↑НГАЛ“. При всички останали групи пациенти, резултати показват, че плазмения НГАЛ не корелира сигнификантно със съответните нива на ГФ.

Групи	**ГФ начало**	**ГФ 4-ти час**	**ГФ 24-ти час**
	НГАЛ начало	**НГАЛ 4-ти час**	**НГАЛ 24-ти час**
Контроли пациенти	-0,378	0,061	0,000
КИН без ХБЗ	**-,733****	**-,642***	**-,598***
НГАЛ+	-0,149	-0,097	-0,098
Изх нНГАЛ и малки вариации на БМ	0,215	0,261	0,140
Изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ	0,090	-0,041	-0,017
Изх ↑НГАЛ и динамика на БМ	0,346	0,416	-0,390
КИН с ХБЗ	**-,725***	**-,949****	**-,877***
ХБЗ 3а стадий	-0,285	-0,0309	-0,066
ХБЗ 3б стадий	-0,537	-0,629	-0,643
ХБЗ с изх нНГАЛ	-0,207	-0,014	0,308
ХБЗ с изх ↑НГАЛ	-,616**	-,504**	-0,213
ХБЗ със субклинично ОБУ	**-,754****	**-,762****	**-,510***
ХБЗ без субклинично ОБУ	-0,245	-0,302	-0,143
Обобщена група КИН	**-,682****	**-,668****	**-,643****

Таблица №17. Корелационен анализ (коефициент на Pearson) между съответните показатели при всички подгрупи пациенти
*(*p<0,05; **p<0,01)*

VII. Влияние на други клинични състояния върху нивата на плазмен НГАЛ

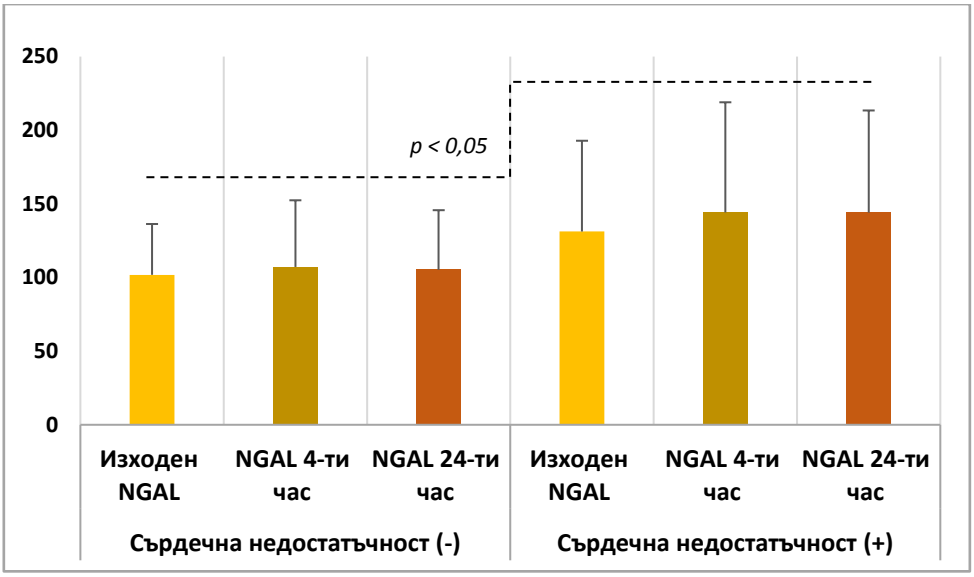
Литературните данни сочат, че продукцията на НГАЛ може да бъде повлияна от някои придружаващи заболявания. Определянето на плазмените нива на НГАЛ спрямо клиничното състояние, независимо от изходно ниво на бъбречна функция, позволява да се изследва това влияние. Отражението на исхемичната болест на сърцето и сърдечната недостатъчност, които са сред основните характеристики на изследваната кохорта, следва да бъдат представени.

1. Изява на исхемична коронарна болест и НГАЛ

При пациентите, включени в научното изследване, които имат САП (n=118/135) се установява, че изходния НГАЛ е средно 110,09±44,48 ng/ml, а след контрастното изследване – 117,69±55,70 ng/ml (4-ти час) и 115,79±50,45 ng/ml (24-ти час). В сравнение с лицата без стенокардна симптоматика, (n=17/135), където изходния НГАЛ е 104,87±48,43 ng/ml (p=0,655), на 4-ти час – 110,32±63,55 ng/ml (p=0,617) и на 24-ти час – 109,10±63,48 ng/ml (p=0,640), не се установява сигнификантна разлика. Определянето на нивата на НГАЛ спрямо изявата на коронарна болест, демонстрира аналогичен резултат с близки стойности при отделните типове коронарно ангажиране (p=NS).

2. Сърдечна недостатъчност и НГАЛ

Разпределението на цялата кохорта пациенти спрямо придружаващата СН, доведе до сформиране на две основни групи, при които се определиха съответните нива на плазмен НГАЛ. При лицата без СН изходния НГАЛ е 101,98±34,51 ng/ml, а при тези със СН съответно 131,23±61,62 ng/ml (p=0,001). Сигнификантната разлика между двете групи се запазва и при отчитането на нивата на биомаркера на 4-ти и 24-ти час след контрастното изследване (p=0,001) (фигура №43).



Фигура №43. Визуално представяне на нивата на плазмен НГАЛ при пациенти с придружаваща сърдечна недостатъчност - СН (+) спрямо пациенти без – СН (-)

VIII. Скали за рискова оценка на пациенти подложени на контрастно ангиографско изследване

1. Скала на Мехран за оценка на риска от контраст-индуцирана нефропатия

За определяне на риска от КИН се приложи най-масово прилаганата рискова скала на Мехран, при която спрямо рисковите фактори се получава сумарен брой точки. При валидирането на скалата в оригиналното проучване, се залагат следните граници - **нисък риск** при сбор точки до 5**; умерен риск** при сбор точки 6-10**; висок риск** при 11-16 точки и **много висок риск** при ≥16 точки. За изчисляването на резултатите при пациентите, обект на настоящото научно изследване, се приложи съответния онлайн калкулатор.

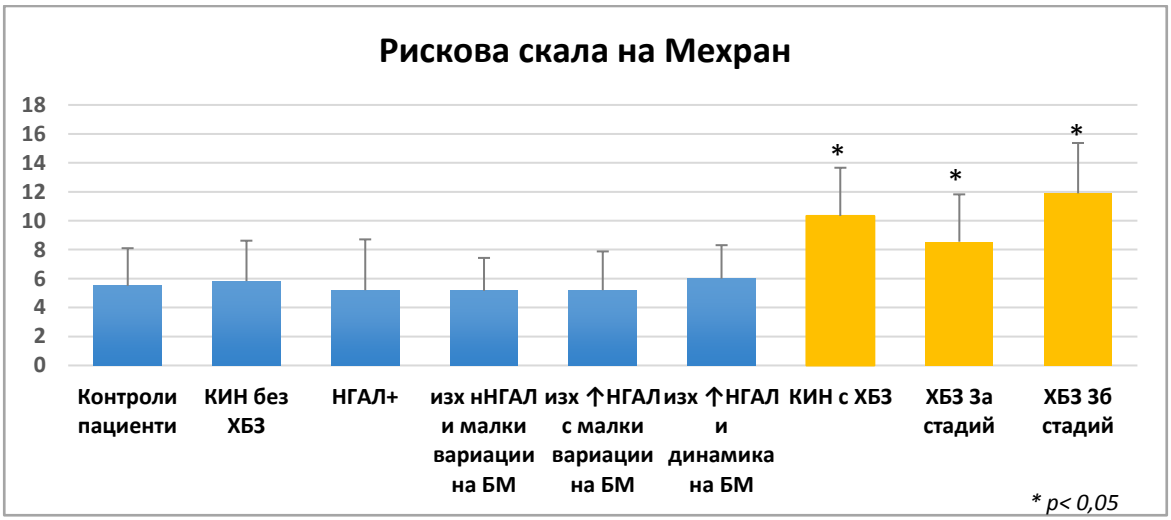
1.1. Представяне на данните от скалата на Мехран при всички групи пациенти

Базирайки се направеното разпределение на групите спрямо основните критерии (*изходни нива на биомаркерите и динамични промени*), изчисленията показват, че при контролната група пациенти средния брой точки на Мехран е 5,5±2,6; при група „КИН без ХБЗ“ - 5,83±2,79; а при останалите групи със запазена бъбречна функция в диапазона 5,15 до 6. Като цяло тези групи пациенти отговарят на популация с умерен риск.

При пациентите от подгрупите с ХБЗ сумарния брой точки е значително по-висок (средно от 8,45 до 11,89), като най-демонстративни са групите „КИН с ХБЗ“ (10,33±3,33) и „ХБЗ 3б стадий“ (11,89±3,48).

При провеждането на междугрупов анализ се установява, че средният брой точки при всички подгрупи с ХБЗ е сигнификантно по-висок спрямо този при контролните пациенти (p=0,004) и останалите подгрупи със запазена бъбречна функция (p<0,001).

Вътрегруповото сравнение само сред лица с изходна **ГФ > 60 ml/min/1,73 m²**, не показва сигнификантна разлика при някоя от подгрупите. При лицата с **ГФ < 60 ml/min/1,73 m²** се установява, че най-висок среден сбор точки има група „ХБЗ 3б стадий“ и той сигнификантно надвишава този при „ХБЗ 3а стадий“ (p=0,014). Нивото на риска при пациентите с **„КИН с ХБЗ“** се доближава до отчетеният риск при „ХБЗ 3б стадий“ (p=0,283) и надвишава с малко риска при „ХБЗ 3а стадий“ (p=0,222) (фигура №44). Съпоставянето на пациентите с ХБЗ спрямо другите критерии за допълнително класифициране, очертава общата тенденция за повишен риск, но не се достига до статистически сигнификантна разлика между никоя от групите.



Фигура №44. Представяне на средния брой точки, изчислен спрямо рисковата скала на Мехран при отделните групи

** Сравнение спрямо всички пациенти със запазена бъбречна функция (p< 0,05)*

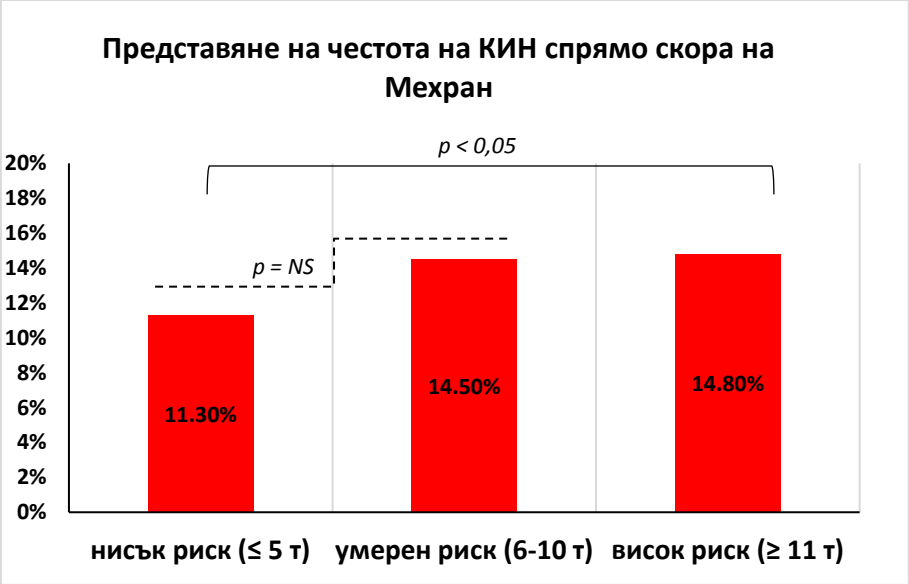
1.2. Представяне на данните за цялата извадка спрямо рисковата класификация на Мехран

Разглеждането на всички пациенти, включени в научното проучване, спрямо рисковата стратификация предложена от скалата на Мехран, води до сформирането на три групи – с **нисък риск**, **умерен и висок риск**. Тъй като само при един от пациентите се изчислява сумарен брой точки 17, то не се сформира група отговаряща на критериите за „много висок риск“.

Спрямо скалата на Мехран общата извадка (n=135) се разпределя по следния начин – 39% са лицата с нисък риск, 41% са лицата с умерен риск и 20% от пациентите попадат в групата на високия риск (фигура №45). По отделното разглеждане спрямо нивото на изходната бъбречна функция показва, че при лицата с **ГФ > 60 ml/min/1,73 m²** 55% имат нисък риск, 37% - умерен риск и едва 8% попадат във високия риск. Сред пациентите с **умерена форма на ХБЗ (ГФ < 60 ml/min/1,73 m²)** разпределението е доста по-различно – като нисък риск се оценяват едва 10%, с умерения риск са 48%, а при 42% рискът се изчислява като висок.

Фигура №45. Графично представяне на съотношението между групите, определени по рисковата стратификация на Мехран при всички пациенти от проучването

Отчитането на **честота на КИН,** спрямо рисковата стратификация на Мехран показва, че при групата с ***нисък риск*** тя се наблюдава сред 11,3% от пациентите, при групата с ***умерен риск*** – при 14,5% от пациентите, а при групата с ***висок риск*** - КИН се регистрира сред 14,8% от лицата (фигура №46). Анализа сочи, че единствено при последната група честота на това усложнение е сигнификантно по-висока спрямо нискорисковата група ($p < 0,05$), докато другите междугрупови сравнения са статистически несигнификантни.

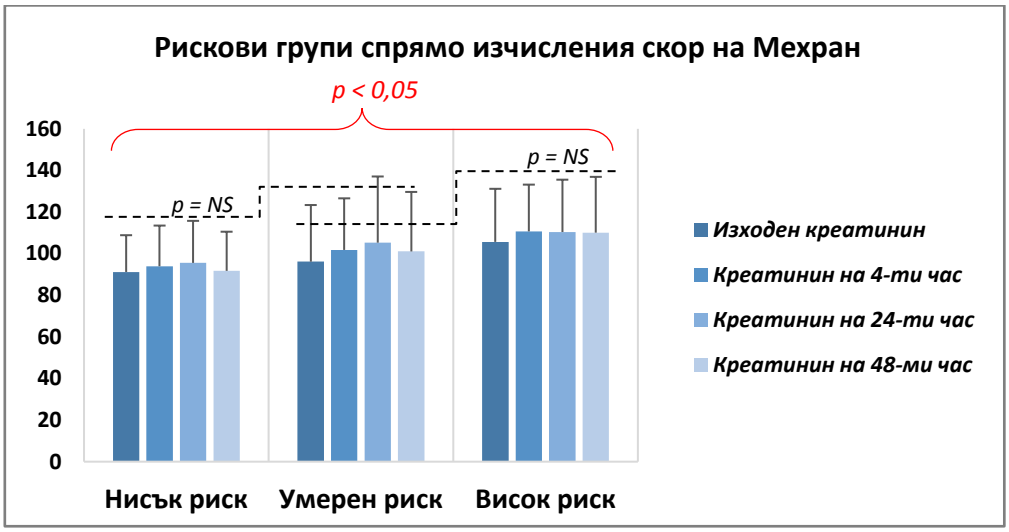


Фигура №46. Графично представяне честота на КИН при групите определени спрямо рисковата стратификация на Мехран
p=NS (not significant)

Насоченото разглеждане на стойностите на бъбречните биомаркери при рисковите групи, определени спрямо скалата на Мехран, дава конкретна представа за взаимовръзката между нивото на риска и съответната бъбречна функция.

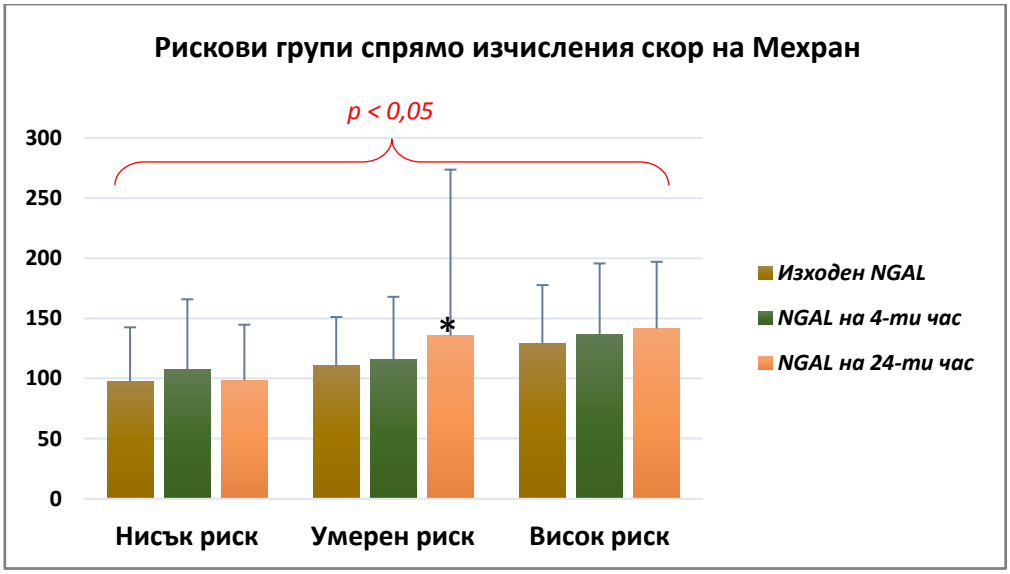
Сравнението в нивата на **серумния креатинин** показва, че с повишаването на рисковия профил се повишават и неговите изходни нива, като статистически

сигнификантна разлика се достига основно между кохортата с нисък риск и тази с висок риск (*съответно 91,20±17,66 µmol/l спрямо 105,65±25,52 µmol/l*) (фигура №47).



Фигура №47. Визуално представяне на нивата на серумен креатинин при пациентите с различно ниво на риск спрямо скалата на Мехран.

Аналогична тенденция се установява и по отношение на нивата на **плазмен НГАЛ**, отчетени спрямо рисковата стратификация на Мехран. Изходния НГАЛ в трите групи (*нисък, среден и умерен риск*) демонстрира стойности от порядъка на 97,88±44,61 ng/ml, 110,92±40,15 ng/ml и 129,10±48,53 ng/ml съответно. Сравнителният анализ показва, че сигнификантно се отличават всички стойности на биомаркера (*изходни, 4-ти час и 24-ти час*), основно между групите с нисък и висок риск по скалата на Мехран. Допълнително се установява, значително различие в нивата на НГАЛ на 24-ти час, между пациентите с нисък и умерен риск (фигура №48, таблица №18).



Фигура №48. Визуално представяне на нивата на плазмен НГАЛ при пациентите с различно ниво на риска спрямо скора на Мехран

** p<0,05 сравнение спрямо съответната стойност при групата с нисък риск*

Показател	Нисък риск Умерен риск	Нисък риск Висок риск	Умерен риск Висок риск
	p	p	p
Изходен креатинин преди изследването (µmol/l)	0,520	0,028	0,203
Креатинин на 4-ти час след изследването (µmol/l)	0,167	0,005	0,211
Креатинин на 24-ти час след изследването (µmol/l)	0,151	0,047	0,692
Креатинин на 48-ми час след изследването (µmol/l)	0,222	0,034	0,422
Изходен NGAL преди изследването (ng/ml)	0,270	0,008	0,183
NGAL на 4-ти час след изследването (ng/ml)	0,216*	0,005*	0,076*
NGAL на 24-ти час след изследването (ng/ml)	0,018*	<0,001*	0,061*

Таблица №18. Статистически сравнителен анализ на показателите между групите с различно ниво на риск спрямо скора на Мехран *(всички подвойкови сравнения са направени с теста Tukey HSD; * сравненията са направени с теста на Ман-Уитни)*

2. Скала за оценка на риска от сериозна бъбречна дисфункция (СБД) при ангиографско изследване

Според съвременните тенденции в литературата, при пациентите, подложени на ангиографски изследвания, трябва да се използват освен скали включващи процедурни характеристики (*скалата на Мехран*), то и рискови модели, позволяващи изцяло предпроцедурно изчисляване на риска от бъбречно увреждане. Една от утвърдените в тази насока е скалата за **„риск от сериозна бъбречна дисфункция " (СБД)** въведена от Brown et al.[51] Според авторския колектив СБД се дефинира като абсолютно повишение на серумния креатинин с 2,0 mg/dl (176,8 µmol/l) или ≥ 50% спрямо изходните стойности, или необходимост от новозапочнало хемодиализно лечение, и представлява следващото ниво на бъбречно увреждане при контрастните изследвания след КИН.
В нашето проучване се изчисли риска от СБД при всички пациенти, прилагайки в съответния онлайн калкулатор стойностите на изходния креатинин ($СБД_{креат}$) и се направи нововъведение, чрез допълнително изчисление на риска от СБД спрямо стойностите на изходен НГАЛ ($СБД_{нгал}$).

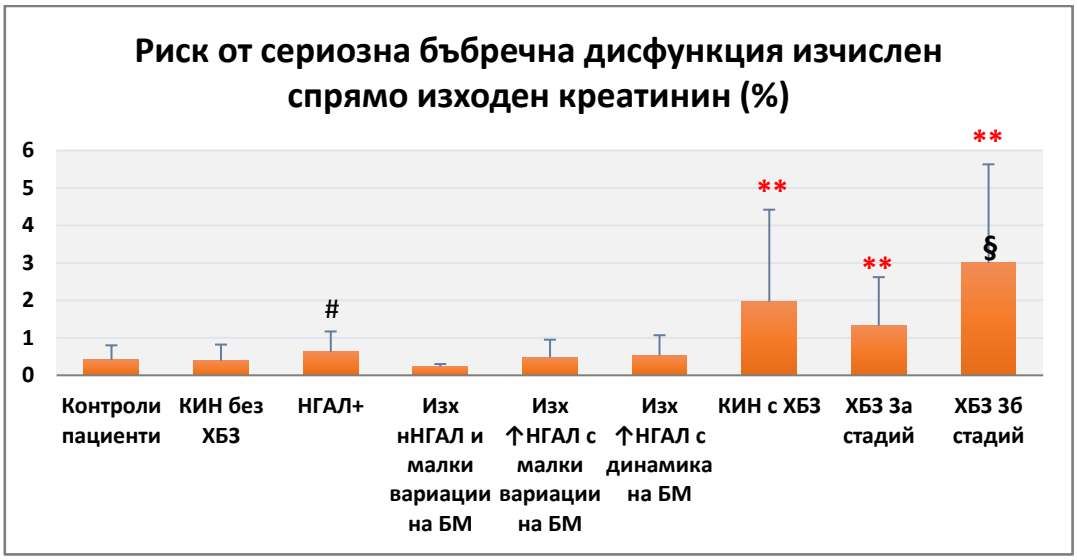
2.1. Определяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция спрямо нивото на изходен креатинин

При изчисляването на риска спрямо изходния креатинин ($СБД_{креат}$) се очертава общата тенденция, сред групите със запазена бъбречна функция нивото на риска до достига средно до 1%, а при лицата с умерена форма на ХБЗ да надвишава тези стойности (средно 1,33-3%). В последната кохорта по-високи нива се регистрират при група **„КИН с ХБЗ"** (1,97%), а най-високи се отчитат при група **„ХБЗ 3б стадий"** (3%).

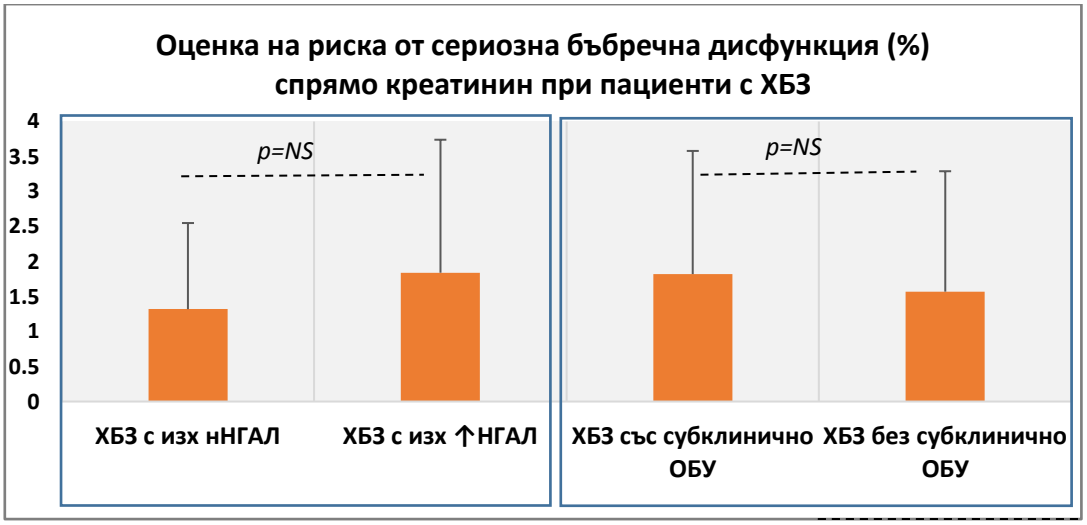
Междугруповото сравнение на получените резултати показва, че всички пациенти с ХБЗ имат сигнификантно по-високи нива на риска от $СБД_{креат}$, спрямо пациентите със запазена бъбречна функция (p<0,001).

Съпоставянето на получените стойности за риска от $СБД_{креат}$ при **лицата с ГФ > 60 ml/min/1,73m^2** сочи, че единственото сигнификантно различие се установява между групата с най-нисък резултат („изх нНГАЛ и малки вариации на БМ") и група „НГАЛ+" (p=0,003), докато всички други сравнения не достигат статистическа сигнификантност (фигура №49). Сред групите с **ГФ < 60 ml/min/1,73m^2** се установява, че нивото на риска при **„ХБЗ 3б стадий"** значително надвишава този при „**ХБЗ 3а стадий"** (p=0,014), докато

нивото на риска при **„КИН с ХБЗ“** е достатъчно високо за да се доближава до тези групи и да не показва сигнификантно отличаване (*p=0,630 спрямо „ХБЗ 3а стадий“ и p=0,234 спрямо „ХБЗ 3б стадий“*) (фигура №49).
При сравнението на подгрупите **„ХБЗ с изх нНГАЛ“** спрямо **„ХБЗ с изх ↑НГАЛ“** се установява, че риска от СБД$_{креат}$ е по-висок при последната (p=0,19), а съпоставянето им спрямо **„КИН с ХБЗ“** очертава тенденцията за повишаване на риска, но не се достига статистически сигнификантна разлика (съответно p=0,23 и p=0,44).
Аналогични тенденции показват и другите междугрупови сравнения – лицата с **„ХБЗ със субклинично ОБУ“** имат по-висок риск от тези, без насложено ОБУ (p=0,33) и близък до този при **„КИН с ХБЗ“** (p=0,33) (фигура №50).



Фигура №49. Визуално представяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция спрямо изходен креатинин (СБД$_{креат}$) при отделните групи пациенти
*** Сравнение спрямо всички пациенти със запазена бъбречна функция (p < 0,05)*
 # Сравнение спрямо групата с най-нисък резултат („изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“) (p< 0,05)
§ Сравнение между групи „ХБЗ 3а стадий“ и „ХБЗ 3б стадий“ (p< 0,05)



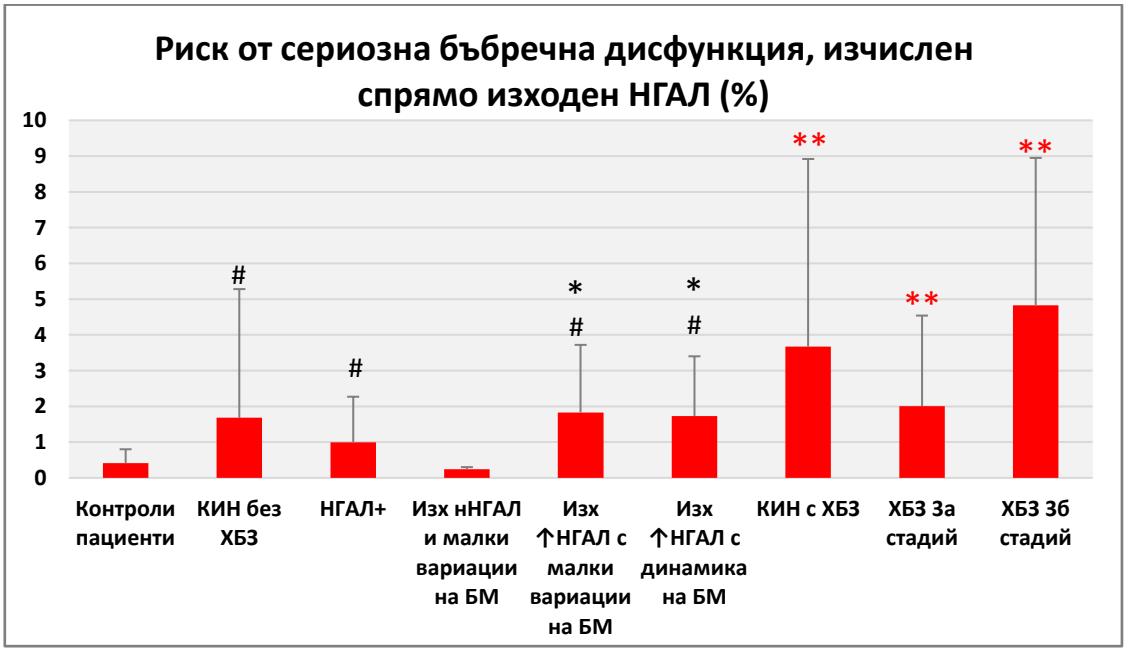
Фигура №50. Визуално представяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция, изчислен спрямо изходен креатинин (СБД$_{креат}$) при пациенти с ХБЗ, разпределени по различни критерии
p=NS (not significant)

2.2. Определяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция спрямо нивото на изходен НГАЛ

При изчисляването на риска спрямо изходните стойностите на плазмен НГАЛ (СБД$_{нгал}$), при групите пациенти с изходно запазена бъбречна функция се установява, че средния риск е до 2%, като най-нисък резултат се отчита при групата „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“, а при „КИН без ХБЗ“ рискът от СБД$_{нгал}$ е 1,68%.
При пациентите с изходна ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2, като цяло се получават по-високи стойности за нивото на риска от СБД$_{нгал}$, като при групата „КИН с ХБЗ“ се достига до средно 3,67%, а най-високия резултат се регистрира при група „ХБЗ 3б стадий“ (4,83%).

Основното междугрупово сравнение между пациентите с изходно запазена бъбречна функция и тези с умерена форма на ХБЗ показва, че рискът от СБД$_{нгал}$ е значително повишен сред всички пациенти с хронично бъбречно заболяване (p<0,001).

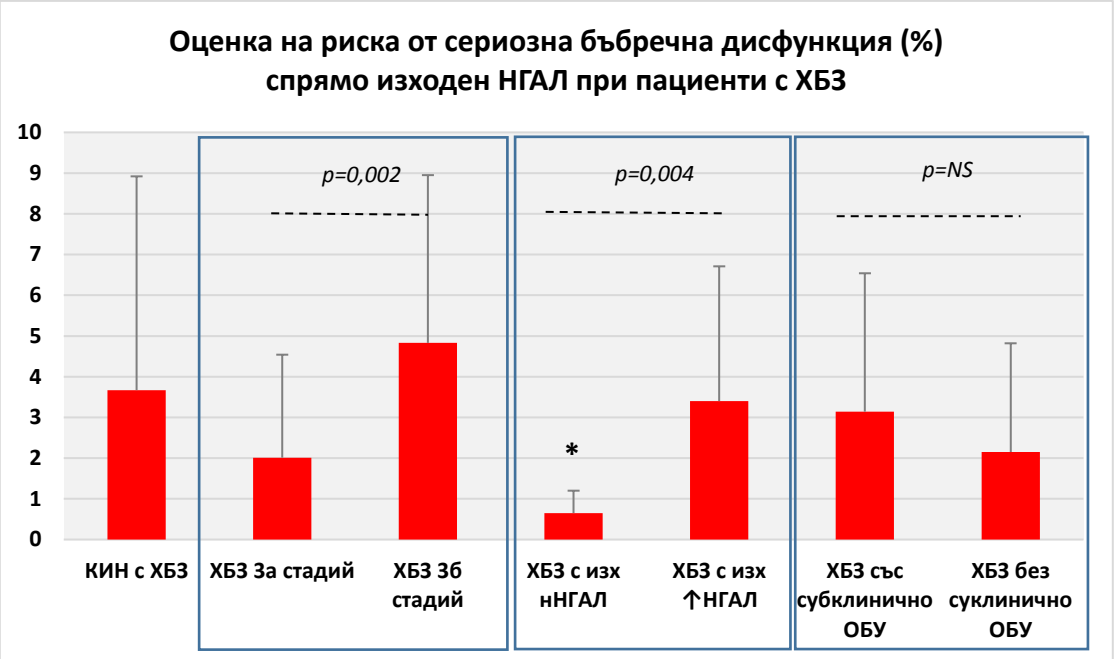
Сравнението на резултатите само сред пациенти с **изходна ГФ > 60 ml/min/1,73 m^2**, показва, че спрямо групата с най-нисък резултат *(„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“)* сигнификантно се отличават групите **„КИН без ХБЗ“** (p=0,041), **„НГАЛ+“** (p=0,002), **„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“** (p<0,001) и **„изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“** (p=0,010). Сигнификантно отличаване спрямо контролната група пациенти, се наблюдава само при групите **„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“** (p=0,002) и **„изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“** (p=0,036), докато при останалите, разликите са несигнификантни статистически (фигура №51).



Фигура №51. Визуално представяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция спрямо изходен НГАЛ (СБД$_{нгал}$) при отделните групи пациенти
*** Сравнение спрямо всички пациенти със запазена бъбречна функция (p < 0,05)*
 # Сравнение спрямо групата с най-нисък резултат („изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“) (p< 0,05)
** Сравнение спрямо контролната група пациенти (p< 0,05)*

Отделното подгрупово сравнение при **ГФ < 60 ml/min/1,73m^2** отново демонстрира, че при **„ХБЗ 3б стадий“** риска от СБД$_{нгал}$ е най-висок и сигнификантно надвишава този при **„ХБЗ 3а стадий“** (p=0,002). Рискът от бъдещо влошаване на бъбречна функция при пациентите от група **„КИН с ХБЗ“** надвишава този при „ХБЗ 3а

стадий“ и се доближава до този при „ХБЗ 3б стадий“, но тези различия не достигат статистическа сигнификантност (p=0,813 и p=0,156 съответно) (фигура №51).
При класифицирането на пациентите спрямо нивото на НГАЛ се установява, че групата **„ХБЗ с изх нНГАЛ“** има значително по-нисък риск спрямо **„ХБЗ с изх↑НГАЛ“** (p=0,004) и спрямо **„КИН с ХБЗ“** (p=0,03). Нивото на рискът от $СБД_{нгал}$ между последните две групи (*„ХБЗ с изх↑НГАЛ“ и „КИН с ХБЗ“)* значително се доближава и въпреки, че при развитието на КИН той е по-висок, то разликата е несигнификантно малка (p=0,44). При подгрупата **„ХБЗ и субклинично ОБУ“** се очертава тенденцията нивото на риска да е по-високо от това при пациенти с **„ХБЗ без субклинично ОБУ“** (p=0,154) и по-ниско от **„КИН с ХБЗ“** (p=0,17) (фигура №52).



Фигура №52. Визуално представяне на риска от сериозна бъбречна дисфункция, изчислен спрямо изходен НГАЛ ($СБД_{нгал}$) при всички пациенти с ХБЗ, разпределени по различни критерии
** p< 0,05 при сравнение спрямо група „КИН с ХБЗ“*

2.3. Сравнение на риска от сериозна бъбречна дисфункция изчислен спрямо двата биомаркера – серумен креатинин и НГАЛ

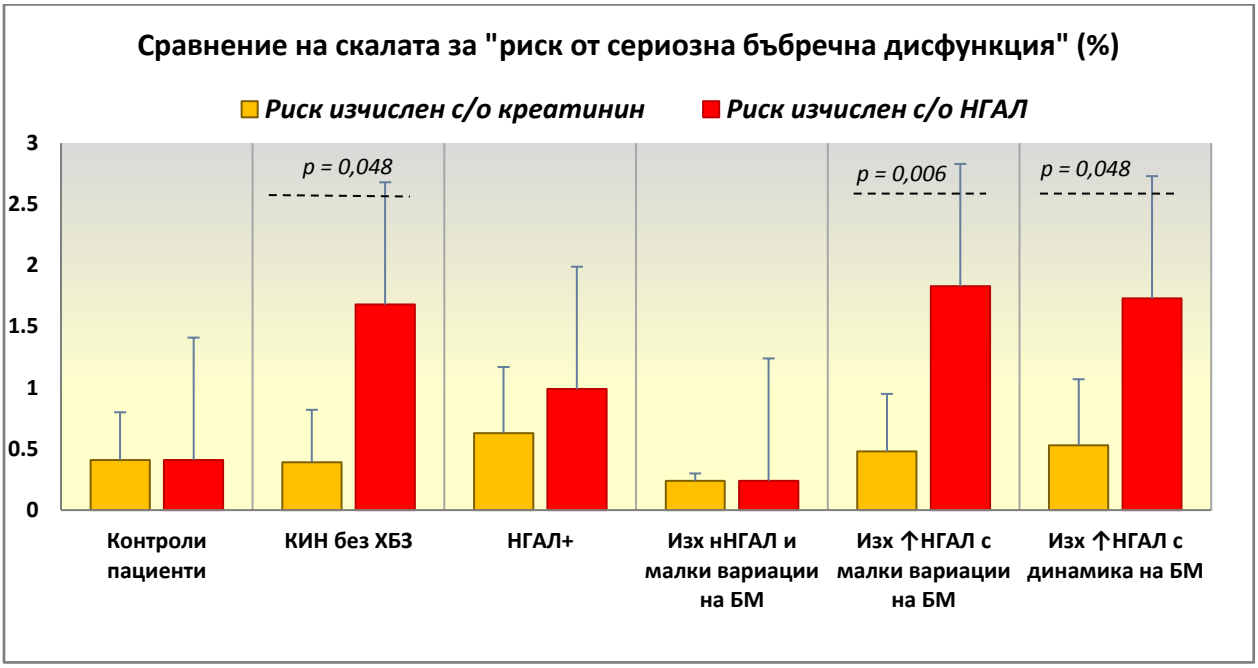
Особено внимание заслужава резултата, който се получава при съпоставяне на нивото на риска от сериозна бъбречна дисфункция, изчислен спрямо серумен креатинин и нивото на риска от СБД, изчислено спрямо изходен НГАЛ (фигури №53,54). Като цяло рискът от $СБД_{нгал}$ демонстрира значително по-високи нива спрямо този при $СБД_{креат}$ при почти всички групи.

Директното сравнение на стойностите на двата показателя във всяка група по отделно, показва, че при лицата с **изходна ГФ > 60 ml/min/1,73 m²**, сигнификантно по-високо ниво на риска с новия биомаркер спрямо серумен креатинин, се отчита при групите **„КИН без ХБЗ“, „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ и „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“.**

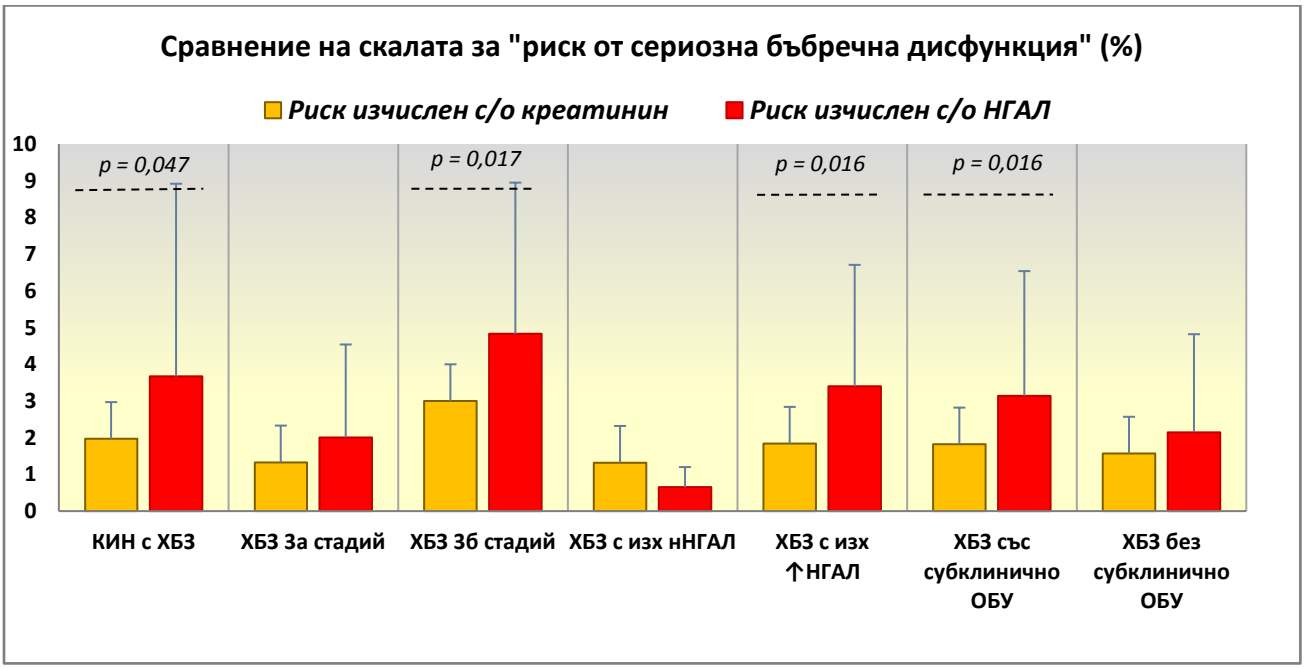
При лицата с **ГФ < 60 ml/min/1,73 m²** сигнификантно различие в нивото на риска от сериозна бъбречна дисфункция се наблюдава при групите **„КИН с ХБЗ“, „ХБЗ 3б**

стадий“ „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“ и „ХБЗ със субклинично ОБУ“, когато се използва различен биомаркер за съответното изчисление на скалата.

При всички останали групи сравнението СБД$_{креат}$/СБД$_{нгал}$ не достига статистически значима разлика (*при контроли пациенти – p=0,987; при група „НГАЛ+“ – p=0,162; при група „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ – p=0,978; при група „ХБЗ 3а стадий“ – p=0,088; при група „ХБЗ с изх нНГАЛ“ – p=0,057 и при група „ХБЗ без субклинично ОБУ“ – p=0,076*).



Фигура №53. Сравнение на рисковата скала при изчисляването й спрямо изходен креатинин (СБД$_{креат}$) и спрямо изходен НГАЛ (СБД$_{нгал}$) при пациенти със запазена бъбречна функция



Фигура №54. Сравнение на рисковата скала при изчисляването й спрямо изходен креатинин (СБД$_{креат}$) и спрямо изходен НГАЛ (СБД$_{нгал}$) при пациенти с умерена форма на ХБЗ

ДИСКУСИЯ

1. Дискусия върху резултатите при пациенти с изходно запазена бъбречна функция

Проведеното научно изследване е фокусирано върху пациенти подложени на инвазивно ангиографско изследване и оценка на съответната бъбречна функция преди и след приложението на контрастното вещество. Спрямо класификацията на KDIGO[345], цялата кохорта пациенти се раздели на две основни групи - със запазена бъбречна функция (ГФ ≥ 60 ml/min/1,73 m^2) и с умерена форма на ХБЗ (ГФ 30-59 ml/min/1,73 m^2), но прилагането на новия структурен биомаркер НГАЛ позволи допълнително класифициране на лицата.

Изследването на възрастово-половите характеристики, рискови фактори и основни сърдечносъдови заболявания показа, че при преобладаваща част от тях няма сигнификантна разлика между генералните групи. Въпреки това, някои от описаните характеристики са значително по-изявени сред лицата с ХБЗ, което определя по-тежкият коморбидитет и клинична патология при този вид пациенти. Обобщеният профил на изследваната популация отговаря на повишен сърдечно-съдов риск, вследствие наличието на редица рискови фактори (*АХ, ДЛП, ЗД 2 тип при >90% от пациентите*) и клинична изява на исхемична болест на сърцето (*актуална стабилна стенокардия (при >85%) и/или анамнеза за преживян МИ, предходна ПКИ, АКБ операция*). Наличието на друга съществена кардиологична патология - *сърдечна недостатъчност,* се описва при около 27% от всички пациенти (*със сигнификантното преобладаване сред лицата с ХБЗ и някои малки подгрупи*).

Ангиографското изследване обективизира коронарна болест при около 75% от случаите, а при 50% от всички коронарографии е осъществена и едноетапна перкутанна интервенция. По-изразена атеросклеротична патология (*триклонова болест и/или известна оперативна реваскуларизация*) и по-сложни интервенции (*при хронично оклудирани лезии*) се наблюдават по-често сред пациентите с КИН. Използваното количество контрастно вещество не се различава съществено между отделните групи, когато се отчита в абсолютни стойности, но прилагането на по-точния индекс „количество контрастно вещество/ гломерулна филтрация“ демонстрира сигнификантен превес сред лицата, развиващи КИН впоследствие.

Честота на това събитие, сред цялата изследвана кохорта в нашето проучване, е 13,3%. По литературни данни честота на КИН в общата популация, най-често се описва между 11,3% и 14,5%[63], но според автори, изследващи кохорта от само диабетни пациенти, тя може да достигне дори 24,1%[364].

Анализа на резултатите, описани при група **„КИН без ХБЗ“** демонстрира, че и трите изследвани показателя търпят съществени динамични промени. Серумния креатинин се повишава сигнификантно в първите часове след контрастното изследване, достигайки пикови стойности към 24-ти час, а ГФ следва същата тенденция със сигнификантно понижаване и достигане на най-ниски нива в същия часови интервал. Плазменият НГАЛ демонстрира сигнификантно нарастване на 4-ти час и на 24-ти час спрямо изходните си нива, но статистическия анализ сочи, че основния дял от повишението на биомаркера се пада на първите няколко часа след контрастното приложение.

В литературата се съобщават няколко проучвания, включващи пациенти с ИБС и запазена бъбречна функция, които са подложени на планова ангиография ± ПКИ и се изучава ролята на серумен НГАЛ като маркер за КИН.[326-331] Едно от първите изследвания в тази насока, е проведено от екипа на Bachorzewska-Gajewska[326] и ясно демонстрира, че серумния НГАЛ се повишава сигнификантно на 2-ри, 4-ти и 8-ми час след контрастното изследване, докато серумния креатинин се променя значително чак на 48-мия час. Сигнификантно нарастване на новия биомаркер на 4-ти и 24-ти час след ангиографското

изследване, се докладва също в проучванията на Shaker et al.[324], Padhy et al. [330] и Liu et al.[332] Екипа на Padhy et al.[330] прави извода, че серумния НГАЛ може да бъде много ранен маркер за настъпването на КИН, но има сравнително тесен „диагностичен прозорец“, тъй като към 48-мия час нивата му достигат до почти нормални изходни стойности. Тези данни напълно корелират с теоретичните постановки и експериментални модели, доказващи, че въздействието на исхемични или нефротоксични фактори води до бърза и масивна свръхрегулация на молекулите на НГАЛ в дисталните тубули, Хенлиева бримка и събирателни каналчета[281,284], с повишаване на екскрецията му в урината и натрупване в системната циркулация.

Както се вижда от съпоставянето с описаните научни източници, установената при нас часова динамика на НГАЛ е напълно аналогична. Картината на диагностичните му способности е необходимо да се допълни и от сравнение на резултатите спрямо контролната група пациенти.

В проведеното от нас научно изследване, **„контролната група“** включва пациенти, чиито резултати отговарят на стриктно заложените в дизайна критерии (изходните стойности на креатинин и НГАЛ са в рамките на референтните граници, а регистрираните вариации са в рамките на лабораторно допустимите). Липсата на динамични изменения в показателите, позволява клиничното заключение, че в тази кохорта не се наблюдава отклонение в бъбречната функция след ангиографското изследване.

Същевременно съпоставянето на ***контролната група спрямо група „КИН без ХБЗ“*** демонстрира, че е възможно ранно регистриране на различия в показателите при двете клинични ситуации. Серумния креатинин и ГФ се отличават съществено във всички си измервания, а плазмения НГАЛ е с набелязани по-високи изходни стойности при пациентите, развиващи КИН и сигнификантно се различава в часови интервали след контрастното приложение.

Литературните източници сочат, че в голяма част от известните проучвания, НГАЛ е бързо реагиращ биомаркер, със способност маркантно да отличи пациентите с КИН спрямо група „без КИН“ още в първите 4 до 24 часа след ангиографското изследване.[326,329,331,333] Същевременно серумния креатинин и ГФ успяват да достигнат сигнификантно различни стойности между двете групи, едва на втория ден след процедурата.[326,329] Внимателният анализ върху дизайна на тези проучвания обаче, очертава някои слаби страни, които могат да бъдат причина за набелязването на известни различия с нашите резултати.

На първо място, трябва да се подчерта факта, че в редица от тях, като *своеобразна контролна група* се използват всички останали пациенти от изследваната кохорта, които не развиват КИН и най-често се означават като „група без КИН“[326,329,331] Сравнително по-рядко се подбира стриктно контролна група, която да отговаря по бройка, рисков профил и придружаващи заболявания на основно изследваната група с КИН.[330] Отражението на този подбор се вижда в публикуваните резултати на някои проучвания.[329,332] Според данните на Li et al.[329], в групата „без КИН“ има сигнификантна промяна в креатинин/ГФ на 2-ри и 3-ти ден след ПКИ, а нивата на серумен НГАЛ се повишават спрямо изходните още в първия ден. Въпреки, че тези изменения са значително по-малки от регистрираните сред пациенти с КИН, то трябва да се отбележи факта, че съществени вариации в изследваните показатели се наблюдават и в групата, служеща като контролна. Именно тази тенденция, провокира анализа на нашите резултати да бъде насочен към стриктно дефиниране на контролната група и разглеждане на няколко подгрупи сред цялата кохорта пациенти „без КИН“.

На второ място, сред слабите страни на някои от цитираните проучвания, се нарежда различията в събирането на лабораторните проби за отчитане на креатинин и НГАЛ. Приемайки по презумпция, че серумния креатининът се повишава късно след

контрастното изследване, в дизайна не се залага отчитане на негови проби в първите 48 часа.[326,340] Липсата на някои проби с креатинин в часовите интервали, когато е изследван НГАЛ, както и регистрираните сигнификантни изменения в стойностите му при лицата без КИН, могат хипотетично да обяснят, защо основното му сигнификантно отличаване спрямо своеобразната контролна група, се установява най-често на 48-мия час при редица от проучванията.[326,332,340] Тук е мястото да се отбележи, че според други автори при 45% от случаите с КИН, диагнозата може да се постави в първите 24 часа, при измерване на серумния креатинин.[40]

Третото основно различие, което може да се изтъкне спрямо нашето проучване и преобладаващите литературни източници, е представянето на захарния диабет 2 тип в изследваната извадка. При редица проучвания[326, 329-335] се установява честота на ЗД между 14% и 43%, като някои автори описват тенденцията групите с КИН да имат повече диабетни пациенти. За разлика от тези данни, в проучването проведено от нашия екип, пациентите със захарен диабет са 92,6%, като в групата „КИН без ХБЗ“ всички лица са диабетици (100%). Ето защо по тази характеристика, нашите резултати се доближават много повече до проучването на Ashalatha et al.[364], което е единственото фокусирано върху изследването на НГАЛ при пациенти със ЗД, подложени на ангиографско изследване. Резултатите показват, че серумен креатинин и НГАЛ се повишават сигнификантно още на 4-тия час, а отличаването спрямо група „без КИН“ се наблюдава към 24-ти час, но само при креатинина. Авторите правят заключението, че при пациенти със захарен диабет и запазена бъбречна функция вероятно съществува субклинично бъбречно увреждане, което ги прави много по-податливи към контрастно увреждане и води до ранно повишаване на биомаркерите. Те допускат, че динамичните промени в показателите могат да бъдат различни, при диабетни пациенти и при лица без ЗД.[364] Според литературните източници от ендокринологията, в най-ранните стадии на диабетната нефропатия, е възможно да са повишени само серумните нива на НГАЛ, а в по-късните стадий да се изяви повишението на уринните нива.[361]

Връщайки се към нашите резултати, плазмения НГАЛ демонстрира изключително добра диагностична способност за ранно улавяне на КИН, както сочат данните от ROC анализа (*на 4-ти час - AUC 0,847, референтна стойност 90,20 ng/ml, сензитивност 83,33%, специфичност от 83,33%*). Тези резултати напълно корелират с цитираните в литературата (*AUC 0,81–1,00 на 4-6-ти час*[330,331] *и AUC 0,89 на 24-ти час*[331]) и представените в няколко мета-анализа за КИН[365-367].

Последните щрихи от нашето проучване идват от проведеният анализ върху относителните промени на показателите и изследването на корелационните зависимости. Сравнението спрямо контролната група пациенти, показва, че в първите четири часа след ангиографското изследване, единствено относителното повишение на НГАЛ е сигнификантно, а едва по-късно реагира серумния креатинин и към 24-тия час делта изменението на трите показателя е статистически значимо. ROC анализа върху относителното повишение на НГАЛ, показва също толкова добра диагностична сила, колкото и отчитането на абсолютните стойности (*AUC 0,815 за Δ начало→ 4-ти час и AUC 0,727 за Δ начало→24-ти час*). Проучванията в тази насока са доста ограничени, но според Liu et al[332], 25% повишение на серумния НГАЛ има 87,2% сензитивност и 80,8% специфичност при диагностицирането на КИН.

Корелационния анализ демонстрира, че изходните нива на НГАЛ са единствения предиктор за последващите стойности на показателя и съществува много силна връзка между тях. Съпоставянето му спрямо класическите измерители на бъбречната функция показва сигнификантна корелация само с ГФ, отчетена в едни и същи часови интервали. Отражението в тази насока сред литературните източници е доста противоречиво, тъй като една част от проучванията[327,329,339] докладват взаимовръзка между НГАЛ и креатинин/ГФ, а други не установяват такава[332,335]. Хипотетичното обяснение за подобна

находка може да бъде, че серумния креатинин отразява филтрационната способност на бъбрека, а НГАЛ структурните промени в него – два процеса, които понякога могат да не протичат симултанно и това да доведе до различно ниво на корелация в съответните БМ. Последното обаче, съвсем не обезсилва добрата диагностична способност на новия биомаркер НГАЛ.

В обобщение, получените от нас резултати, относно групата ***„КИН без ХБЗ“*** доказват диагностичната роля на НГАЛ като ранен маркер за настъпващо бъбречно усложнение, и имат своето отражение в литературните източници.

Новият биомаркер се оказва изключително ценен в диагностицирането на още едно клинично състояние, което за разлика от КИН се характеризира с липсата на съпътстващи изменения в серумния креатинин. Според новата концептуална рамка за ОБУ[262] лицата с позитивиране само на структурен БМ, се класифицират в групата на **„субклинично ОБУ“**, но отражението на тази парадигма в инвазивната кардиология се простира до неколцина научни съобщения. Автори като Liebetrau et al.[334] и Alharazy et al.[338] само описват, че сред групата „без КИН“ има лица с повишение на НГАЛ, аналогично на регистрираното при КИН, но липсва по-нататъшен анализ на тази кохорта или изследване върху динамиката на биомаркера. Неуточнени остават и границите, спрямо които да се приема диагнозата „субклинично ОБУ“ – докато екипа на Alharazy et al.[338] приемат повишение на серумен НГАЛ > 25%, то екипа на Akrawinthawong et al.[156] залага критерия нарастването на БМ да бъде два пъти спрямо изходните нива. Според резултатите на последното проучване, лицата с регистрирано подобно повишение на НГАЛ са 11,1% от цялата изследвана кохорта и напълно се доближават до случаите на „клинично изявено ОБУ“ – 12,7%.

В проведеното от нас проучване, групата пациенти с регистрирано изменение в плазмения НГАЛ, аналогично на лицата с доказана КИН, се класифицират в отделна група обозначена като **„НГАЛ+“**. Честота на тази група спрямо цялата кохорта е 11,11% и напълно съвпада с цитираната от някои автори. Изключително подробния анализ, проведен сред тези пациенти, ясно демонстрира, че стандартните показатели (*креатинин/ГФ*) не търпят съществена динамика спрямо изходните си стойности. Същевременно структурния биомаркер НГАЛ реагира, с много бързо и ранно повишение след контрастното приложение. Сигнификантно по-високи нива спрямо изходните, се отчитат както на 4-ти час, така и на 24-ти час, но основния пик се достига в първия часови интервал. ROC анализът потвърждава добрата диагностична способност на НГАЛ за рано диагностициране на „субклиничното ОБУ“ с AUC 0,731 и референтна стойност 85,65 ng/ml за 4-ти час. Отчитането на относителните промени също потвърждава тенденцията със сигнификантно делта изменение (*Δ начало→4-ти час; Δ начало→24-ти час*) единствено на плазмения НГАЛ от трите изследвани показателя. ROC анализа върху делта промените демонстрира сензитивност 86,67% и специфичност 83,33% при стойности на AUC близки до описаните при абсолютните стойности.

Последният щрих към важността на обособяването на отделна група само с позитивен НГАЛ резултат, идва от проведеният междугрупов анализ. Сравняването спрямо ***контролната група*** пациенти, показва че стандартните показатели не се отличават съществено, но плазмения НГАЛ е сигнификантно по-висок при група ***„НГАЛ+“***. Съпоставянето спрямо кохортата ***„КИН без ХБЗ“***, пък демонстрира точно противоположната тенденция, със сигнификантно отличаване само между креатинин/ГФ и липса на значима разлика в НГАЛ.

В резюме, измерването на бъбречната функция, базирано върху класическите критерии, трябва да доближи групата ***„НГАЛ+“*** към тази, без подлежащо бъбречно увреждане, но добавянето на новия структурен биомаркер към диагностичния панел, всъщност я доближава много повече до групата с ОБУ след контрастно изследване. Този резултат е директно доказателство, че пациентите само с позитивен НГАЛ резултат, имат

„субклинично ОБУ“ или по-точно „субклинична КИН“ и те биха били изпуснати при отчитането само на стандартния показател серумен креатинин. Според мета-анализа на Haase et al.[320] (*проведен върху 10 клинични проучвания сред критично болни пациенти*) позитивния НГАЛ резултат идентифицира 40% повече случаи на ОБУ и тази група пациенти имат повишен риск за продължителен престой в интензивно отделение, започване на бъбречно-заместителна терапия и по-висок риск за смъртност спрямо контролната група пациенти. Пренасяйки тези данни към клиничната ситуация на КИН, редица автори изказват мнение, че новите структурни биомаркери трябва да залегнат в диагностичните критерии и техните стойности също да се отчитат едновременно със серумния креатинин.[283, 392,393] Ronco et al. [393] предлага дефиницията на КИ-ОБУ да се разшири с въвеждането на понятия като *„КИ-ОБУ само със структурна увреда“* или *„КИ-ОБУ само с функционална увреда“*, но за сега тези разработки остават в теоретичната сфера. Основно предимство на подобен подход обаче, може да бъде започване на терапевтични мерки на по-ранен етап от заболяването, което би позволило по-адекватно лечение и промяна в риска от бъдещи усложнения.[254,255,393]

Другите диагностични аспекти, които могат да бъдат свързани с НГАЛ, са много по-слабо застъпени в литературата и особено в източниците от инвазивната кардиология. Както вече беше отбелязано, най-често кохортата „без КИН“ включва разнообразни пациенти, при които също се регистрират сигнификантни промени в креатинин/ГФ[329,332,364] или преходни такива в нивата на НГАЛ[329,332,364]. Отражение на подобни тенденции, се установява и в нашите резултати, описани при групите **„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“** и **„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“**.

Динамичното проследяване при тези пациенти показва, че натрупването на минималните изменения може до доведе до отчитане на статистически сигнификантни промени в отделни показатели за отделен времеви интервал, но това не променя общата тенденция, че изходните и финално проследени нива на серумен креатинин/ГФ и НГАЛ, не се отличават съществено. От друга страна (*както показват имената на групите*) нивата на НГАЛ са различни – близки до лабораторните референтни граници или още изходно повишени. Теоретично основание за подобно класифициране може да се открие в няколко литературни източника[351-353], според които сигнификантно по-високите изходни стойности на НГАЛ корелират с по-бърза прогресия на хроничното бъбречно заболяване спрямо контролните пациенти.

Сравнителният анализ, който проведохме между описваните две групи и контролните лица, ясно показа, че докато стандартните показатели серумен креатинин и ГФ са твърде близки, то плазмения НГАЛ е сигнификантно различен във всички подвойкови сравнения. Отчитането на неговите нива, очертава своеобразна стъпаловидна скала, със значително му нарастване на всяко следващо стъпало. ROC анализа също потвърждава диагностичната способност на НГАЛ, да отличи групите „***изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“*** спрямо контролните пациенти.

Тълкуването на тези резултати може да бъде базирано върху литературните източници, отбелязващи, че при диабетиците още изходните нива на серумния НГАЛ могат да бъдат сигнификантно повишени[361,362] и да бъдат най-ранната изява на диабетната нефропатия[361]. Други автори подчертават, че хроничното стресово въздействие върху бъбрека води до активен процес на възпаление[342] и повишава синтеза на НГАЛ.

Профила на пациентите от нашето изследване, в дискутираните две групи, е основно от пациенти със ЗД 2 тип и набелязана по-голяма давност на заболяването спрямо другите групи пациенти. Заключението, до което достигаме е, че при групите с ***„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“*** и ***„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“***, макар и да се измерва запазена бъбречна функция спрямо креатинина, то вероятно съществува

някаква начална форма на бъбречна увреда, отчитайки плазмения НГАЛ. И докато при контролната група липсва такава, а при пациентите, развиващи КИН категорично се диагностицира бъбречното нарушение, то останалите форми на бъбречно ангажиране остават по средата и подмолното им протичане, поставя тези пациенти в своеобразна *„сива зона“*. Въпреки, че при описваните до тук групи, не се регистрира съществена промяна в бъбречната функция след приложението на контрастното вещество, считаме че НГАЛ безспорно доказва, повишено ниво на риск сред тях. Вероятно е необходимо активно проследяване на тези пациенти в бъдеще или разширяване на часовия диапазон на наблюдението, за да може по-точно да се дефинира клиничния ход на бъбречната функция и степента на риска.

От особен интерес се оказа и последната група лица с **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“**, където установената лабораторна находка се различава коренно от всички описани до тук тенденции, налагайки необходимостта от обособяването на отделна група. Докато при серумен креатинин се набелязва известно повишение в първите часове след ангиографското изследване, то НГАЛ демонстрира съвсем различен профил – изходно повишените над нормата плазмени нива, бързо и сигнификантно се понижават в последвалите часови интервали и към 24-ти час почти се нормализират.

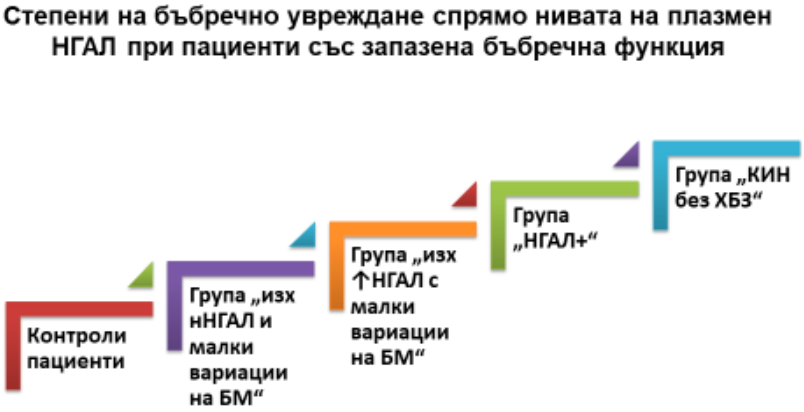
Констелацията от регистрирано повишение в серумния креатинин, което не намира отражение в съответното повишение на структурния биомаркер, се описва като „**преренална азотемия“ или „хемодинамично ОБУ“**[248] В литературата има малко проучвания, проведени с НГАЛ в тази насока и всички те са направени сред обща популация пациенти с нефрологични заболявания[321] или критично болни пациенти в интензивните отделения[323,394]. Доказателствения материал от тях обаче, води до оформяне на две основни тенденции. Според първата, която се докладва от автори като Au et al.[322] и Singer et al.[321] при „преходното ОБУ“ не се наблюдава промяна в нивата на уринния НГАЛ, тъй като пререналното състояние е с кратко протичане (*2-3 дни*) и не се съпътства от структурни промени в бъбрека, а само с преходни промени във функцията. Според втората тенденция, застъпена от автори като Nickolas et al. [395] и Doi et al. [394] „биомаркерите на увреда“ се повишават в зависимост от продължителността на острото бъбречно увреждане, а не от неговата форма – преходно или персистиращо ОБУ. В проучването на Doi et al. [394] се доказва, че при наличие на преренално бъбречно увреждане и съпътстваща тубулна увреда – водещата лабораторна констелация е с повишение на новите БМ и по-слабо нарастване на креатинина.

Пренасяйки тези данни към нашето проучване и предвид факта, че НГАЛ има „тесен диагностичен прозорец“[330], си позволихме тълкуването на резултатите при групата ***„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“***, да бъде в светлината на хемодинамично или преренално ОБУ, вследствие на въздействащ фактор, настъпил в деня преди ангиографското изследване. Необичайната на пръв поглед констелация от показатели, всъщност представлява лабораторна „опашка“ на вече отминаваш остър процес (*бързо реагиралия НГАЛ търпи обратно развитие, а креатинина отразява процеса със закъснение*). Като възможна етиологична причина за наблюдаваното нарушение може да се посочи наличието на сърдечна недостатъчност сред пациентите от тази група и свързаните с нея хемодинамични промени (*диуретично лечение, временна дехидратация, колебания на АН*), които могат лесно да нарушат водно-електролитното равновесие и бъбречна функция. Неслучайно Американското Дружество по Радиология въвежда термина „пост-контрастно остро бъбречно увреждане“[19], опитвайки се да обясни, че в редица клинични ситуации промяната в бъбречната функция не е директно свързана с контрастното вещество и причинно-следствената връзка е трудно доказуема.

Дефинираната от нас група ***„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“***, може да бъде нагледен пример за съчетаването на „преренално ОБУ“ и контрастно приложение, и сложното отражение на тези два процеса върху бъбречната функция. Натрупването на

по-голям брой пациенти с подобна динамична находка или проследяването на бъбречната им функция във времето, вероятно ще внесе по-голяма яснота относно въздействащите фактори и механизми, прогнозата и мястото на такава кохорта в цялостната палитра на ОБУ.

В обобщение на представеният до тук анализ и известните литературни данни, предлагаме **собствена „скала за степените на бъбречно увреждане“** след ангиографско изследване, спрямо отчетените нива на плазмен НГАЛ (фигура №55). От липсата на бъбречно ангажиране (*контролна група пациенти*) до сигурното настъпване на КИН (*група „КИН без ХБЗ“*), се нареждат няколко своеобразни стъпала от останалите групи пациенти. Лицата от група „НГАЛ+“ заемат своето най-близко място до КИН и могат да се приемат като представители на „КИ-ОБУ само със структурна увреда“, както предлагат някои автори[393]. Лабораторната констелация при „изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“ и „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“ поставя тези пациенти в „сива зона“ между изброените групи. Отчитайки, обаче нивата на НГАЛ, ние допускаме, че при тези лица са налични минимални бъбречни промени, които могат да бъдат свързани с повишен риск в бъдеще.



Фигура №55. Схематично представяне на групите със запазена бъбречна функция

Опита ни да се инкорпорира получената информация в нашето проучване, към новата концептуална рамка за ОБУ, предложена ADQI[262], е представен на фигура №56. Следвайки съчетанието от двата вида биомаркера, ние успяхме да позиционираме групите ***„контроли пациенти“***, ***„КИН без ХБЗ“***, ***„НГАЛ+“***, ***„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“*** като такива заставащи в съответните четири квадранта. Останалите две групи ***„изх нНГАЛ и малки вариации на БМ“*** и ***„изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“*** трудно могат да се класифицират спрямо класическите критерии, но нашето допускане е че, те заемат място на границата между липсата на увреждане и начална форма на структурно такова. Относително тясната времева рамка на нашето наблюдение, не позволява да определим със сигурност каква е дългосрочната динамика в тези групи, дали те се преместват към следващия квадрант или търпят обратна резолюция. Тези акценти поставят въпроси, на които трябва да се отговори в бъдещи проучвания, но безспорно първата крачка към позиционирането на пациенти, подложени на ангиографско изследване спрямо различните форми на ОБУ, е направена в нашето проучване.

Фигура №56. Модифицирана схема за разпределение на изследваните групи пациенти със запазена бъбречна функция спрямо промените в структурните и функционални биомаркери.

2. Дискусия върху резултатите при пациенти с изходна умерена форма на ХБЗ

Наличието на хронично бъбречно заболяване несъмнено повишава риска от настъпване на остро бъбречно увреждане след ангиографско изследване. Литературните източници посочват, че в условията на ХБЗ, биомаркерите могат да имат различна кинетика, референтни стойности и диагностично представяне. Последното налага необходимостта пациентите от нашето проучване, да бъдат разглеждани по отделно спрямо степента на бъбречна дисфункция. А опита да се потърси отражение на известни научни тенденции сред лицата с ХБЗ, доведе и до допълнително класифициране на кохортата ,спрямо няколко вида критерии.

Резултатите ни сочат, че сред общо 48 лица с изходно установена умерена форма на ХБЗ, КИН настъпва при n=6 (12,5%), а при останалите n=42 (87,5%) не се установява остро нарушение спрямо нивата на серумен креатинин. Регистрираната от нас честота на усложнението напълно корелира с литературните данни, където се докладва между 11%[338] и 12,7%[156] при смесени кохорти (ХБЗ 2-4 стадий) или между 12,31%[340] и 38%[341] при лица с ГФ<60 ml/min/1,73m^2.

Резултатите от нашето проучване показват, че при лицата от група **„КИН с ХБЗ“** сигнификантната промяна в серумен креатинин/ГФ започва да се отчита към 24-ти час след контрастното изследване, но най-отчетлива е промяната към 48-мия час. Плазмения НГАЛ показва известно повишение още към 4-ти час, но статистически сигнификантна динамика се отчита в интервала *4-ти → 24-ти час*.

Аналогични на установените от нас тенденции, се описват и в проучването на Alharazy et al[338], проведено сред пациенти с ХБЗ 2-4 стадий, подложени на планова коронарна ангиография. Според други автори като Liu et al.[332] и Tassanarong et al.[340], серумния креатинин се повишава сигнификантно най-рано към 48-мия час след контрастното изследване. При анализа на техните резултати обаче, трябва да се има предвид, че протоколите за получаване на лабораторните проби (*за креатинин и НГАЛ*) включват различни часови интервали и по презумпция изследват късно класическия показател. Това разминаване не позволява построяването на паралелно сравнение между различните биомаркери и открива възможност за разминаване на динамичните им

промени. Въпреки това, по отношение на НГАЛ, данните докладвани от Tassanarong et al.[340] са изключително демонстративни – при пациенти с ХБЗ 3-4 стадий, уринния НГАЛ започва да се повишава още към 3-ти час след коронарната ангиография, но пиковите стойности се достигат едва на 18-тия час. Други автори докладват, че при контрастно изследване сред пациенти с умерена форма на ХБЗ, серумните нива на НГАЛ се повишават сигнификантно на 8-ми и 24-ти час постпроцедурно.[341]

Детайлното разглеждане на всички тези проучвания, показва, че при условията на подлежащо хронично бъбречно увреждане, кинетиката на новия биомаркер е различна спрямо пациентите със запазена бъбречна функция. Докато при нормални условия НГАЛ се повишава сравнително рано (най-често 4-ти час), с бързо достигане на пикови стойности и започващо понижение след 24-тия час, то при ХБЗ покачването му започва около 6-8-ми час и към 18-24-ти час, все още има тенденция към достигане на пикови стойности. Обяснението за този феномен според някои автори се дължи на факта, че в условията на понижена гломерулна филтрация се забавя процеса на очистване на контрастното вещество от бъбрека и по този начин се удължава контактното му време с бъбречните структури.[340] Последното от своя страна води до по-продължително увреждане на тубулите и продължително образуване на молекулите на НГАЛ, което води до по-бавно достигане на пиковите нива.[340]

Отражение на тези тенденции се открива и в нашите резултати, където се установява, че сред пациентите от група ***„КИН с ХБЗ“*** се наблюдава известно забавяне в покачването на НГАЛ и отчитане на най-сигнификантните промени в интервала *4-ти→24- ти час*. Въпреки тази особеност, от проведения ROC анализ се установява изключително добра диагностична способност на НГАЛ в условията на ХБЗ, със стойности на AUC между 0,963 и 1,000, които напълно корелират с описаните в литературата.[338-341]

Съобщенията на някои автори, че относителните промени[332] или делта измененията между отделните часови интервали[338,340] могат да носят по-добра диагностична сила на новия биомаркер, се потвърждават и от нашия анализ, където се установява, че относителната промяна на НГАЛ в интервала *4-ти→24-ти час* има AUC 0,935 при референтна стойност 14,30% (сензитивност 100% и специфичност 88,89%), а за интервала *начало→24-ти час* съответните стойности са AUC 0,972; референтна граница 14,17% (сензитивност 83,33% и специфичност 94,44%).

Изследването на връзката между нивата на НГАЛ и стандартните показатели за бъбречна функция при пациенти от групата ***„КИН с ХБЗ“***, показва че няма сигнификантна корелация спрямо серумния креатинин, но спрямо гломерулната филтрация тя е значително сигнификантна (изходни нива r = -,725; на 4-ти час r= -,949; на 24-ти час r= -,877,p<0,05). Литературните данни сочат, че в редица други проучвания също не се установява корелация между серумен креатинин и НГАЛ в условията на ХБЗ[156,332,340] , докато такава се докладва спрямо гломерулната филтрация [156,338,340]. Нашето обяснение за този резултат е, че гломерулната филтрация е много по-точен измерител на бъбречната функция спрямо серумния креатинин, който в условията на ХБЗ може да има доста колебания дори при стационарни условия. Факта, че НГАЛ корелира именно с ГФ показва, че новия биомаркер може да бъде надежден измерител на бъбречната функция, въпреки че двата показателя отразяват различни процеси в бъбрека.

Сравнителният анализ между двете групи с настъпила контраст-индуцирана нефропатия, позволява да се открият някои особености в динамиката на изследваните показатели. Докато при групата ***„КИН без ХБЗ“*** се регистрира ранно повишение на плазмен НГАЛ (*начало→4-ти час*) и последващо покачване на креатинин/ГФ, то при групата „***КИН с ХБЗ“*** тези динамични промени, изглеждат изместени към следващия часови интервал и демонстрират паралелен ход на всички показатели. Прилагайки

математическите модели Waikar & Bonventre[41], според които в условията на ХБЗ пиковите нива на серумен креатинин се регистрират по-късно във времето, бихме могли да обясним част от тази находката. Анализа върху делта измененията на показатели доказва, че „изравняването“ с една и съща степен на относително повишение (%) между двете групи, се наблюдава на 24-тия час за серумния креатинин и в интервала *4-ти→24-ти* час за НГАЛ. Този резултат потвърждава, че в условията на ХБЗ, кинетиката на двата биомаркера може да бъде повлияна в различна степен и да доведе до отчитането на по-късни промени. Въпреки това, плазмения НГАЛ запазва своята способност да реагира преди серумния креатинин, при настъпването на контраст-индуцирано ОБУ.

Анализа на литературата в дискутираната от нас насока сочи, че при ангиографските проучвания, чиято цел е развитие на КИ-ОБУ, основно се селектират пациенти със запазена бъбречна функция[326-331] и само някои автори подбират кохорта с умерена форма на ХБЗ[340,341]. Ето защо, много повече информация е натрупана за поведението на новите биомаркери сред популация без бъбречно заболяване, а данните за характерните особеностите при наличие на такова, остават ограничени. Сравнението на лица с КИН, но с различно ниво на изходна бъбречна функция, може да бъде направено косвено и носи вероятността да не е изчерпателно, поради различния дизайн на повечето проучвания. В този контекст, направеният от нас паралел между групите ***„КИН без ХБЗ“*** и ***„КИН с ХБЗ“*** е първият в тази насока, като съпоставя едновременно лица с различно ниво на бъбречно увреждане, които са подложени на еднакви условия. Този анализ ясно очертава, къде са възможните разлики при такива кохорти пациенти и за какви особености трябва да се мисли в клиничната практика.

Автори като Alharazy et al[338], Akrawinthawong et al[156] и Liu et al.[332] също разглеждат пациенти с различно ниво на бъбречна дисфункция, подложени на ангиографско изследване, но описват резултатите си при една **обобщена група КИН** (независимо от нивото на изходната ГФ), съпоставяйки я с друга обобщена група „без КИН“ (от всички останали пациенти). Тенденциите за НГАЛ, които се установяват в тези случаи се доближават основно до тези описани при лицата със запазена бъбречна функция.

Резултатите на нашето проучване напълно кореспондират с тези данни, когато разгледаме обединено всички пациенти в **„обобщена група КИН“**. Динамика на биомаркерите, тенденции в тяхната промяна и диагностична способност са твърде близки до вече описаните при групата „КИН без ХБЗ“. И тук плазмения НГАЛ демонстрира сигнификантно и ранно повишение (още на 4-ти час) след контрастното изследване, с диагностична способност отговаряща на много добра сензитивност (77,78-88,89%) и специфичност (77,78% - 83,33%) за отделните часови интервали. Както абсолютните стойности, така и относителните изменения в структурния биомаркер имат изключително добри диагностични способности с AUC 0,756 – 0,809. При ***„обобщената група КИН“*** отново се потвърждава находката, че в интервала *начало→4-ти час* се наблюдава сигнификантно относително изменение само при един показател и това е плазмения НГАЛ.

Всички тези данни позволяват да обобщим, че новият биомаркер, реагира рано след инвазивно ангиографско изследване и може достатъчно надеждно да разграничи настъпването на пост-контрастно бъбречно увреждане, както при пациенти с различно ниво на изходната бъбречна функция, така и при смесената кохорта пациенти.

Анализа на резултатите сред **останалите пациенти с изходна форма на ХБЗ, които не развиват КИН,** също очертава важни тенденции относно диагностично представяне на новия биомаркер. Опита ни да систематизираме натрупаната научна информация в тази насока, доведе до класифицирането на пациентите от цялата тази кохорта, по различни критерии в няколко подгрупи.

Прилагането на **класическите критерии на KDIGO**[345] позволи сформирането на група **„ХБЗ 3а стадий“** (n=33/42) и **група „ХБЗ 3б стадий“** (n=9/42). Сравнението на изследваните показатели между двете групи, показва, че както серумния креатинин/ГФ са значително различни с напредването на степента на бъбречно заболяване, така и плазмения НГАЛ демонстрира сигнификантно по-високи нива. Проследяването във времето на биомаркерите във всяка група по отделно, не демонстрира сигнификантна промяна спрямо началните нива.

Получените от нас резултати са в синхрон с описаните данни от други ангиографски проучвания (*Alharazy et al.*[338], *Akrawinthawong et al.*[156] , *Tasanarong et al.*[340]), където изходните стойности на НГАЛ се повишават спрямо степента на хронично бъбречно увреждане. Според проучването Xiang et al.[344], проведено сред пациенти с нефрологични заболявания, се предлагат различни референтни граници за серумен НГАЛ спрямо степента на ХБЗ, а диагностичната му сила се изчислява с AUC 0,819 – 0,948. Данните от ROC анализа при нашето проучване са с близки до тези и потвърждават добрата диагностична способност на НГАЛ да отграничи пациенти с ХБЗ в стадий 3а и 3б.

Класифицирането на същата кохорта пациенти (*ГФ < 60 ml/min/1,73 m*^{2}), при които не се регистрира КИН, **спрямо изходното ниво на НГАЛ**, позволи сформирането на други две групи – **„ХБЗ с изх нНГАЛ“** (n=12/42) и **„ХБЗ с изх ↑НГАЛ“** (n=30/42). Проследяването на трите показателя при първата подгрупа демонстрира липса на сигнификантно изменение във времето спрямо изходните нива. При лицата с „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“ серумния креатинин/ГФ показват известни вариации в отделните часови интервали, но в края на проследяването не се различават съществено от началните си нива. По отношение на плазмения НГАЛ в тази група, изходно се измерват нива като 144±36,70 ng/ml, а към 24-ти час съответно 152,37±41,63 ng/ml (p=0,151).

Отделното двойковото съпоставяне на лицата с ***„ХБЗ с изх нНГАЛ“ и „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“*** показва, че основното различие между тях се наблюдава по отношение на лабораторните стойности на новия биомаркер. Отчитането само на класическите измерители (*креатинин/ГФ*) не може да разграничи тези две групи пациенти.

Научното ни обосноваване за провеждането на анализ върху една и съща кохорта пациенти с ХБЗ, но спрямо различни критерии се основава на данните, че двата биомаркера (функционален и структурен) биха могли да отразяват различни процеси в бъбрека. Ярък пример в тази насока е теорията на **Mori & Nakao** [342] , според която при едно и също ниво на редукция на бъбречната функция (склерозирали гломерули или атрофирали тубулни структури) стойностите на креатинин (респективно ГФ) могат да бъдат сходни, но нивата на НГАЛ са различни, тъй като отразяват активно протичащ процес на тубулно възпаление (*значително повишени*) или стационарна форма на хронично увредена бъбречна функция (*близки до нормалните нива*). Авторите на тази теория правят извода, че НГАЛ може да бъде индикатор в реално време за продължаващото бъбречно увреждане в условията на ХБЗ, за разлика от серумния креатинин и ГФ, които отразяват пасивно загубата на функционални единици в бъбрека.

Основавайки се на тази теоретична постановка, можем да направим обобщението, че групите ***„ХБЗ 3а стадий“*** и ***„ХБЗ 3б стадий“*** отразяват различната степен на загуба на филтрационна способност на бъбрека, докато разделянето на същата кохорта пациенти в подгрупи ***„ХБЗ с изх нНГАЛ“*** и ***„ХБЗ с изх ↑НГАЛ“*** демонстрира, при кои пациенти подлежащото тубулно увреждане е в активна фаза и при кои процесът е в стационарна форма.

Практическото приложение на разделното анализиране на двата вида биомаркера, се подкрепя от научните данни на редица автори, които установяват сред пациенти с различна бъбречна патология в общата популация, че повишените нива на НГАЛ са свързани с ускорена прогресия към ХБЗ[351-353]. Те докладват по-високи нива на

биомаркера както спрямо контролните лица, така и спрямо група без прогресираща форма на ХБЗ. Според мета-анализа на Zhou et al.[355] фокусиран върху ролята на някои уринни биомаркери, НГАЛ е независим предиктор за развитие на терминална форма на бъбречно заболяване и е свързан с повишена обща смъртност при пациенти с ХБЗ. Някои автори подчертават факта, че настъпването на тубулоинтерстициалното увреждане в бъбрека е свързано с много по-лоша прогноза и трайна тенденция към хроничните форми на заболяването, отколкото до сега възприеманата теория, че водещо значение има загубата на филтрационна способност на гломерула.[353]

Позовавайки се на описаната научна информация, ние допускаме, че при пациентите от група ***„ХБЗ с изх ↑НГАЛ“*** дългосрочния риск е повишен спрямо лицата от група ***„ХБЗ с изх нНГАЛ“***. Липсата на различие в изходните нива на серумен креатинин между тях, само подчертава възможността, да бъдат разглеждани твърде общо такива групи при използването на стандартните показатели за бъбречна функция и да бъде пропуснат шанса за тяхната рискова стратификация.

Екстраполирайки въведената от нас скала, за степените на бъбречно увреждане спрямо нивото на плазмен НГАЛ, представена при групите със запазена изходна бъбречна функция, можем да предположим, че подреждането при ХБЗ е следното: ***„ХБЗ с изх нНГАЛ“ → „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“ → „КИН с ХБЗ“***.

Последното класифициране на пациентите с ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2, при които не са наблюдава КИН, е направено в светлината на новата концептуална рамка за ОБУ[262], според която наблюдаването на изменения само в структурния биомаркер могат да корелират на субклинична форма на заболяването. Селектирането на пациенти, които отговарят на този критерий доведе до сформиране на група **„ХБЗ със субклинично ОБУ“** (n=20/42) и нейната противоположност **- „ХБЗ без субклинично ОБУ“** (n=22/42).

Анализът на получените резултати показва, че класическите измерители на бъбречната функция като серумен креатинин и ГФ, отчетени в края на наблюдавания период не се отличават съществено спрямо изходните стойности и при двете групи пациенти. Същевременно при лицата с ***„ХБЗ със субклинично ОБУ“*** се установява, че плазмения НГАЛ бележи сигнификантно повишение още към 4-ти час след контрастното изследване и продължава да нараства до 24-тия час. ROC анализа върху абсолютните му стойности, потвърждава добрата диагностична способност на биомаркера да отличи такива пациенти спрямо контролната група лица (AUC в интервала от 0,867 до 0,907). Резултатите от регистрираните относителни изменения, потвърждават, че единствените сигнификантни промени, отчетени в тази група се наблюдават в нивата на НГАЛ (*Δ начало→24-ти час надвишават малките вариации в креатинин/ГФ в същия часови интервал*), а изчислената площ под кривата достига 0,747 от допълнителния ROC анализ. Натрупването на тези данни, позволява да направим заключението, че и в условията на ХБЗ, плазмения НГАЛ запазва своята способност да реагира рано след контрастното изследване, дори при липса на функционални отклонения в бъбречната функция.

Литературните данни, описващи субклиничното ОБУ в условията на контрастно ангиографско изследване са изключително ограничени[156,334,338] и вече бяха описани при групата „НГАЛ+“, която отразява настъпването на това състояние сред лица със запазена бъбречна функция. Както беше споменато там, при повечето проучвания липсва задълбочен анализ върху диагностичната сила на НГАЛ в подобна популация пациенти, липсват референтни граници за поставяне на диагнозата, а селективно изследване само на лица с ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2 не се описва от посочените източници.

Насоченото търсене от нас на субклинична форма на бъбречно увреждане сред лицата с ХБЗ, не само разширява научното познание, но има важен принос и върху очертаването на рисковия профил. Базирайки се само върху класическия показател серумен креатинин, настъпването на КИН се отчита в съответните групи с честота 13,8% (*при лица с ГФ > 60 ml/min/1,73 m^2*) и 12,5% (*при лицата с ГФ < 60 ml/min/1,73 m^2*).

Добавянето на плазмения НГАЛ към диагностичния панел води до регистриране на субклинични случаи съответно с честота 17,24% (*група „НГАЛ+“*) и 41,67% (*група „ХБЗ със субклинично ОБУ“*). Както се вижда от тези цифри, НГАЛ-базираното отчитане на бъбречното увреждане безспорно доказва, че лицата с ХБЗ са високо рискова популация и са много по-уязвими към подмолно протичащи структурни нарушения. Забавеното покачване в серумния креатинин, което е характерно за хроничните форми на бъбречното заболяване, представя възможност някои от случаите на остро увреждане да бъдат пропуснати. Както при настъпването на КИН, така и при другите по-леки форми на бъбречно увреждане, НГАЛ може да подпомогне диагностичния процес, преодолявайки недостатъците на креатинина.

Известният мета-анализ на Haase et al.[320], проведен сред критично болни пациенти, доказва, че средно около 40% повече случаи на ОБУ се диагностицират при прилагането на критерии спрямо позитивирането на НГАЛ. Проведеният от нас анализ напълно корелира с тези данни и установява в цялата изследвана популация общо 26% повече пациенти с ОБУ въз основа на НГАЛ критериите за значима динамика.

Връщайки се към въведената от нас скала за степени на бъбречно увреждане спрямо отчетеното ниво на плазмен НГАЛ, бихме могли да допуснем, че подреждането на последните групи е в реда: ***„ХБЗ без субклинично ОБУ“ → „ХБЗ със субклинично ОБУ“ → „КИН с ХБЗ“*** (фигура №57).

Фигура №57. Предложена от нас рискова скала за степента на бъбречно увреждане въз основа на обобщен анализ на всички получени данни

В обобщение, предложеният от нас анализ върху една и съща кохорта пациенти без КИН, но разделена по различни критерии, позволява да се уловят нюанси свързани с определянето на референтните нива на новия биомаркер при напредването на ХБЗ, различаването на пациентите с прогресиращи форми на заболяването или улавянето на субклиничното остро бъбречно увреждане след контрастно изследване. Несъмнено базирането само върху съответните нива/динамика в серумен креатинин, не може да донесе толкова информация и много от тези групи, биха били разглеждани заедно. Разширяването на диагностичния прозорец или дългосрочното проследяване, безспорно ще донесе допълнителна информация, но първата стъпка с класифицирането на подобни пациенти е направена от нашето проучване и определя един от неговите приноси.

3. Дискусия върху придружаващи кардиологични заболявания и нивата на НГАЛ

Натрупаното научно познание сочи, че регистрираните повишени нива на НГАЛ в урина и плазма са основно в следствие на процес на остра тубулна увреда в бъбрека. Някои автори обаче, се насочват към търсене на алтернативни източници за неговата повишена продукция.

Изследване на връзката между нивата на НГАЛ и **изявата на коронарната артериална болест** в различните й форми, се докладва от сравнително малко автори в литературата.[368-374] Според автори като Kafkas et al.[368] и Soylu et al.[370], пациентите с остър коронарен синдром имат повишени нива на НГАЛ, спрямо тези със стабилна стенокардия, и биомаркера корелира положително с рискови скали за оценка на тежестта на коронарно ангажиране (*SYNTAX*) и за оценка на сърдечно-съдовия риск при ОКС (*GRACE score*). Други автори[371-373] обаче, подчертават, че няма връзка между типа коронарна болест (едно-, дву- или триклонова) и съответстващото ниво на серумен НГАЛ при пациенти както със стабилна стенокардия при усилие[371], така и ОКС[372,373].

Отчитайки факта, че изследваната от нас кохорта лица са основно са с доказана/суспектна исхемична болест на сърцето, тествахме хипотезата дали има отражение тази патология върху изходните нива на НГАЛ. Получените резултати категорично установиха, че независимо дали пациентите се анализират спрямо клинично изявената форма на ИБС (*с/без САП*) или обективната ангиографска находка (*типа КБ*), то няма сигнификантна разлика между отчетените нива на биомаркера в различните подгрупи, сформирани по тези критерии. Приемайки, тези данни като своеобразен скринингов подход, стигаме до извода, че няма връзка между нивото на НГАЛ и коронарната артериална болест, което напълно корелира с редица научни публикации[371-373]. В заключение можем да кажем, че регистрираните в нашето проучване, нива на плазмен НГАЛ са с бъбречен произход и отразяват основно, настъпилите субклинични или клинични промени в бъбречната функция след осъщественото контрастно ангиографско изследване.

Връщайки се към основните кардиологични характеристики на селектираните пациенти, освен наличието на ИБС, прави впечатление наличието на **съпътстваща сърдечна недостатъчност** сред част от тях. Изследването на нивата на НГАЛ при кохортата с такава патология, спрямо останалите лица без, показва сигнификантно по-високи стойности на биомаркера във всички проби.

В литературата автори като Damman et al.[377], докладват повишени нива на уринен НГАЛ при лица с хронична СН спрямо здрави контроли, а други като Yndestad et al.[376] демонстрират, че серумния НГАЛ е по-висок при групи с декомпенсирала СН в III или IV ФК по NYHA, независимо от етиологията (*идиопатична или исхемична кардиомиопатия*). Според данните на van Deursen et al.[380], пък съчетаването на СН с ХБЗ води до сигнификантно по-високи стойности на плазмен НГАЛ спрямо лицата, при които не се установява бъбречно заболяване. Други научни изследвания[378,379] подчертават, че дългосрочната прогноза е влошена при пациенти със СН и повишени нива на НГАЛ, и е свързана основно с обща смъртност, сърдечно-съдова смъртност и рехоспитализации по повод СН[379]. Теоретичните познания върху, които са облягат тези данни е факта, че в хода на редуцирана сърдечна помпена функция, често се наблюдават колебания в бъбречната перфузия или венозна конгестия. Тези хемодинамични промени могат да засегнат много по-вулнерабилните към хипоксично въздействие тубулни структури[377], дори когато са включени компенсаторните механизми с гломерулна хиперфилтрация и клинично не се регистрира промяна в ГФ. Ето защо, структурен биомаркер на увреда, какъвто е НГАЛ може да даде представа за подмолно протичащите такива процеси, независимо от наличието/липсата на промяна в серумния креатинин.

Позовавайки, се на тези литературни данни стигаме до извода, че регистрираното от нас повишение на плазмен НГАЛ, сред лица със съпътстваща СН, отразява наличието на структурна бъбречна увреда, независимо от отчетеното ниво на бъбречна функция спрямо креатинин. Считаме, че както захарния диабет може да доведе до скрита диабетна нефропатия, така и хемодинамичните колебания при СН увреждат подмолно бъбречните структури, и единствено изследването на НГАЛ успява да улови тези начални промени. Базирайки се на получените от нас резултати, стигаме до заключението, че новия биомаркер спомага за идентифицирането на популациите в риск, но са необходими още научни изследвания в тази насока.

4. Дискусия върху скалите за рискова оценка на пациентите подложени на контрастно ангиографско изследване и анализ на собствените резултати

Оценката на рисковите фактори, водещи до КИН и опитите да бъдат въведени в рискови модели, предсказващи това събитие са отдавна известни в литературата. Една от най-широко известните в инвазивната кардиология е **рисковата скала на Мехран[50]**, която е валидирана впоследствие и от редица автори[396-399], доказващи нейната добра предиктивна сила.

Прилагането на рисковия модел на Мехран към нашето проучване се осъществи в две основни направления. На първо място, съобразявайки заложената от нас класификация на пациентите, изчислихме и анализирахме сумарния брой точки във всяка група по отделно. На второ място, имайки предвид оригинално въведената от изследователския екип[50] класификация на риска, разделихме цялата изследвана кохорта на групи с нисък, умерен и висок риск.

Резултатите относно първото направление показват, че средният сумарен брой точки при пациентите със запазена бъбречна функция не се различава съществено между отделните групи и поставя най-общо тези лица в графата на умерения риск. При пациентите, сформиращи различните подгрупи с ХБЗ, сумарният брой точки по Мехран е сигнификантно по-висок спрямо пациентите със запазена бъбречна функция и поставя тези лица в полето на високия риск. Обяснението за този резултат може да бъде дадено чрез съпоставянето на рисковите фактори, участващи в скалата на Мехран и клиничните характеристики на изследваните пациенти. Хомогенното представяне спрямо част от факторите (*АХ, ЗД, стабилно хемодинамично състояние*), вследствие на заложеният дизайн на проучването, пренася основната тежест върху другите фактори (*възраст, наличие на СН, количество КВ и изходно ниво на бъбречна функция*), които се наблюдават с натрупване сред лицата с ХБЗ.

Погледа към литературата сочи, че най-добрата диагностична сила на рисковата скала на Мехран, се постига при високия сбор точки *(> 13 точки*), при която се изчислява AUC = 0,654 (сензитивност 62% и специфичност 68%).[398] Според данните на Sato et al.[400] разделянето на пациенти спрямо класификацията на Мехран, демонстрира статистически сигнификантна разлика в честота на КИН, само при групата с най-висок риск, спрямо нискорисковата кохорта (OR 4,09, 95% CI: 1,72–9,17; p = 0,002), докато между групите с умерен и висок риск се очертава само тенденция за нарастване на относителния риск от контрастно усложнение.

Установената от нас честота на КИН, сред групите с различен рисков скор, съответно е 11,3% (нисък риск), 14,5% (умерен риск) и 14,8% (висок риск), като сигнификантно отличаване се достига само между двете крайни групи, и това напълно корелира с описаните литературни данни [398,400]

Анализирането на нивата на бъбречните биомаркери в групите, стратифицирани спрямо скалата на Мехран, демонстрира аналогични тенденции. При популацията,

оценявана като високорискова всички стойности на серумен креатинин и плазмен НГАЛ са сигнификантно по-високи, спрямо нискорисковата популация. Междинното отличаване на кохортата с умерен риск, не е възможно спрямо нивата на креатинина, но се установява при някои от измерванията на НГАЛ.

Литературните данни от проучванията на Zungur et al.[398] и Sato et al.[400] също описват, че стойностите на креатинина (*преди и след контрастното изследване*) са най-високи при групата, оценявана като много висок риск по скалата на Мехран. Различията в неговите нива при групите с умерен и висок риск са по-слабо отличими, и не достигат статистическа сигнификантност. Научните изследвания, насочени към новите биомаркери и връзката с описваната рискова скала, са още по-ограничени. Liu et al. [401] докладват, че изходните нива на NT-proBNP (N-terminal pro-brain natriuretic peptide) корелират позитивно със сбора на Мехран и няма съществена разлика в диагностичната сила на двата подхода за предикцията на КИН, което позволява да бъдат взаимнозаменяеми. Автори като Ebru et al.[384] и Zhang et al.[402] докладват приложението на цистатин С, като маркер за диагностициране на КИН и по-висок сбор точки по Мехран сред такава популация. Ангиографските проучвания проведени от Connolly[349] и Quintavalle et al.[350], са фокусирани върху определянето на прогностичната роля на НГАЛ за настъпването на бъдещи неблагоприятни събития, но приложението на сбора на Мехран е ограничено само до включващите критерии и подбиране на пациенти с висок риск.

В обобщение на тези научни данни, може да се каже, че основните изследвания са фокусирани върху биомаркери различни от НГАЛ, а подробно описание в нивата на последния спрямо различното ниво на риск, определено от скалата на Мехран, на практика липсва. Получените от нас резултати са първите в тази насока и допълват научното познание. От друга страна, ограничението в нашия дизайн относно липсата на дългосрочно проследяване на извадката, може да бъде компенсирано с позоваването върху тези научни данни и допускането, че нашите пациентите, които имат повишени нива на НГАЛ и висок рисков сбор точки, също са свързани с висок риск от нежелани събития в бъдеще.

Връщайки се към анализа на нашето проучване, на последно място трябва да се отбележи приложението на още един рисков модел, предложен от екипа на Браун[51] - **риска от сериозна бъбречна дисфункция (СБД)**. Прилагайки различна дефиниция от тази за КИН, авторите отчитат следващо ниво на бъбречно увреждане, вследствие на контрастно приложение. Фокусирането на научната общност обаче, основно върху КИН, води до предимно научното приложение на тази скала[403,404] и практически липсва в ангиографските проучвания.

Задълбочаването на нашата научна разработка, върху оценката на бъбречната функция при селектираните пациенти, се постигна чрез изчисляване на риска от СБД - спрямо изходните стойности на серумен креатинин ($СБД_{креат}$) и спрямо изходни нива на НГАЛ ($СБД_{нгал}$). В кохортата с изходно запазена бъбречна функция, приложението на рисковата скала спрямо серумен креатинин позволява сигнификантно открояване само на една група, докато изчисляването на $СБД_{нгал}$ успява да отграничи различно ниво на риск сред много повече групи. Аналогична тенденция се установява и при кохортата с умерена форма на ХБЗ – класическото изчисления на риска от $СБД_{креат}$ показва сигнификантно по-висок резултат само за една подгрупа, а иновативния подход с $СБД_{нгал}$ отличава много повече групи. Общата тенденция, която важи и за двата метода на определяне на СБД, е че всички лица с ХБЗ имат по-висок риск спрямо тези със запазена бъбречна функция.

Директното сравняване на стойностите на риска във всяка една група по отделно – $СБД_{креат}$ спрямо $СБД_{нгал}$, демонстрира най-важният резултат за тази скала. Прилагането на НГАЛ за изчисление на риска доказва, че при редица от изследваните пациенти

вероятността за сериозно влошаване на бъбречната функция е сигнификантно по-висока спрямо риска, определен със серумен креатинин (*групи „КИН без ХБЗ“, „изх ↑НГАЛ с малки вариации на БМ“, „изх ↑НГАЛ с динамика на БМ“, „КИН с ХБЗ“, „ХБЗ 3б стадий“, „ХБЗ със субклинично ОБУ“ и „ХБЗ с изх ↑НГАЛ“*).

Прегледа на литературата в тази насока, показва липса на информация за осъществяване на рисковата стратификация на пациентите, спрямо нивата на НГАЛ, както и научни съобщения той да се употребява като показател в рисков калкулатор. В цитираните проучвания на Connolly et al.[349] и Quintavalle et al.[350] се доказва, че високият НГАЛ носи повишен риск за КИН и лоша прогноза в бъдеще, но и при двете се използва рисковата скала на Мехран, и то с нейната приложимост при сумарен брой точки над 10. Аналогичен опит на нашето проучване, да се замени серумния креатинин с друг биомаркер се прави от Ebru et al. [384] и Zhang et al. [402], но те прилагат цистатин С и доказват, че скора на Мехран е сигнификантно по-висок само при групата с цистатин С-базирана дефиниция на КИН спрямо съответната група „без КИН“. Такава разлика обаче, не се установява между двете групи при креатинин-базирана дефиниция на КИН. Тези резултати косвено корелират с описаните в нашето проучване, тъй като се запазва концептуалния модел, че замяната на стандартния серумен креатинин с нов бъбречен биомаркер може да донесе допълнителна информация и надеждно да разграничи дадени групи пациенти.

В заключение считаме, че тестваната от нас хипотеза да се инкорпорира плазмения НГАЛ, като част от рисков калкулатор е изключително иновативна и въпреки, че липсва подобно описание в литературата, заслужава своето внимание. Разбира се, за доказване на диагностичната сила на такъв модел е необходимо валидиране сред по-голяма популационна извадка, но данните, че спрямо НГАЛ се улавят много повече рискови групи пациенти, очертават сфера на научното познание, която не е изследвана достатъчно до момента.

ИЗВОДИ

1. В проведеното проучване се доказва, че плазменият НГАЛ е първият биомаркер, който се променя сигнификантно при пациентите, развиващи контраст-индуцирана нефропатия.

2. Динамичното проследяване потвърждава, че при група **„КИН без ХБЗ“** абсолютните и относителни промени на НГАЛ са най-демонстративни в интервала *начало→4-ти час*, а при групата **„КИН с ХБЗ“** същите изменения се установяват в интервала *4-ти→24-ти час.*

3. В научното изследване се доказва, че хроничното бъбречно заболяване има отражение върху кинетиката на биомаркерите при КИН, предизвиквайки по-късно изменение във времето, но предницата на НГАЛ пред серумния креатинин се запазва.

4. Ранната диагностичната способност на биомаркера НГАЛ се утвърждава от стойностите на ROC анализа – при група **„КИН без ХБЗ“** (*AUC 0,847; сензитивност 83,33% и специфичност 83,33% при референтна стойност 90,20 ng/ml)* и при група **„КИН с ХБЗ“** (*AUC 0,972; сензитивност 83,33% и специфичност 94,44% при референтна стойност 94,60 ng/ml).*

5. Сигнификантно повишение на плазмения НГАЛ в първите 4 часа след ангиографското изследване се доказва при още две групи - **„НГАЛ+“** и **„ХБЗ със субклинично ОБУ“**, а ROC анализа потвърждава диагностичната способност на биомаркера самостоятелно да идентифицира тези състояния, като изключително добра.

6. Лабораторната констелация при група **„изх ↑НГАЛ и динамика на БМ“** корелира с преренално остро бъбречно увреждане, настъпило преди ангиографското изследване, вероятно вследствие на променливи хемодинамични фактори.

7. Включването на структурния биомаркер НГАЛ към диагностичния панел доказва, че сред кохорта пациенти, подложени на ангиографско изследване е възможно много по-точно идентифициране на различни форми на ОБУ, кореспондиращи на новата концептулна рамка предложена от ADQI[262]

8. Влиянието и отражението на рисковите фактори и/или клиничен профил на пациентите върху нивото на бъбречната функция може да бъде обобщено в следните направления:

   - ✓ Наличието на ***захарен диабет 2 тип*** сред почти всички пациенти, превръща групите в представителни за особеностите на новия биомаркер при това заболяване и последващото влияние на контрастното вещество при такива условия.

   - ✓ Не се установява сигнификантна връзка между ***типа коронарна болест*** и регистрираните нива на НГАЛ, което позволява да направим извода, че биомаркера е с бъбречен произход и отразява основно процесите протичащи там.

   - ✓ При пациентите с ***придружаваща сърдечна недостатъчност*** всички отчетени нива на НГАЛ са сигнификантно по-високи спрямо лицата без такава патология, което може да се интерпретира като начално бъбречно увреждане, вследствие на хемодинамичните промени, характерни за кардиологичното заболяване.

   - ✓ При пациентите с ***ХБЗ***, но без развитие на КИН, плазмения НГАЛ корелира напълно с класификацията на KDIGO, демонстрирайки сигнификантно по-високи нива при напредналата форма на заболяването (*ХБЗ 3б стадий*).

   - ✓ Основния извод, до които достигаме е, че регистрирането на ***„изходно висок НГАЛ“*** сред част от пациентите, отразява самостоятелното или комбинирано въздействие на изброените рискови фактори и заболявания, и идентифицира „подмолно“ протичащи процеси на увреждане в бъбречните структури. Такива пациенти носят повишен риск и трябва да бъдат проследявани в бъдеще.

9. Анализа на научното изследване, дава възможност да се направи обобщение чрез въвеждане на собствена ***„скала за степените на бъбречно увреждане“ спрямо***

отчетените нива на плазмен НГАЛ, при пациенти с изходно запазена бъбречна функция и при пациенти с умерена форма на ХБЗ.

10. Прилагането на ***рисковата стратификация на Мехран*** в настоящето проучване доказва, че сред кохортата с *висок риск* настъпва по-често КИН и пациентите имат сигнификантно по-високи нива на серумен креатинин и плазмен НГАЛ спрямо групата с нисък риск.

11. Интегрирането на плазмения НГАЛ в скалата за ***риск от сериозна бъбречна дисфункция***, демонстрира сигнификантно отличаване на повече групи и измерва значително по-високо ниво на риска спрямо класическата оценка със серумен креатинин.

ПРИНОСИ

1. Теоретично-методологични приноси:

1.1. Представя се детайлизиран подход, спрямо който оценката на бъбречната функция при пациентите, подложени на контрастно ангиографско изследване се осъществява едновременно въз основа на регистрираните изходни нива и отчетените динамични промени в два вида биомаркери.

1.2. За първи път инкорпорирането на данните от функционален и структурен биомаркер към новата концептуална рамка за остро бъбречно увреждане предложена от Работната група по Качествена инициатива при остра диализа (ADQI) се описва в сферата на инвазивната кардиология.

1.3. Определя се научната релевантност при класифицирането на стандартна извадка спрямо новия биомаркер НГАЛ и се предлага собствена скала за оценка на степента на бъбречно увреждане.

1.4. Демонстрират се възможностите на нов подход за интегриране на плазмения НГАЛ в рисковата стратификация на пациентите, чрез прилагането му в рискова скала за оценка на сериозната бъбречна дисфункция.

1.5. Представя се сравнителен модел върху самостоятелната роля на всеки един от двата вида биомаркери (функционален и структурен) при оценката на бъбречната функция и нивото на риска сред пациенти, подложени на контрастно ангиографско изследване.

2. Научно-приложни приноси:

2.1. За първи път в България се демонстрира употребата на НГАЛ при контрастни ангиографски изследвания.

2.2. Доказва се ролята на НГАЛ като ранен биомаркер за диагностициране на КИН, както при пациенти със запазена бъбречна функция, така и при условията на хронично бъбречно заболяване.

2.3. Демонстрира се наличието на групи със субклинично остро бъбречно увреждане, независимо от степента на изходна бъбречна функция при пациенти, подложени на контрастно ангиографско изследване.

2.4. Установяват се различни референтни граници на плазмен НГАЛ спрямо стадия хронично бъбречно заболяване.

2.5. Демонстрира се влиянието на придружаващите заболявания и рискови фактори върху отчетените нива на НГАЛ.

2.6. Допълва се класическата скала за оценка на риска от развитие на контраст-индуцирана нефропатия, чрез съпоставянето й със структурния биомаркер.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

I. <u>Публикации в български и международни списания</u>

1. Гочева Н, Паскалева И, Василев Д, **Петрова И**; Контраст-индуцирана нефропатия. Health bg, Година XI, бр.1, февруари 2013:52-56
2. **Петрова И**., Д. Василев, Н. Гочева, И. Паскалева, Контрастно индуцирана нефропатия – патофизиологични механизми и методи за превенция. Медикарт Кардиология, брой 2, 2013: 53-6.
3. **Петрова И**. Промени в бъбречната функция след приложение на контрастни вещества и развитие на контраст-индуцирана нефропатия. Наука Кардиология, брой 2 (90), 2015, година XVI, стр.80-85.
4. **И. Петрова** и Е. Трендафилова. Контраст-индуцирана нефропатия – диагноза, превенция и клинично значение. Сърдечно-съдови заболявания, брой 3, 2015, година XLVI, стр. 9-25.
5. **Petrova I**. Early detection of Contrast-induced nephropathy with novel biomarker Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and renoprotective effects of different prophylaxis strategies. Bulgarian Medecine. Volume V, № 2, 2015: pages 4-16.
6. **Petrova I**, A. Alexandrov, H. Mateev, G. Vladimirov, A. Bankova, D. Vasilev, I.Paskaleva, N. Gotcheva. The role of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) for early detection of acute kidney injury in patients undergoing coronary angiography. Comptes rendus de l'Acad´emie bulgare des Sciences. Tome 70, No 2, 2017, pp 295-308.
7. **И. Петрова** и Н. Гочева. НГАЛ – нов биомаркер за диагностициране на Контраст-индуцирана нефропатия и други форми на остра бъбречна недостатъчност. Българска Кардиология, том XXIII, 2017, №2, стр. 5-13.
8. **И. Петрова**, Ал. Александров, Хр. Матеев, Г. Владимиров, Ал. Банкова, И. Богов, Д. Аврамов, Д. Василев, И. Паскалева и Н. Гочева. Изследване на остро бъбречно увреждане след коронарна ангиография с биомаркера неутрофил гелатиназа-асоциран липокалин. Българска Кардиология, том XXIV, 2018, № 3, стр. 46-55.

II. Глави от книги

1. **И. Петрова**. Контраст-индуцирана нефропатия. Във „Факти, противоречия, дебати в диагностиката и лечението на сърдечните и съдовите заболявания 2015” под редакция на доц. Б. Георгиев; издателство Арбилис 2016, стр.497-542.
2. **И. Петрова**. Контраст-индуцирана нефропатия през погледа на кардиолога. В „Кардиоренален синдром“ под редакцията на проф. Б. Богов и проф. Б. Георгиев; издателство Арбилис 2019, стр.205-250.

III. Участия с публикувани абстракти в конгреси – български и международни

1. **Петрова И**, Д. Василев, А. Александров, Хр.Матеев, И. Паскалев и Н.Гочева, NGAL – нов ранен маркер за регистрация на промени в бъбречната функция при пациенти, подложени на инвазивно ангиографско изследване, Българка кардилогия, Приложение 1, Том XIX, 2013: 9.
2. Paskaleva I, **I Petrova**, N. Gotcheva, M. Hazan, M.Ganeva, J.Georgieva. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalcin (NGAL) – An early marker of contrast-induced nephropathy in patients following diagnostic and interventional cardiological procedures with contrast media administration. EuroMedLab, Milano 2013, M296, page 126.
3. **Petrova I**., A. Alexandrov, H. Mateev, G. Vladimirov, E. Trendafilova, E. Kostova, I. Bogov, N. Gotcheva. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) for the early detection of contrast-induced acute renal injury after percutaneous coronary intervention. Poster`s Session. VI Congress Southeast European Medical Forum. Odesa, 9-12 september, 2015.
4. **Петрова И**, Ал. Александров, Хр. Матеев, Г. Владимиров, Ал. Банкова, Д. Василев, И. Паскалева, Н. Гочева. Оценка на бъбречната функция при пациенти, подложени на коронарна ангиография с нов биомаркер Неутрофил Гелатиназа-Асоцииран Липокалин. XV Национален конгрес по кардиология. Българска Кардиология, приложение 6, том XXII, 2016: стр.56-57.
5. **Petrova I**, A Alexandrov, H Mateev, G Vladimirov, A Bankova, E Trendafilova, D Vasilev, I Paskaleva and N. Gocheva. Evaluation of kidney function with new biomarker neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients undergoing coronary angiography. European Heart Journal Acute Cardiovascular Care 2016; 5: page 64.
6. **Petrova I**, H. Mateev, A. Alexandrov, G. Vladimirov, D. Vassilev, I. Paskaleva, N. Gotcheva, V. Gelev. TCT-385 The role of Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) for evaluation of kidney function in patients undergoing coronary angiography. Journal of the American College of Cardiology, vol.68, no 18, suppl. B, 2016: B156-157.
7. **Petrova I**, A. Alexandrov, H. Mateev, G. Vladimirov, A. Bankova, D. Avramov, I. Bogov, I. Paskaleva, B. Georgiev, E. Trendafilova, D. Vasilev, N. Gotcheva. Detection of contrast-induced nephropathy in patients undergoing coronary angiography with Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). Abstract Book Europrevent 2018, European Journal Of Preventive Cardiology - Volume 25 - Supplement 2, S 114.

Б Л А Г О Д А Р Н О С Т И

Изказвам най-искрена благодарност към моя научен ръководител проф. д-р Н. Гочева за предоставените възможности за професионално и научно развитие, за огромната помощ на всеки един етап от реализирането на научното изследване, за мъдрите съвети и ценни насоки в подготовката на целия дисертационен труд! Изпитвам дълбока признателност за получената емоционална подкрепа в моменти на затруднение, висок професионализъм и вдъхновяващ личен пример!

Благодаря на научния ми ръководител проф. д-р Б. Богов, който с критичните си въпроси, винаги провокираше размисъл в мен, променяше посоката на научното ми познание и допринесе много за подобряването на дисертационния ми труд!

Благодаря на проф. д-р И. Паскалева, която прегърна една иновативна идея още през 2012 година, въвеждайки лабораторното тестване на новия биомаркер за първи път в България и оказа значителен принос при реализирането на научното изследване!

Изказвам благодарности към целия екип от Отделението по Клиничната Лаборатория и особено към химик Юлия Паскалева, за високия професионализъм при техническото обработване на тестовете за НГАЛ!

Завършването на научното проучване нямаше да е възможно без неоценимата помощ на д-р И. Богов, д-р Д. Аврамов, м.с. П. Вибек и м.с. Р. Михайлова, за което искрено им благодаря!