



**РЕПУБЛИКА СЕВЕРНА МАКЕДОНИЈА
УНИВЕРЗИТЕТ
„СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ” – СКОПЈЕ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**

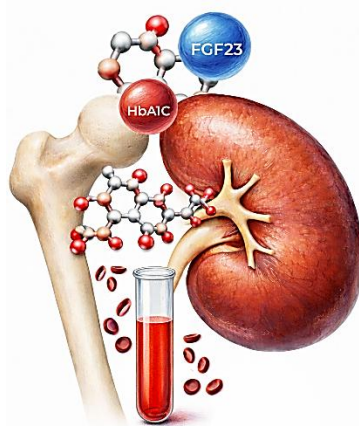


Д-р Наташа М. Недеска Минова

специјалист интернист

супспецијалист дијабетолог

**АСОЦИРАНОСТ НА FGF23 СО МИКРОВАСКУЛАРНИТЕ
И МАКРОВАСКУЛАРНИТЕ КОМПЛИКАЦИИ,
КОСКЕНО-МИНЕРАЛНИОТ МЕТАБОЛИЗАМ И СО
СТЕПЕНОТ НА БУБРЕЖНОТО ОШТЕТУВАЊЕ КАЈ
ПАЦИЕНТИ СО ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУС ТИП 2 ВО
РАНИОТ СТАДИУМ НА ХРОНИЧНАТА БУБРЕЖНА
БОЛЕСТ**



**- Докторски труд -
Скопје, 2026**



**REPUBLIC OF NORTH MACEDONIA
„SS. CYRIL AND METHODIUS”
UNIVERSITY IN SKOPJE
MEDICAL FACULTY**



D-r Natasha M. Nedeska Minova

Specialist of internal medicine

Subspecialist of diabetology

**ASSOCIATION OF FGF23 WITH MICROVASCULAR AND
MACROVASCULAR COMPLICATIONS, BONE MINERAL
METABOLISM AND DEGREE OF RENAL IMPAIRMENT
IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND
EARLY-STAGE CHRONIC KIDNEY DISEASE**

- Doctoral Dissertation -

Skopje, 2026

*Докторската дисертација им ја посветувам на
моите деца
Софија и Костадин*

*- ...Вие сте тие што со сопствените фантазии, мисли,
идеи и дела ќе ја создавате иднината....*

- Мама

Благодарност

Оваа докторска дисертација се работеше во ГОБ „8 Септември“ - Скопје, во соработка со Институтот за медицинска и експериментална биохемија.

Огромна благодарност му упатувам на мојот ментор, **проф. д-р Гоце Спасовски**, за неговата трпеливост во целиот процес, за несебичната поддршка и активното учество во изработката и пишувањето на дисертацијата, како и за конструктивните забелешки и критики во текот на работата. Ми беше огромна чест да соработувам и учам од човек и професор како него.

Им изразувам благодарност на членовите на Комисијата за одбрана на докторската дисертација: **проф. д-р Славица Шубевска Стратрова**, **проф. д-р Искра Битоска Милева**, **проф. д-р Саиша Јовановска Мишевска** и **проф. д-р Ирена Костовска** за нивната поддршка и стручна соработка.

Посебна благодарност упатувам за иницијаторот на мојата академска надградба, сега покоен **прим. д-р Љубинко Трпеновски**, како и на **проф. Д-р Саишо Стојчев** чие инсистирање, поддршка и мотивација беа клучни за моето влегување во овој процес.

Благодарност му изразувам и на целокупниот персонал на ГОБ „8 Септември“ – Скопје, особено до: **д-р. сци. Наташа Петковиќ** – спец. кардиолог, **проф. д-р Галина Димитрова** – спец. офталмолог, **Анкица Поп-Костова** - сци. дипл. биохем., кои одвоија значително време и вложија голем труд во реализацијата на дијагностичките процедури.

Благодарност до колегите од Одделението за ендокринологија и дијабетес за нивната помош и разбирање, особено до медицинските сестри од амбулантата за ендокринологија и дијабетес без чија помош во техничката обработка на пациентите и материјалите, ова дело не ќе можеше да се реализира.

Благодарност за **Елеонора Попетреска**, **Александра Радеска** и **д-р Цветанка Волкановска Илијевска** за дадената техничка поддршка, помош и креативните идеи кои ги споделија со мене во текот на изработката на трудот.

На крајот, со посебна емотивна благодарност им се обраќам на мојот татко **Мирослав** и на мојата покојна мајка **Благородна**, кои веруваа дека можам СЕ. Благодарност до мојот сопруг **Влатко**, ќерката **Софија** и синот **Костадин**, мојата сестра **Билјана**, фамилијата **Недески** и фамилијата **Минови**, за разбирањето и за поддршката што ми ја даваа во сите овие години. Со нивната верба и поддршка моите сонини, идеи и цели стануваат остварливи.

Ментор:

Проф. д-р Гоце Спасовски

Медицински факултет – Скопје

Членови на комисијата за одбрана на докторската дисертација:

Проф. д-р Славица Шубевска Статрова, Медицински факултет – Скопје

Проф. д-р Гоце Спасовски, Медицински факултет – Скопје

Проф. д-р Искра Битоска Милева, Медицински факултет - Скопје

Проф. д-р Саша Јовановска Мишевска, Медицински факултет - Скопје

Проф. д-р Ирена Костовска, Медицински факултет - Скопје

Членови на комисијата за оценка на докторската дисертација:

Проф. д-р Славица Шубевска Статрова, Медицински факултет – Скопје

Проф. д-р Гоце Спасовски, Медицински факултет – Скопје

Проф. д-р Искра Битоска Милева, Медицински факултет - Скопје

АБСТРАКТ

АСОЦИРАНОСТ НА FGF23 СО МИКРОВАСКУЛАРНИТЕ И МАКРОВАСКУЛАРНИТЕ КОМПЛИКАЦИИ, КОСКЕНО-МИНЕРАЛНИОТ МЕТАБОЛИЗАМ И СО СТЕПЕНОТ НА БУБРЕЖНОТО ОШТЕТУВАЊЕ КАЈ ПАЦИЕНТИ СО ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУС ТИП 2 ВО РАНИОТ СТАДИУМ НА ХРОНИЧНАТА БУБРЕЖНА БОЛЕСТ

Вовед. Дијабетес мелитус тип 2 (ДМТ2) често води кон хронична бубрежна болест (ХББ), а традиционалните биомаркери не ги детектираат раните тубуло-интерстицијални и минерално-метаболни нарушувања. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) се издвојува како потенцијален рано активиран биомаркер. Целта беше да се испита неговата асоцираност со микроваскуларните и макроваскуларните компликации, коскено-минералниот метаболизам и со степенот на бубрежната дисфункција.

Метод. Во пресечна студија, 106 пациенти со ДМТ2 и еГФР 45–70 ml/min/1.73m² беа евалуирани за нефропатија, ретинопатија, периферна и каротидна атеросклероза и во однос на коскено-минералниот метаболизам.

Резултати. Средната вредност на FGF23 беше 118.67 pg/ml. ROC анализата покажа одлична дискриминаторска моќ за рана ХББ (eGFR 45-70мл/мин/1,73м²) (AUC=0.987; cut-off 69.5 pg/ml). FGF23 силно негативно корелираше со eGFR, но не и со албуминуријата, односно беше значајно повисок кај пациентите со дијабетична нефропатија. Не беше поврзан со структурни промени кај ретинопатијата и макроваскуларните лезии.

Очекувано, FGF23 беше сигнификантно повисок кај пациентите со нарушен коскено-минерален метаболизам и корелираше со РТН и фосфорот. Дополнително, корелираше со креатининот, CRP и холестеролот, а имаше и негативна асоцираност со хемоглобинот, независно од еГФР. Метформинот беше единствениот терапевтски фактор поврзан со пониски вредности на FGF23.

FGF23 беше независен предиктор за нефропатија, а повисоките вредности беа независно асоцирани со пониската eGFR.

Заклучок. FGF23 претставува рано активиран, интегративен биомаркер, кој ги одразува реналната дисфункција и минералните нарушувања, со силна предиктивна вредност за детекција на рана ХББ. Неговото отсуство на асоцијација со структурните васкуларни и коскени промени укажува дека има најголема клиничка улога во раната идентификација и ризик-стратификација, пред развојот на морфолошките оштетувања.

Клучни зборови: FGF23, дијабетес мелитус тип 2, хронична бубрежна болест, микроваскуларни/макроваскуларни компликации, коскено-минерален метаболизам

ABSTRACT

ASSOCIATION OF FGF23 WITH MICROVASCULAR AND MACROVASCULAR COMPLICATIONS, BONE-MINERAL METABOLISM AND DEGREE OF RENAL IMPAIRMENT IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS AND EARLY-STAGE CHRONIC KIDNEY DISEASE

Background. Type 2 diabetes mellitus (T2DM) frequently leads to chronic kidney disease (CKD), while traditional biomarkers often fail to detect early tubulointerstitial and mineral–metabolic disturbances. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) has emerged as a potential early-activated biomarker. The aim of this study was to investigate its association with microvascular and macrovascular complications, bone–mineral metabolism, and the degree of renal dysfunction.

Methods. In this cross-sectional study, 106 patients with T2DM and an estimated glomerular filtration rate (eGFR) of 45–70 mL/min/1.73 m² were evaluated for diabetic nephropathy, retinopathy, peripheral and carotid atherosclerosis, and parameters of bone–mineral metabolism.

Results. The mean FGF23 concentration was 118.67 pg/mL. Receiver operating characteristic (ROC) analysis demonstrated excellent discriminatory ability for early CKD (AUC = 0.987; cut-off value 69.5 pg/mL). FGF23 showed a strong negative correlation with eGFR but not with albuminuria and was significantly higher in patients with diabetic nephropathy. No significant association was observed with structural changes related to retinopathy or macrovascular lesions.

As expected, FGF23 levels were significantly higher in patients with disturbed bone–mineral metabolism and correlated with parathyroid hormone (PTH) and serum phosphate. Additionally, FGF23 correlated with creatinine, C-reactive protein (CRP), and cholesterol, and showed a negative association with hemoglobin levels, independent of eGFR. Metformin was the only therapeutic factor associated with lower FGF23 concentrations. FGF23 was identified as an independent predictor of diabetic nephropathy, and higher levels were independently associated with lower eGFR.

Conclusion. FGF23 represents an early-activated, integrative biomarker that reflects renal dysfunction and mineral–metabolic disturbances, with strong predictive value for the detection of early CKD. Its lack of association with structural vascular and skeletal changes suggests that FGF23 plays a particularly important clinical role in early identification and risk stratification, preceding the development of overt morphological damage.

Keywords: FGF23, type 2 diabetes mellitus, chronic kidney disease, microvascular and macrovascular complications, bone–mineral metabolism

СОДРЖИНА

1. ВОВЕД	1
1.1 Дијабетес мелитус тип2 (ДМТ2)	1
1.2 Хронична бубрежна болест	3
1.3 Микроваскуларни компликации кај ДМТ2 и ХББ во ран стадиум	6
1.3.1 Дијабетична нефропатија (ДН)	7
1.3.2 Дијабетична ретинопатија (ДР)	8
1.4 Макроваскуларни компликации кај ДМТ2 и ХББ во ран стадиум	10
1.4.1 Периферна артериска болест (ПАБ)	11
1.5 Нарушување на коскено-минералниот метаболизам кај ДМТ2 и ХББ	13
1.6 Биомаркери за одредување на степен на бубрежното оштетување кај индивидуи со ДМТ2	17
1.6.1 Биомаркери во сегашната клиничка пракса	17
1.6.2 Fibroblast Growth factor 23 (FGF23)	18
1.6.3 FGF23 кај ДМТ2 со ран стадиум на ХББ	21
1.6.4 FGF23 и CKD-MBD – улога, последици и клинички импакт	21
1.6.5 Врска помеѓу FGF23 и ДМТ2	22
1.6.6 FGF23 како биомаркер на проширен кардиоренален ризик	22
2. МОТИВ ЗА ИСТРАЖУВАЊЕТО	25
3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО	26
4. ХИПОТЕЗИ НА ДОКТОРСКАТА СТУДИЈА	27
5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ	28
5.1 Дизајн на студијата	28
5.2 Испитувана популација	29
5.3 Критериуми за вклучување	29
5.4 Исклучувачки критериуми	29
5.5 Методологија на клинички, лабораториски и инструментални испитувања	31
5.5.1 Клинички испитувања	32
5.5.2 Лабораториски материјали и методи	33
5.5.3 Ултрасонографски преглед (доплер) на каротидни артерии	38
5.5.4 Остеоденситометрија (Dual-Energy X-ray Absorptiometry – DEXA)	40
5.5.5 Офталмолошки преглед	41
5.5.6 Статистичка анализа на податоци	42
6. РЕЗУЛТАТИ	43
7. ДИСКУСИЈА	97
7.1 Предиктивна вредност на FGF23	98
7.2 Асоцираност на FGF23 со демографските параметри кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ	99
7.3 Асоцираност на FGF23 со степенот на бубрежно оштетување кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ	101
7.4 Асоцираност на FGF23 со микроваскуларните компликации кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ	105
7.5 Асоцираност на FGF23 со дијабетична нефропатија	106
7.6 Асоцираност на FGF23 со дијабетична ретинопатија	108
7.7 Асоцираност на FGF23 со макроваскуларните компликации кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ	110

7.8 Асоцираност на FGF23 со коскено-минералниот метаболизам кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ	114
7.9 Асоцијација на FGF23 со третманот	118
7.10 Потенцијалот на FGF23 како дел од клинички релевантен панел.....	120
7.11 Интегративна синтеза на наодите.....	121
7.12 Силни страни на истражувањето	122
7.13 Ограничувања на истражувањето.....	124
6. 8. ЗАКЛУЧОК.....	125
7. 9. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА.....	126

ЛИСТА НА КОРИСТЕНИ КРАТЕНКИ

FGF23 – Fibroblast Growth Factor 23 – Фибробластен фактор на раст 23

ДМ – Диабетес Мелитус

DMT2 - DM2 – Diabetes Mellitus Type 2 – Дијабетес мелитус тип 2

DMT1 - DM1 – Diabetes Mellitus Type 1 – Дијабетес Мелитус тип 1

ADA– American Diabetes Association

MODY – Maturity-Onset Diabetes of the Young

ХББ - Хронична бубрежна болест

eGFR – Estimeted Glomerular Filtration Rate- калкулирана гломеруларна филтрациона рата

PTH - PTH – ParaThyroid Hormone – паратиroidен хормон

ДН – Дијабетична нефропатија

ЕСРД – ESRD- End Stage Renal Disease – Терминална бубрежна слабост

CKD-MBD – Chronic Kidney Disease- Mineral and Bone Disorder- ХББ индуцирани коскено-минерални нарушувања

UACR – Urinary Albumin Creatinine Ratio- албумин/креатинин сооднос во урина

KDIGO – Kidney Disease: Improving Global Outcomes

1.25(OH)2D – 1.25, dihydroxyvitamin D – активен витамин Д

ДР – Дијабетична ретинопатија

AGEs – Advanced Glycation End-products – крајни продукти на гликација

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor- васкуларен ендотелен фактор за раст

TNF-alfa – Tumor Necrotising Factor alfa – туморски фактор на раст алфа

НПДР - Непролиферативна дијабетична ретинопатија

ПДР - Проплиферативна дијабетична ретинопатија

ОСТА - Optical Coherence Tomography Angiography

IMT – Intima media thicknes

ПАБ – Периферна Артериска Болест

ПАБДЕ- Периферна Артериска Болест на Долни Екстремитети

ЕКБ- Екстракранијална Каротидна Болест

ABI - Ankle Brachial Index - Индекс на односот помеѓу притисокот на глуждот и надлактицата

КВ – Кардио-васкуларни

КМ – коскено-минерални

АЛП –ALP- Alkaline Phosphatase– Алкална фосфатаза

ДЕКСА - DEXA - Dual-Energy X-ray Absorptiometry – Остеодензитометрија

BMD- Bone Mineral Density – коскено-минерална густина

FRAX - Fracture Risk Assessment Tool – калкулација за проценка на десет годишен ризик од остеопоротични фрактури

CKD-EPI - Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration - формула за пресметка на еГФР

MDRD - Modification of Diet in Renal Disease - формула за пресметка на еГФР

CYP27B1 - Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1 – ген кој ја кодира 1 α -хидроксилазата, клучниот ензим за синтеза на активниот витамин Д.

CYP27A1 - Cytochrome P450 Family 27 Subfamily A Member 1 – ген кој ја кодира стерол 27-хидроксилазата, ензим вклучен во метаболизмот на холестеролот и синтезата на жолчни киселини

NaPi-IIa – Natrium –Phosphate ко-транспортер тип 2a

NaPi-IIc- Natrium –Phosphate ко-транспортер тип 2c

NaPi-IIb- Natrium –Phosphate ко-транспортер тип 2b

LVH – Left Ventricular Hypertrophy –Лево-вентрикуларна хипертрофија

FGFR4 – Fibroblast Growth factor Receptor4 – Рецептор 4 за фибробластен фактор на раст

PREVEND -Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease – име на популациска студија

ARIC - Atherosclerosis Risk in Communities – име на популациска студија

CRIC - Chronic Renal Insufficiency Cohort Study – име на популациска студија

KPM – кардио-рено-метаболен

ELISA – Enzyme-linked immunoabsorbent assay – Ензимски врзана имуноадсорбирачка метода

HbA1C – Glycosilated Haemoglobin type A1c – гликолизиран хемоглобин тип A1c

BMI – Body Mass Index – Индекс на телесна маса

ДПП-4 - DPP4 - Dipeptidyl Peptidase-4 – ензим вклучен во процесот на гликорегулација

NHLBI - National Heart, Lung, and Blood Institute – Национален институт за срце, бели дробови и крв при NIH (National Institute of Health, USA).

ХДЛ – HDL – High Density Lipoproteins – липопротеини со висока густина

ЛДЛ – LDL – Low Density lipoproteins – липопротеини со ниска густина

AST- Aspartate aminotransverase – АСТ -Аспартат амниотрансфераза

ALT – Alanine Aminotransferase АЛТ - Аланин аминотрансфераза

ЦРП- CRP -C Reactive Protein – Ц реактивен протеин

Er – Eritrocites - еритроцити

Tr – Trombocytes - тромбоцити

Hgb – hemoglobin- хемоглобин

Le – Leukocytes - леукоцити

TINIA – Turbidimetric Inhibition ImmunoAssay – турбидиметриска инхибициска имуноанализа

ASE - American Society of Echocardiography – Американска асоцијација за ехокардиографија

ACC/AHA - American College of Cardiology / American Heart Association – водечки кардиолошки институции кои ги дефинираат современите препораки за кардиоваскуларна превенција, ризик-стратификација и третман

ETDRS табла -Early Treatment Diabetic Retinopathy Study chart - стандардизиран метод за проценка на видна острина

SU – Sulfonilurea - Сулфонилуреа

SGLT2 - Sodium–Glucose Co-Transporter 2 – натриум-глукозен котранспортер тип 2

GLP-1 RA -Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists – агонисти на рецепторот за глукагон-сличен пептид-1

ACE/ARB –Angiotensin Converting Enzymes inhibitors / Angiotensin II Receptor Blockers – лекови кои делуваат врз ренин-ангиотензин-алдостеронскиот систе

1 ВОВЕД

1.1 Дијабетес мелитус тип2 (ДМТ2)

Дефиниција

Дијабетес мелитус претставува хронично метаболно, мултисистемско заболување кое се карактеризира со перзистентна хипергликемија како резултат на нарушена инсулинска регулација. Долготрајната хипергликемија доведува до структурни и функционални оштетувања на повеќе органи и системи и е поврзана со развој на сериозни микроваскуларни (ретинопатија, нефропатија и невропатија) и макроваскуларни компликации (коронарна болест, периферна артериска болест, церебро-васкуларни инциденти) [1,2].

Класификација

Според современата класификација, се разликуваат три главни типа на дијабетес мелитус:

- тип 1 дијабетес – автоимуна деструкција на бета-клетката на панкреасот со дефинитивен недостаток на инсулин;
- тип 2 дијабетес – најзастапена форма на дијабетес (над 90%), карактеризиран со инсулинска резистенција и прогресивна бета-клеточна дисфункција;
- гестациски дијабетес - хипергликемија што се јавува због текот на бременоста;
- Други специфични форми на дијабетес: моногенетски дефекти (MODY), болести на екзокриниот панкреас, ендокринопатии што влијаат врз метаболизмот на гликозата, медикаментозно индуциран дијабетес и др. [3].

Современите дефиниции го третираат дијабетес мелитус тип 2 (ДМТ2) како кардиометаболно заболување со комплексен фенотип, кај кое генетските фактори, инсулинската резистенција, хроничното воспаление, ексцесивната акумулација на

масно ткиво (особено висцерално), хепаталниот метаболизам, нарушеното дејство на инкретините и бета-клеточната дисфункција придонесуваат за неговата прогресија. [3]

Епидемиологија

Во последните три децении, преваленцата на ДМТ2 бележи континуиран пораст на глобално ниво. Според Светската здравствена организација (СЗО) и Меѓународната дијабетес федерација (IDF, 2023), денес, во светот повеќе од 537 милиони возрасни лица живеат со дијабетес, над 90% се со ДМТ2, а проекциите укажуваат дека до 2045 година бројот ќе надмине 780 милиони. Најбрзиот раст е во земјите со низок и среден економски развој [1,2].

Според податоците на СЗО (2024), дијабетесот претставува една од десетте водечки причини за смртност во светот, со околу 1,5 до 1,6 милион смртни случаи годишно. Над 70% од вкупната смртност под 70-годишна возраст се должи на некаков облик на дисгликемија [1].

Кардиоваскуларните заболувања се водечка причина за смртност кај пациентите со ДМТ2. Околу 65% од пациентите умираат од кардиоваскуларни инциденти [4,5]. Типичниот дијабетичен фенотип вклучува: артериска хипертензија (60-80%), дислипидемија, хронична инфламација, зголемена склоност кон атеросклероза [3,4].

Од аспект на бубрежните компликации, дијабетичната нефропатија (ДН) е водечка причина за хронична бубрежна болест (ХББ) и за терминална бубрежна слабост – (ESRD-End Stage Renal Disease). Статистичките податоци покажуваат инциденца од 20-40% кај пациентите со ДМТ2, 30-50% од сите пациенти со ХББ се асоцирани со ДМТ2 и е најчеста етиологија за трансформација кон ESRD во светот [6].

Кај пациенти со ДМТ2 се развива постепено - од микроалбуминурија, преку редукција на eGFR, до манифестна нефропатија и компликации од спектарот на Chronic Kidney Disease – Mineral Bone Disease (CKD-MBD) [6].

Во последните години ДМТ2 се третира како хронична воспалителна мултисистемска болест, со доминација на васкуларното оштетување, микро- и макроваскуларно. Инсулинската резистенција го нарушува метаболизмот на гликоза, липиди и на протеини, се активираат инфламаторни цитокини, се нарушува ендотелната функција, се забрзува артериското ремоделирање и се влошува фосфатниот метаболизам уште во рана ХББ [3].

Овие механизми се критични, бидејќи директно се поврзуваат со раното зголемување на FGF23, кој претставува значаен дел од CKD-MBD. Со оглед на тоа дека ДМТ2 претставува најзначаен ризичен фактор за развој на ХББ и дека раната фаза на бубрежната дисфункција често е субклиничка, од суштинско значење е детално да се разгледа заемната поврзаност меѓу ДМТ2, раната ХББ и коскено-минералниот метаболизам, вклучувајќи го и FGF23 како клучен биомаркер за нивната рана интеракција.

1.2 Хронична бубрежна болест

Дефиниција на ХББ

Хроничната бубрежна болест (ХББ) е незаразна болест, настаната како последица на бубрежно оштетување и намалена бубрежна функција со $eGFR < 60 \text{ мл/мин/1,73 м}^2$, која перзистира најмалку 3 месеци, без оглед на причината што ја предизвикува. За да дефинираме ХББ, потребно е да има минимум еден маркер на бубрежно оштетување и намалена $eGFR$ [11, 114].

KDIGO 2024 препорачува трикомпонентен класификациски модел („C–G–A“):

C – Причина (Cause): Основна етиологија на болеста,

G – Категорија според $eGFR$ (G1-G5),

A – Категорија според албуминурија (A1-A3).

Оваа класификација овозможува прецизна индивидуализирана процена на ризик, прогноза на исходи и приспособување на терапијата, особено важно во време на нови нефроропротективни терапии [10].

Епидемиологија

Хроничната бубрежна болест (ХББ) претставува значаен глобален здравствен проблем, со постојано растечка преваленца и смртност во последните три децении. Оваа болест покажува јасен растечки тренд и е меѓу најбрзо растечките причини за глобална смртност [6].

Според податоците од 2017 година, преваленцата на ХББ изнесува 9,1% (проценета во 195 земји) и тоа 5,0% во 1-2 стадиум, 3,9% во 3 стадиум, 0,16% во 4 стадиум, 0,07% во 5 стадиум, 0,041% на хронична хемодијализа и 0,011% со трансплантиран бубрег [7].

Иако старосно стандардизираната преваленца останува релативно стабилна, бројот на пациенти со терминална бубрежна слабост е драматично зголемен. Инциденцата на пациенти на дијализа, пораснала за 43,1%, бројот на пациенти со трансплантација е зголемен за 34,4%, смртноста поврзана со ХББ е зголемена за 41,5%, со што ХББ се искачи од 17-та на 12-та водечка причина за смрт во светот [6].

Во 2021 година, 1.53 милион лица починале од болести на бубрезите, а дополнителни 1,4 милион смртни случаи од кардиоваскуларни заболувања ѝ се припишуваат на нарушена функција на бубрезите. ХББ и нејзините кардиоваскуларни последици сочинуваат 4,6% од глобалната смртност [6,8].

Овие податоци ја реafirмираат ХББ како „тивок убиец“ – болест со тивка прогресија, чиј товар значајно ќе се зголемува поради стареењето на населението, како и поради експанзијата на дијабетесот и хипертензијата како водечки ризик-фактори.

Етиологија на ХББ

Причините за ХББ се разновидни, но доминираат метаболните и васкуларните заболувања. Најчести етиологии се ДМТ2 - 30-50%, артериска хипертензија - 27 %, примарен гломерулонефритис - 8 %, дијабетес мелитус тип 1(ДМТ1) - 4 % и др. [9].

ДМТ2 и ХТА не се само етиолошки фактори, туку и прогресивни акцелератори на бубрежната дисфункција, што е од особена важност за нивното рано детектирање и насочена интервенција.

Маркери на бубрежно оштетување

Постојат повеќе начини за дефинирање на бубрежното оштетување, кое може да се манифестира преку:

- перзистентна албуминурија $\geq 30 \text{ mg}/24 \text{ h}$ или Urinary Albumin Creatinine Ratio (UACR) $\geq 30 \text{ mg/g}$ во утрински примерок;
- абнормален уринарен седимент;
- електролитни или други абнормалности во склоп на тубуларна болест;
- патохистолошки детектиран наод на бубрежно оштетување;
- структурни промени на бубрегот прикажани со разни имиџинг техники;
- историја за трансплантиран бубрег [9,10].

Во клиничката пракса најчесто се одредува индиректно со помош на маркери за бубрежно оштетување, а многу поретко преку хистолошка анализа на ткивото.

Албуминуријата е најчесто користен и најдобро валидиран маркер за бубрежно оштетување, но не и најсензитивен и најспецифичен маркер. Се јавува рано во текот на ХББ дури и пред намалувањето на eGFR и директно корелира со степенот на гломеруларно оштетување [10]. Претставува силен прогностички фактор за кардиоваскуларна и вкупна смртност.

Иако се користи како златен стандард во клиничката пракса, сепак има значајни ограничувања. Овој маркер не е доволно сензитивен, не се јавува кај сите фенотипови на ДМТ2 и ХББ, честопати е под влијание на различни други, неповрзани клинички состојби (инфекции, физичка активност, гликемиска варијабилност) [10]. Покрај албуминуријата, и eGFR е значаен маркер за следење на прогресијата на бубрежното оштетување, но и тој има одредени и значајни ограничувања. eGFR не ја детектира раното тубуло-интерстициелно оштетување, има висока биолошка варијабилност поради зависноста од вредноста на креатининот, чијашто вредност зависи од фактори

неповрзани со основната болест, не го предвидува кардиореналениот ризик, не е доволно сензитивен итн.

Овие ограничувања ја наметнуваат потребата од нови, посензитивни биомаркери за рана детекција, предикција на прогресија и следење на терапевтскиот одговор кај пациентите со ХББ.

Меѓу нив е FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23), многу важен фосфат-регулаторен хормон, кој се смета за исклучително чувствителен биомаркер на нарушувања во минералниот метаболизам, особено кај хронична бубрежна болест. Тој се создава во остеоцитите во услови на пораст на фосфатите во крвта, високо ниво на активен витамин Д ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) или при воспаление и ХББ, кај кое се обединуваат претходно наведените состојби. Има улога во намалување на серумскиот фосфат преку зголемена бубрежна екскреција и инхибиција на синтезата на витамин Д. Во најрана фаза на ХББ, FGF23 се зголемува уште пред да се воочи пад на eGFR и пред да се зголеми нивото на РТН, поради што е ран индикатор за нарушен минерален метаболизам. Тој бележи зголемување пред хиперфосфатемијата и често уште во стадиум на G2-3A. Ова го прави исклучително вреден за рана идентификација на пациенти со висок ризик, прогноза на прогресија на ХББ и за поврзување со кардиоваскуларни (КВ) и коскено-минерални (КМ) исходи [10].

1.3 Микроваскуларни компликации кај ДМТ2 и ХББ во ран стадиум

Микроваскуларните компликации претставуваат едни од најраните и најспецифичните последици на долготрајна хипергликемија кај ДМТ2. Нивната појава е резултат на нарушена авторегулација, оксидативен стрес, воспаление, ендотелна дисфункција и промени во микроциркулацијата [3,11].

Во контекст на ДМТ2 со рана ХББ, развојот на микроваскуларни компликации е забрзан и тесно поврзан поради нивното меѓусебно дополнување. Двете најрепрезентативни микроваскуларни состојби се дијабетичната нефропатија и дијабетичната ретинопатија [10,12,13]

1.3.1 Дијабетична нефропатија (ДН)

Дијабетичната нефропатија е глобално водечка причина за развој на ХББ и претставува најзначаен микроваскуларен исход кај пациентите со ДМТ2 [3,7,9]. Се карактеризира со прогресивно оштетување на гломеруларната филтрација, појава на албуминурија и постепено намалување на eGFR и е асимптоматска во раните фази [7,9].

Патофизиологијата на ДН е комплексен и мултифакторски процес, кој започнува рано во текот на ДМТ2. Хроничната хипергликемија доведува до гломеруларна хиперфилтрација, аферентна артериоларна дилатација и зголемен интрагломеруларен притисок, што постепено го оштетува гломеруларниот филтрациски апарат. Натрупувањето на advanced glycation end-product (AGEs), оксидативниот стрес и активирањето на воспалителни и фибротични медијатори ја забрзуваат загубата на подоцити, што претставува клучен чекор во транзицијата од микроалбуминурија кон манифестна нефропатија. Ендотелната дисфункција го нарушува интегритетот на микроваскуларната циркулација, а тубуло-интерстицијалните промени (особено оштетувањето на проксималните тубули), играат значајна улога во задржувањето на фосфатот и раните нарушувања на коскено-минералниот метаболизам. Овие процеси се јавуваат пред појавата на хиперфосфатемијата и пред порастот на ПТХ, што делумно го објаснува раното зголемување на FGF23 кај дијабетичните пациенти, дури и во стадиум на G2-G3a [12].

Дијабетичната нефропатија, според современите критериуми на ADA/KDIGO, најчесто е дијагностицирана клинички, врз основа на позната историја за дијабетес, перзистентна албуминурија ≥ 300 mg/24 часа, прогресивно опаѓање на eGFR и отсуство на клинички и лабораториски знаци за друга примарна нефропатија [3,10,12].

Иако биопсија е златен стандард за дефинитивна дијагноза, во најголем број случаи дијагнозата се поставува врз основа на клиничките параметри.

Голям број од пациентите со ДМТ2 веќе имаат почетна нефропатија во моментот на дијагностицирање на дијабетесот, што укажува на постоење субклиничка,

долготрајна фаза на бубрежно оштетување уште пред поставување на дијагнозата дијабетес [3,12].

ДН типично е асоцирана со дијабетична ретинопатија кај пациентите со ДМТ1, додека кај пациентите со ДМТ2 може да се јави и изолирано без ретинопатија [3,12].

1.3.2 Дијабетична ретинопатија (ДР)

Дијабетичната ретинопатија е најчестата очна компликација на дијабетесот и е водечка причина за слепило од нетрауматска природа кај работоспособното население. Претставува прогресивно микроваскуларно заболување на ретината, предизвикано од хипергликемија, оксидативен стрес и нарушена ретинална перфузија [13,14].

Преваленцата на ДР кај пациентите со ДМТ2 се движи меѓу 25-40%, во зависност од скрининг методот, возраста, траењето на дијабетесот, географското подрачје и етничката припадност [13,14]. Делови од скандинавскиот регион реферираат ниска стапка на ДР околу 5% и тоа е најверојатно последица на субдијагностицираност [15].

Во 2020 година, околу 103 милиони лица со ДМ глобално имале ДР, а проценките сугерираат дека овој број ќе се зголеми на 160 милиони до 2045 година [16].

ДР настанува како резултат на комплексна комбинација од метаболни, хемодинамски и воспалителни механизми. Хипергликемијата ја нарушува функцијата на перицитите - клетки што ја стабилизираат ретиналната капиларна мрежа - што води кон слабеење на капиларните сидови и развој на микроаневризми, најраниот клинички знак за ретинопатија. Истовремено, активирањето на полиоловиот и хексозаминскиот пат, Protein kinase C сигнализацијата и формирањето на AEGs доведуваат до оксидативен стрес, што доведува до зголемена пропустливост на крвно-ретиналната бариера и појава на ексудати и едем [13,14].

Капиларната оклузија и последователната ретинална исхемија стимулираат продукција на VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor, што ја промовира неоваскуларизацијата во подоцнежните стадиуми на болеста. Хроничното воспаление дополнително ја влошува состојбата, при што интерлеукините, TNF-alfa и адхезивните молекули придонесуваат за прогресија на ретинопатијата и го поврзуваат овој процес со системската микроваскуларна дисфункција, карактеристична за ДМТ2 и ХББ [14].

Раниот стадиум на болеста е асимптоматски, а болеста прогресивна, па затоа е потребно редовен скрининг на очното дно и тоа е од клучно значење [13,14]. Класификацијата на ДР ја опфаќа:

- Непролиферативна дијабетична ретинопатија (НПДР) - со или без макуларен едем (од почетна, средно тешка и тешка форма) [13].
- Пропролиферативна дијабетична ретинопатија (ПДР) – со развој на неоваскуларизација, ризик за крвање, аблација на ретина и губење на видот [13].

Најраспространет и економски најевтин скрининг-метод е офталмоскопија со или без ширење на зеницата за детекција на микроаневризми [14].

Флуоресцентната ангиографија е со висока сензитивност за детекција на васкуларните промени за етаблирана ДР, но скап, инвазивен метод, со ризик од несакани ефекти [14].

Optical Coherence Tomography Angiography – ОСТА е современа, нова, неинвазивна имидинг техника, високо сензитивна за брза и прецизна детекција на рани промени на очното дно, уште пред појава на микроаневризми, што ја прави потенцијален златен стандард за рана дијагностика на ДР [14].

Постои силна асоцираност дека луѓето што ќе развијат ДР се и со голем ризик од кардиоваскуларни заболувања и ДН и поголема вкупна смртност [17,18]. Затоа ДР се смета за прозорец во микроваскуларниот систем, а не само за офталмолошка болест.

1.4 Макроваскуларни компликации кај ДМТ2 и ХББ во ран стадиум

Макроваскуларните компликации претставуваат заболувања на големите и средно големите артериски садови поради развој на атеросклеротични промени: коронарна артериска болест, периферна артериска болест и цереброваскуларна болест.

Тие претставуваат водечка причина за смрт меѓу пациентите со ДМТ2. Околу 65% од пациентите со дијабетес умираат од КВ инциденти и покрај третманот со најсовремените терапии [4]. Паралелно, ХББ сама по себе е независен и силен КВ ризик-фактор поради што ризикот од кардиоваскуларни компликации расте експоненцијално со намалувањето на eGFR и со порастот на албуминуријата [8].

Кај ДМТ2 атеросклерозата на крвните садови се развива порано и напредува експоненцијално, особено во присуство на ХББ, дури и во нејзините рани стадиуми [3,11].

Макроваскуларното оштетување е резултат на сложена интеракција на традиционалните ризик-фактори (хипертензија, хипергликемија, дислипидемија, инсулинска резистенција, пушење и возраста), дополнети со специфични метаболни нарушувања предизвикани од ХББ (задржување на фосфат, покачен FGF23, нарушена синтеза на активен витамин Д, секундарен хиперпаратироидизам, хронично воспаление и оксидативен стрес).

Сите овие фактори заедно значително го забрзуваат процесот на атеросклероза [3.11.18]. Раните морфолошки промени на крвните садови се предиктивни биомаркери во развојот на мајорните кардиоваскуларни настани. Воведувањето на ултразвучните скрининг-методи за рана детекција на васкуларни оштетувања, како што се мерењето на ИМТ (Inthima media thicknes) и/или детекција на атеросклероза, значително ја подобрија прецизноста во стратификацијата на бубрежниот и кардиоваскуларниот ризик кај пациентите со ДМТ2 [19-21].

Комбинацијата на ДМТ2 и ХББ создава популација со удвоен и мултиплициран ризик за развој на коронарни, церебро-васкуларни и периферни артериски настани [10,22]. Промените на крвните садови се последица на суперпонирање на два патофизиолошки система:

- Дијабетично индуцирана атеросклероза - хроничната хипергликемија предизвикува гликозилација на липопротеини и протеини на васкуларниот сид, формирање на AGEs, оксидативен стрес, активација на Protein Kinase C, зголемена експресија на адхезивни молекули и хронично воспаление. Како резултат на ова доаѓа до ендотелна дисфункција, намалена биоактивност на азотен моноксид, забрзано формирање на атеросклеротски плаки [23].
- ХББ индуцирани коскено-минерални нарушувања (CKD-MBD) - кај ХББ дури и во ран стадиум, постојат суптилни, но клинички значајни нарушувања на фосфатната хомеостаза. Проксималната тубуларна дисфункција доведува до намалена фосфатна екскреција, што ја стимулира продукцијата на FGF23 од остеокитите, чија концентрација расте рано, пред појавата на хиперфосфатемијата и покачен РТН. Васкуларната крутост поради калцификација, која е последица на коскено-минералната нерамнотежа е процес што е многу забрзан кај ДМТ2 со ХББ [24]. Таа придонесува за зголемена ригидност на артериите, зголемена брзина на пулсен бран (pulse velocity wave), оптоварување на левиот вентрикул и нарушена периферна и коронарна перфузија [24-26].

1.4.1 Периферна артериска болест (ПАБ)

ПАБ се јавува кај околу 30% од пациентите со ДМТ2, а глобално преваленцата во општата популација е околу 5,6%, но значително повисока и со полоша прогноза кај лицата со дијабетес [23]. ПАБ ги опфаќа неколкуте главни субентитети: периферна атеросклеротска болест на долните екстремитети (ПАБДЕ), екстракранијална каротидна артериска болест (ЕКБ), аневризма на абдоминална аорта и ренална мезентеријална артериска болест [23]. Првите два ентитета се најчести кај ДМТ2, а другите се јавуваат спорадично.

А. Периферна атеросклеротска болест на долни екстремитети (ПАБДЕ)

ПАБДЕ е примарна манифестација на ПАБ кај ДМТ2. Во големата европска студија Eurodiale е утврдено дека околу 49% од пациентите со дијабетично стапало

имаат и ПАБДЕ, а дури една третина од нив при откривање веќе имаат инфекција во подрачјето на раната и тоа е дефинирано како краен стадиум на болеста според двете класификации на Lariche and Fontain и Rutherford classification [27,24,25].

ПАБДЕ кај ДМТ2 е непрепознаена во раните стадиуми и често се суперпонира со дијабетична полинеуропатија и други васкуларни нарушувања. Болеста најчесто се детектира кога е во напреднат стадиум, со клиничка слика на клаудикација при кратки дистанци или при појава на трофички промени на нозете. Тоа ја наметнува потребата од рана детекција, со употреба на прогностички и тераписки предиктивни биомаркери [26].

Најбрз и наједноставен скрининг-метод за ПАБДЕ е одредување на ABI-Ankle Brachial Index. Вредноста $\leq 0,9$ не е само маркер за веќе постојна болест, туку и предиктор за зголемен ризик од кардиоваскуларни болести и смрт [26]. Но поради неговата ниска специфичност и недоволна сензитивност, сè повеќе се применува ултразвучна доплер-дијагностика за евалуација на васкуларното корито.

Б. Екстракранијална каротидна болест (ЕКБ)

ЕКБ се јавува кај значаен дел од пацинетите со ДМТ2 и претставува значаен предиктор на мозочен удар и КВ инциденти. Од вкупниот број на дијагностицирани со ЕКБ, околу 4% се предизвикани исклучиво од ДМТ2, не земајќи ги предвид другите ризик-фактори за појавата [24] .

Ултрасонографскиот колор-доплер на крвните садови е најшироко применуван неинвазивен скрининг-метод. Преку мерењето на дебелината на ИМТ (Intima media thickness) и детекција на присуството на атеросклеротски плаки се овозможува прецизна процена на присуството и степенот на ПАБ [28].

Каротидниот ИМТ е потврден биомаркер за субклиничка атеросклероза. Неговата вредност е силно асоцирана со КВ морбидитет и морталитет. Слични докази се појавуваат и за феморалниот ИМТ, бидејќи постојат студии што ја докажуваат неговата супериорност наспроти АБИ и каротиден ИМТ кај пациентите со ДМТ2 [29-31].

1.5 Нарушување на коскено-минералниот метаболизам кај ДМТ2 и ХББ

Промените во коскено-минералниот метаболизам кај пациентите со ДМТ2, со или без ХББ, претставуваат релативно ново поле на клинички интерес. Во последната деценија станува јасно дека пациентите со ДМТ2 имаат значајно зголемен ризик од фрактури, независно од традиционалните ризик-фактори [32].

И покрај тоа што пациентите со ДМТ2 често имаат нормална или повисока коскена минерална густина, квалитетот на коската е нарушен, имаат променета микроархитектура, појачана гликозилација на коскениот колаген, нарушена минерализација и зголемена кршливост. Ротердамската студија покажува дека лицата со ДМТ2 имаат за 69% поголем ризик за фрактури во однос на недијабетичните поединци [33], што укажува на постоење на т.н. дијабетична остеопатија – состојба во која коската и покрај задржаната густина, е биомеханички ослабена и подложна на нискотрауматични фрактури [34].

Зголемениот ризик за фрактури кај ДМТ2 како популација не е единствено последица на промени во коскениот ткиво. Трауматски фрактури може да се јават и како резултат на паѓање поради хипогликемиски настан, нарушен вид поради ДР, нестабилност при одење, употреба на кортикостероиди и други индиректни фактори [32]. Овие комплексни интеракции ја нагласуваат потребата за внимателна процена на коскениот ризик кај дијабетични пациенти.

Во последните години скелетот се разгледува како активен ендокрин орган, кој учествува во регулацијата на гликемиската хомеостаза преку хормони како остеокалцинот (стимулира бета-клеточна функција на панкреасот, подобрува инсулинска сензитивност, подобрува енергетски метаболизам, посредува во позитивна метаболна оска панкреас-коска), со што се потврдува двонасочната врска меѓу коската и метаболизмот на гликоза [35]. Голем дел од пациентите со ДМТ2 развиваат ХББ, а кај овие пациенти нарушениот коскено-минерален метаболизам е особено изразен и се манифестира многу порано отколку кај другите типови на ХББ, со поголема склоност кон развој на болест на динамични коски, дури и во раните стадиуми на ХББ [36].

ХББ и коскено-минералните нарушувања се коегзистирачки состојби, кои значително го зголемуваат ризикот од скршеници, КВ настани и морталитет.

Фрактурите кај пациенти со eGFR помал од 60 мл/мин/1,73м² се јавуваат двојно почесто и со значајно повисока смртност [37].

Оваа висока ранливост доведе до дефинирање на цел клинички ентитет – ХББ асоцирано коскено-минерално нарушување (CKD-MBD). Според современата дефиниција, CKD-MBD претставува системско нарушување на минералниот и коскениот метаболизам како последица на ХББ, дефинирани преку една или повеќе од следниве компоненти:

- биохемиски абнормалности на калциум, фосфор, PTH, FGF23, АЛП, Klotho и витамин Д;
- нарушувања во коскената градба, структура и минерализација;
- присуство на васкуларни и/или мекоткивни калцификати [38].

Овој ентитет ги опфаќа и ХББ индуцираната остеопороза, реналната остеодистрофија и болеста на адинамични коски [36]. Нарушувањето на коскеноото ремоделирање, како на пример реналната остеодистрофија, се дијагностицира традиционално со хистоморфометриска анализа на биоптички материјал од илијачна коска, но поради инвазивноста, биопсијата се резервира за случаи со терапевтска или дијагностичка дилема [36,37]. Алтернативно, клиничката проценка се потпира на биохемиски параметри и коскено минерална густина измерена со DEXA (Dual-Energy X-ray Absorptiometry).

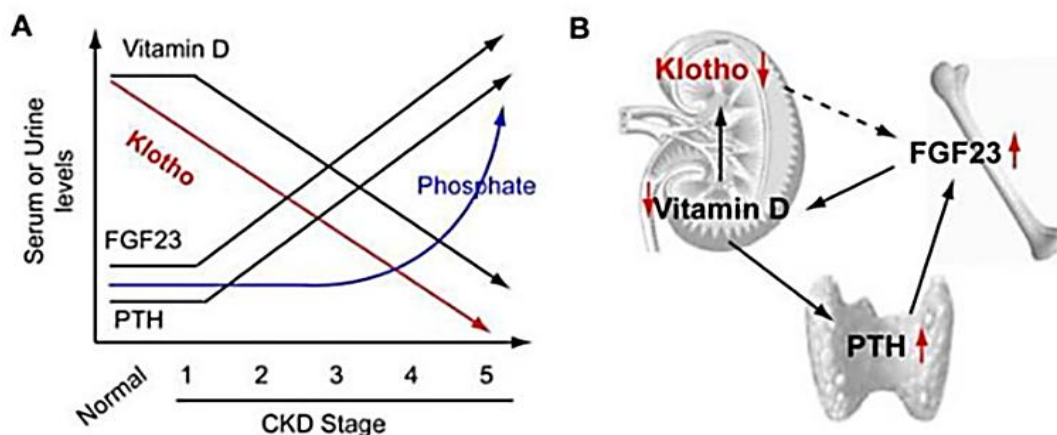
Според National Institutes of Health Consensus Development Panel on Osteoporosis, остеопорозата е скелетна болест со компромитирана коскена сила, што ја зголемува подложноста на фрактури. Коскената сила се мери преку два основни параметра: коскената густина (BMD) и квалитетот на коскеноото ткиво. Остеопорозата е дефинирана како $BMD \leq -2,5$ T- скор [39]. Но е јасно дека фрактури се јавуваат и при повисоки вредности на T-скор, што ја нагласува и улогата на коскениот квалитет [35,37,39].

Според KDIGO насоките од 2017, препораката за одредување на FRAX-скорот кај пациентите со CKD-MBD, и покрај контрадикторните резултати, е преку мерење на коскената густина. Сепак Т-скорот останува основен биомаркер за рана детекција и следење на промените на коскената густина и кај пациентите со ХББ, додека коскената биопсија се користи многу селективно [38,40].

Механизмот на развој и експресија на CKD-MBD е јасно дефиниран, иако постојат празнини во причинско-последичната поврзаност. ХББ доведува до рано нарушување на фосфатната хомеостаза, со намалена проксимална тубуларна способност за екскреција уште во стадиум G2-G3A. Како прв одговор остеоцитите ја зголемуваат продукцијата на FGF23, кој ја зголемува фосфатната екскреција, ја намалува синтезата на 1,25(OH)2D и го модулира PTH. FGF23 е најран биохемиски маркер на CKD-MBD, кој се зголемува уште пред порастот на фосфатот, PTH и падот на активен витамин Д [38, 41]. На Слика 1 шематски е претставено следното:

(А) Најрано детектибилната промена во почетните стадиуми на ХББ е намалувањето на серумскиот/уринарниот Klotho-протеин и корецептор за FGF23, продуциран претежно во бубрежните дистални тубули. Тој се врзува за FGF23-рецепторите, ја менува нивната структура и дозволува FGF23 да биде препознаен и да активира сигнализација. Односно, тој му овозможува на хормонот FGF23 да се врзе за неговиот рецептор и да делува. Неговото намалување е рана карактеристика на CKD-MBD. Потоа следуваат пораст на FGF23, намалување на активниот витамин Д и пораст на PTH, пред појавата на хиперфосфатемијата.

(Б) Моделот го прикажува механизмот: намалениот Klotho создава резистенција на таргет-ткивата кон FGF23, кој компензациски расте за одржување нормална фосфатемија, на сметка на намалена синтеза на витамин Д. Ниското ниво на витамин Д дополнително го намалува Клото, ги зголемува PTH и ја засилува секрецијата на FGF23 [41].



Превземено од: John GB, Cheng CY, Kuro-o M. *Am J Kidney Dis.* 2011;58:127–134.

Слика 1. Прогресија на CKD-MBD, раното зголемување на FGF23 и механизмите на повратна спрега на таргет-органите.

Во подоцнежните фази на ХББ се јавува хиперфосфатемија, секундарен хиперпаратироидизам, нарушена минерализација на коската и системска/васкуларна калцификација. Сето ова е директно поврзано со зголемен ризик од фрактури, кардиоваскуларни настани и морталитет кај пациентите со ДМТ2 и ХББ [38].

CKD-MBD не е ограничен само на коската, тој ги опфаќа и крвните садови, кои стануваат таргет на нарушената оска фосфор-FGF23-витаминД-PTH. Ова ги објаснува раните агресивни макроваскуларни промени кај пациенти со ДМТ2 и ХББ [42].

FGF23 е силно асоциран со артериска крутост, калцификации на артериската интима медиа, ендотелна дисфункција, левовентрикуларна хипертрофија и со зголемена KB смрт [24,26,43].

1.6. Биомаркери за одредување на степенот на бубрежното оштетување кај индивидуи со ДМТ2

1.6.1 Биомаркери во сегашната клиничка пракса

- Estimated glomerular filtration rate eGFR (eГФР)

eGFR е најчестиот прогностички биомаркер што се користи за предвидување на ESRD и во клиничката пракса и во различни студиски испитувања. Утврдено е дека најдобриот предиктор за ESRD се тековниот eGFR и динамиката на менување на неговата вредност.

eGFR претставува математичка пресметка, која се изведува на неколку начини, кои покрај вредноста на серумскиот креатинин, предвид земаат и други параметри како пол, возраст, телесната тежина. Некои формули ја земаат предвид и расната припадност. Најчесто користените формули за пресметување се базирани на Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) и Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) [44].

eGFR има слаба предиктивна и прогностичка моќ бидејќи повеќекратно е докажано дека пациентите со напредна макроалбуминурија може да имаат нормален eGFR [44].

- Албуминурија

Иако албуминуријата е традиционално сметана за силен предиктор на прогресијата на ДН, бројни студии покажуваат дека таа нема доволна чувствителност и специфичност за развој на ESRD или прогресивно опаѓање на eGFR. Увидено е дека голем дел од пациентите со ДМТ2 и бубрежна дисфункција се нормоалбуминурични, а албуминуријата е неспецифичен и несензитивен биомаркер кај оваа популациска група [45-47].

Покрај албуминуријата и eGFR, етаблирани ризик-фактори во предвидувањето на намалувањето на бубрежната функција се староста, времетраењето на дијабетот, HbA1c, систолниот крвен притисок и степенот на ретинопатија [48].

Бројни биомолекули се испитувани како потенцијални предиктори на прогресија на дијабетично асоцирана ХББ, но само мал број демонстрираат маргинално подобрување над класичните параметри албуминурја и eGFR.

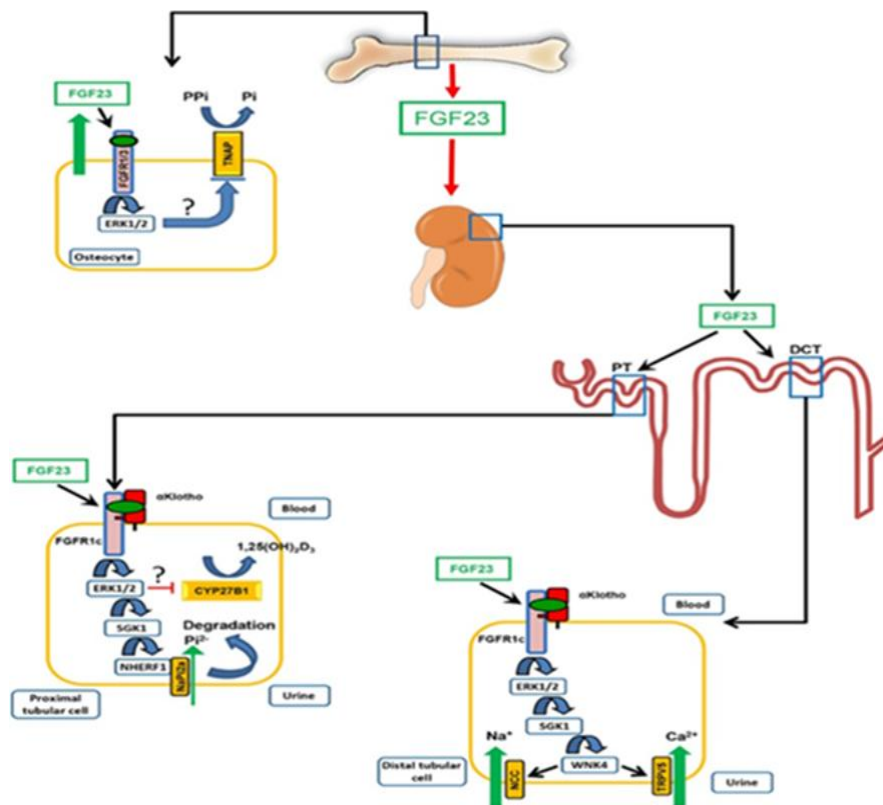
Во овој контекст, FGF23 се издвојува како еден од најперспективните биомаркери поради неговата улога во фосфатниот и минералниот метаболизам.

1.6.2 FGF23 - Fibroblast Growth factor 23 (FGF23)

Основни физиолошки карактеристики на FGF23

FGF23 е циркулирачки пептиден хормон, кој претставува централна компонента на коскено-реналната оска за регулација на фосфатниот и метаболизмот на витаминот Д. Се синтетизира во остеоцитите, што ја нагласува коската како ендокрин орган. Кај здрави субјекти, неговата примарна функција е одржување стабилна концентрација на серумскиот фосфат [49]. FGF23 делува на повеќе нивоа со три основни ефекти:

- Индуцира фосфатурија преку намалување на реапсорпцијата на фосфатот во проксималните тубули [49];
- Го намалува 1,25(OH)₂ D преку инхибиција на CYP27B1 (Cytochrome P450 Family 27 Subfamily B Member 1) – ген што ја кодира 1 α -хидроксилазата, клучниот ензим за синтеза на активниот витамин Д - и преку стимулација на CYP27A1 (Cytochrome P450 Family 27 Subfamily A Member 1) – ген што ја кодира стерол 27-хидроксилазата, ензим вклучен во метаболизмот на холестеролот и во синтезата на жолчните киселини [50];
- Ја супресира секрецијата на PTH преку негативна повратна спрега [49].



Превземено од: Erben RG, Front Endocrinol (2018) [9:267].

Слика 2. Шематски приказ на коскено-реналната регулација и тубуларните ефекти на FGF23

Транспорт и тубуларни ефекти - Екскрецијата на фосфатот е регулирана доминантно во проксималниот тубул, каде што FGF23 ја намалува експресијата на натриум-фосфатните котранспортери NaPi-IIa и NaPi-IIc, што резултира со зголемено излучување на фосфатот преку урината [49]. Индиректно, преку намалување на активниот витамин Д, ја намалува и гастро-интестиналната апсорпција на фосфат преку редукција на NaPi-IIb транспортерот во цревната мукоза [49,50].

Регулација на синтезата на FGF23 - Серумскиот фосфор и диеталната фосфатна оптовареност се најсилни физиолошки стимулатори на FGF23 [50,51].

Активниот витамин Д ја стимулира експресијата на FGF23, создавајќи затворен круг во кој 1,25 (OH)2D го зголемува FGF23, а FGF23 ги ограничува неговите нивоа [50,51].

Спротивставени мислења и ставови има во однос на значењето на акутното наспроти хроничното оптоварување со фосфат. Акутното зголемување на серумскиот фосфат доведува до умерено и одложено зголемување на FGF23 [52,53], додека перзистентната хиперфосфатемија е многу посилен стимул [54,55], што сугерира дека FGF23 повеќе го рефлектира хроничниот фосфатен товар отколку моменталната вредност.

Прашањата дали FGF23 е причина за или последица од нарушениот коскено-минерален метаболизам не се до крај одговорени.

Во последната деценија FGF23 и Klotho се препознаени како критични регулатори на минералниот метаболизам, но сè уште постојат дилеми дали FGF23 е само одраз на нарушен коскено-минерален метаболизам [56] или покачениот FGF23 сам по себе го нарушува минералниот метаболизам [57,58]. Ова прашање е особено значајно во патофизиологијата на ХББ и во интерпретацијата на FGF23 како биомаркер. Дополнително, сè уште не постојат сигурни докази за ефектот од неговото фармаколошко блокирање [59, 60]. FGF23 циркулира во две главни форми:

- Intact FGF23(iFGF23) – биолошки активна форма,
- C-terminal FGF23(cFGF23) – деградациони фрагменти [61,62, 63].

Ова е клинички значајно, бидејќи cFGF23 може да биде покачен и во состојби без соодветна биолошка активност (воспаление, анемија) [61,64].

Биолошката активност на FGF23 зависи од присуството на Klotho, кој е есенцијален корецептор што го зголемува афинитетот на FGF23 кон рецепторот FGFR1c во бубрегот и во другите таргет-ткива. При дефицит на Klotho (што е карактеристично за ХББ и дијабетес), се создава функционална FGF23 резистенција и компензаторно зголемување на неговата секреција [65].

Покрај минералните, детектирани се и неминерални регулатори. Анемијата, ниското серумско железо и еритропоетинот го стимулираат покачувањето на FGF23.

Воспалението преку IL-6, TNF α и hepcidin го зголемува производството на FGF23. Високиот FGF23, пак, ја влошува анемијата, создавајќи двонасочен патофизиолошки циклус [66,67].

1.6.3 FGF23 кај ДМТ2 со ран стадиум на ХББ

FGF23 е еден од најраните хормонски одговори на намалувањето на бубрежната функција и се покачува уште во стадиум 2-3 на ХББ, кога фосфатот, РТН и калцитриолот се сè уште во референтни граници [68]. Овој ран пораст:

- сигнализира суптилна нарушена фосфатна елиминација,
- одразува неманифестна бубрежна инсуфициенција,
- го активира компензацискиот механизам за превенција на хиперфосфатемија.

Во подоцнежните фази може да биде 8-10 пати повисок [69], како резултат на хиперпродукција на остеоцитите, делумно намален ренален клиренс, намалена експресија на Клото и тубуларна резистенција [65,69-71]. Механизми на покачување на FGF23 во ХББ се: зголемена продукција, намален клиренс и резистенција на FGF23.

Намалувањето на бројот на функционални нефрони предизвикува акумулација на фосфат. Остеоцитите компензаторно ја зголемуваат секрецијата на FGF23 за да ја зачуваат фосфатната хомеостаза [72]. Поновите податоци укажуваат дека хиперпродукцијата, а не ретенцијата, е доминантен механизам за неговото зголемување.

1.6.4 FGF23 и CKD-MBD – улога, последици и клинички импакт

FGF23 е прв активиран биомаркер во CKD-MBD, често пред РТН и хиперфосфатемијата [68]. Неговите ефекти вклучуваат:

- регулација на фосфатната рамнотежа,
- модулација на РТН и на активниот витамин Д,
- влијание врз коскениот ремоделирање.

Покачен FGF23 е поврзан со прогресија на ХББ, левовентрикуларна хипертрофија, аритмии, васкуларни калцификати и зголемен ризик од смрт [68,74-78].

FGF23 директно влијае врз миокардот со стимулација на кардиомиоцитите преку FGFR4, независно од Клото, поттикнувајќи левовентрикуларна хипертрофија, срцева слабост и аритмии [79,90]. Додека индиректните ефекти преку витаминот Д и РТН придонесуваат за ригидност и калцификација на артериите [38.80].

1.6.5 Врска помеѓу FGF23 и ДМТ2

FGF23 е покачен кај ДМТ2 дури и независно од ХББ [81,82]. Инсулинската резистенција и ниската активност на Klotho, придонесуваат за функционална FGF23 резистенција и компензаторен пораст [83,84,85].

Пациентите со ДМТ2, особено обезните, се во константна хронично инфламаторна состојба, која го стимулира FGF23 [85]. Кај предиабетес, FGF23 е сигнификантно покачен споредено со недијабетични обезни пациенти [84.85]. Ова укажува дека раната остеоцитна дисрегулација е дел од метаболниот континуум на ДМТ2.

Пациентите со ДМТ2 се подложни на рана тубуло-интерстициелна лезија, пред манифестација на албуминурија или пад на eGFR. Тубуларните клетки се главно таргет-ткиво за FGF23 сигнализацијата. Хипергликемијата и AGEs-продуктите го стимулираат FGF23, го нарушуваат тубуларниот одговор и поттикнуваат дополнително покачување [12].

Некои антидијабетични лекови ја намалуваат концентрацијата на FGF23 независно од инсулинемијата, но механизмите се уште не се целосно разбрани [86, 87].

1.6.6 FGF23 како биомаркер на проширен кардиоренален ризик

Во последната деценија FGF23 се етаблира како биомаркер чија клиничка вредност далеку го надминува традиционалниот домен на минералниот метаболизам.

Неговото рано покачување го прави најсензитивен индикатор на суптилно нарушена фосфатна хомеостаза, а хиперпродукцијата е доминантниот механизам за високите нивоа во ХББ [68-72].

Покачените концентрации се поврзуваат со LVH, срцева слабост и нарушена дијастолна функција, преку директно активирање на FGFR4 во кардиомиоцитите, што укажува на автономна кардиотоксична потенција на FGF23 [76,90].

Дополнително, преку влијанието врз витаминот Д и PTH, индиректно придонесува за ригидност на артериските сидови и за васкуларна калцификација [76,83].

Клиничката важност на FGF23 е потврдена и во големи популациски студии како PREVEND (Prevention of Renal and Vascular End-Stage Disease) и ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities) [91,89], во кои високите врдности на FGF23 предвидуваат коронарна артериска болест, срцева слабост, КВ смрт и појава на нова ХББ, независно од реналната функција и серумскиот фосфат [88,91.89]. Овие резултати го поставуваат FGF23 како биомаркер на кардиоренален ризик и кај лица со зачувана бубрежна функција.

Вкупно земено, FGF23 е биомаркер со исклучително широка патофизиолошка улога и клиничка применливост, а сознанијата ја прават оваа молекула значајна и како дијагностички и како прогностички маркер, но и како можен патофизиолошки медијатор на кардио-рено-метаболен (КРМ) континуум.

Поголемиот дел од достапните податоци произлегуваат од студии спроведени кај пациенти со подоцнежни стадиуми на ХББ или кај пациенти на дијализа, а податоците за неговата улога кај пациенти со ДМТ2 и рана ХББ се ограничени.

Недоволно е истражена и поврзаноста на FGF23 со микро- и макроваскуларните компликации во оваа специфична популација, иако овие пациенти претставуваат група со изразена кардиоренална ранливост [83,89,92]. Дополнително, потребно е да се утврди дали FGF23 може да биде позициониран не само како ран предиктор на компликации, туку и како биомаркер со потенцијална улога во персонализираното управување со ризикот како и во оптимизацијата на терапевтските протоколи, особено во ера на достапни третмани со голема кардио- и нефропротективна улога. Ова дефинира значајна научна празнина, особено ако се има предвид дека токму раните стадиуми на ХББ кај ДМТ2 нудат најголема можност за навремена идентификација,

стратификација на ризик и позитивен терапевтски исход кај овие пациенти, пред појавата на класични биохемиски абнормалност или клинички манифестации.

Со оглед на оваа јасно дефинирана празнина во литературата и на недоволната разјаснетост на клиничката вредност на FGF23 кај пациенти со ДМТ2 и рана ХББ, се наметнува потребата од системско истражување кое ќе ги разгледа неговите врски со раните биохемиски промени, тубуларните маркери, и појавата на микро- и макроваскуларните компликации. Токму овие нејаснотии ја формираат основата за концепцијата и дизајнот на ова истражување.

2. МОТИВ ЗА ИСТРАЖУВАЊЕТО

ДМТ2 претставува хронично, мултисистемско заболување со драматично зголемување на преваленцата на глобално ниво, а неговите хронични компликации се водечки причинители за морбидитет и морталитет.

Од примарна важност е изнаоѓањето биомаркери што детектираат субклинички васкуларни оштетувања уште пред појавата на манифестните компликации кај пациенти со ДМ2. FGF23 се издвојува како еден од најперспективните индикатори поради неговата улога во регулацијата на фосфатниот метаболизам, коскено-минералната хомеостаза и кардиореналната интеракција. Иако бројни студии укажуваат дека FGF23 се покачува рано во текот на хроничната бубрежна болест – дури и кога серумскиот фосфат и РТН се уште се во референтни граници – неговата клиничка вредност, особено кај пациенти со ДМТ2 и рана ХББ останува недоволно дефинирана. Понатаму, се уште нема доволно податоци за неговата асоцираност со микро- и макроваскуларните компликации, ниту за неговиот потенцијал да служи како биомаркер што може да придонесе за персонализиран терапевтски пристап.

На територијата на РСМ досега не е спроведено истражување кое интегрално ги анализира кардиоваскуларните, коскено-минералните и бубрежните параметри кај пациенти со ДМТ2 и ран стадиум на ХББ, што ќе даде и еден дополнителен увид за присутност на овие компликации и нивната асоцираност со FGF23 на ова територијално подрачје. Ова истражување ќе има удел во оваа јасно изразена клиничка празнина во локалната литература.

Покрај тоа , ова истражување има за цел да даде придонес и во науката за појаснување на предиктивната , дијагностичката и потенцијално терапевтската вредност на FGF23, преку испитување на неговите асоцијации со микро и макроваскуларните компликации, коскено-минералниот метаболизам и маркерите на рана бубрежна дисфункција.

3. ЦЕЛИ НА ИСТРАЖУВАЊЕТО

Главната цел на истражувањето беше да се утврди асоцираноста на серумските концентрации на FGF23 кај лица со ДМТ2 во рана фаза на ХББ (стадиум 2-3А), со повеќе клинички домени на нарушување поврзани со дијабетесот и бубрежната дисфункција.

- Да се утврди асоцираноста меѓу FGF23 и степенот на ХББ, оценета преку параметрите на eGFR и албуминурија;
- Да се испита поврзаноста меѓу FGF23 и нарушувањата на коскено-минералниот метаболизам, вклучувајќи ги вредностите на серумски фосфор, калциум, PTH, витамин Д и АЛП;
- Да се процени односот меѓу FGF23 и појавата на микроваскуларни компликации (дијабетична нефропатија и дијабетична ретинопатија);
- Да се определи асоцираноста меѓу FGF23 и макроваскуларните компликации (периферна артериска болест на долните екстремитети и екстракранијална каротидна артериска болест).

4. ХИПОТЕЗИ НА ДОКТОРСКАТА СТУДИЈА

- Пациентите со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ имаат значајно покачени серумски нивоа на FGF23, кои претставуваат ран индикатор и потенцијално предиктивен биомаркер за бубрежна дисфункција и за понатамошен напредок на ХББ;
- Кај пациентите со ДМТ2 и рана ХББ, серумските нивоа на FGF23 се сигнификантно повисоки кај лица со присутни макроваскуларни компликации (периферна артериска болест на долните екстремитети и екстракранијална каротидна артериска болест);
- FGF23 е сигнификантно покачен кај пациенти со микроваскуларни компликации на ДМТ2 (дијабетична нефропатија и ретинопатија) уште во рана фаза на ХББ;
- Постојат значајни асоцијации меѓу FGF23 и параметрите на синдромот на ХББ-МКП, при што пациентите со рани промени во коскено-минералниот метаболизам (калциум, фосфор, витамин Д, РТН и АЛП) имаат повисоки вредности на FGF23.

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

5.1 Дизајн на студијата

Студијата е дизајнирана како пресечна (cross-sectional), аналитичка, клиничко-епидемиолошка опсервациона студија, спроведена во период од две години (од 2022 до 2024 година). Истражувањето е реализирано во специјализирана амбулантско-болничка установа Градска општа болница „8 Септември“, со цел да се испита асоцираноста меѓу серумските концентрации на FGF23 и хроничните компликации кај пациенти со ДМТ2 во рана фаза на ХББ.

Во рамките на студијата се анализираа следните клинички и биохемиски параметри:

- степенот на бубрежното оштетување (проценет со eGFR според CKD-EPI формула и албуминурија);
- показателите на коскено-минералниот метаболизам (вредности на серумски фосфат, калциум, АЛП, РТН и витамин Д);
- присуството и тежината на микроваскуларните (дијабетична нефропатија и дијабетична ретинопатија) и макрооваскуларните компликации (периферна артериска болест и каротидна атеросклероза).

Студијата опфаќа популациски примерок со претходно дефинирани критериуми за вклучување и исклучување, со што се обезбедува хомогена група на испитаници со рана ХББ (стадиум 2-3А според KDIGO). Податоците се прибираа преку стандардизиран клинички преглед, инструментални методи и лабораториски анализи со валидирани техники, вклучително и ELISA метод за FGF23.

Овој дизајн овозможува истовремено испитување на асоцираноста меѓу FGF23 и различни клинички параметри, со цел препознавање на потенцијалниот значај на FGF23 како ран биомаркер за идентификација на субклиничко оштетување и на зголемен кардиоренален ризик кај пациенти со ДМТ2.

5.2 Испитувана популација

Во студијата беа вклучени 106 испитаници, пациенти со ДМТ2 и ХББ во стадиум 2-3А, дефинирана со вредности на eGFR 45–70 ml/min/1.73m² (според СКД-ЕРІ формулата) и 42 пациенти, здрави и пациенти со ДМТ2 без ХББ, кои беа користени како група за одредување на cut-off вредноста на FGF23. Пациентите беа последователно избрани (консекутивен избор) при редовни и контролни прегледи во Центарот за дијабетес во ГОБ „8 Септември“ - Скопје, во периодот од две години.

Сите испитаници пред вклучувањето потпишаа информирана согласност. Истражувањето е одобрено од етичката комисија на Медицински факултет при УКИМ Скопје и етичката комисија на ГОБ „8 Септември“, согласно Хелсиншката декларација.

5.3 Критериуми за вклучување

- Возраст над 18 до 80 години;
- ДМТ2 дијагностицирана според критериумите на СЗО – гликемија на гладно $\geq 7,0$ ммол/л, гликемија во вториот час на ОГТТ – орален глукоза толеранс тест со 75 г глукоза над 11,1 ммол/л, рандом гликемија $\geq 11,1$ ммол/л и/или HbA1C $\geq 6,5$ %.
- Хронична бубрежна болест стадиум 2-3А, со eGFR помеѓу 45-70 мл/мин/1,73м² пресметан со СКД-ЕРІ формулата.

5.4 Исклучувачки критериуми

1. Демографски и метаболни критериуми:

- Возраст под 18 и над 80 години;
- Пациенти со Индекс на телесна тежина (BMI) <20 kg/m² и BMI >40 kg/m²;
- ДМТ1;
- Други типови на дијабетес индуцирани од лекови, болести на панкреас.

2. Бубрежни заболувања:

- ХБИ како последица на друга болест докажана со биопсија или со сигурни знаци за присуство на болест што докажано ги афектира бубрезите;
- Гломерулопатии и тубулопатии докажани со биопсија.

3. Нарушувања на коскено-минералниот метаболизам и ендокринопатии:

- Докажана остеопороза од кое било друго потекло;
- Болести на паратироидните жлезди;
- Болести на коските и коскената срцевина вклучително и рахитис во детска возраст, остеомалација, морбус Пеџет;
- Лекувана скршеница на коска во последните 6 месеци;
- Нелекуван хипертироидизам или хипотироидизам;
- Рана менопауза ≤ 45 година, идиопатска или индуцирана со оофоректомија.

4. Лабораториски и нутритивни фактори:

- Примена на витамин Д и/или калциум во последните 3 месеци пред вклучувањето;
- Цревна малапсорпција;
- Хепатална фиброза или цироза утврдена со биопсија или еластографија.

5. Кардиоваскуларни и хематолошки фактори:

- Третман со нискомолекуларен хепарин во последни три месеци;
- Нелекувана хипертензија.

6. Онколошки и психијатриски заболувања:

- Малигна болест;
- Тешки психијатриски состојби со намалена компетитивност и одлучувачка способност.

7. Терапевтски ограничувања:

- Третман со ДПП-4;
- Терапија со антиконвулзивни медикаменти;
- Лекувана остеопороза.

8. Бременост и лактација:

- Бремени жени;
- Жени во период на доење.

5.5 Методологија на клинички, лабораториски и инструментални испитувања

По утврдувањето на критериумите за вклучување, кај сите пациенти беше спроведена стандардизирана клиничка и антропометриска процена. Процедурите беа изведени во еден ден во амбулантата за дијабетологија при ГОБ „8 Септември“ – Скопје, со цел да се обезбеди конзистентност на мерењата и стандардизација на методологијата.

Кај секој пациент беше спроведено:

- структурирано земање анамнеза;
- антропометриски мерења;
- физикален преглед;
- земање венски примерок од крв;
- собирање примерок на урина (spot urine sample).

Дополнителни инструментални и специјалистички испитувања беа спроведени на претходно договорени термини и по претходна најава. Кај сите пациенти беа извршени:

- доплер-ултразвук на каротидните артерии;
- доплер-ултразвук на артерии на долните екстремитети (седум крвни садови);
- офталмолошки преглед кој опфати тестирање на видна острина, мерење на интраокуларен притисок, биомикроскопски преглед на преден и заден сегмент и фотографија на очното дно;
- остеоденситометрија (DEXA).

5.5.1 Клинички испитувања

Анамнестички податоци

Анамнезата ја земаше докторот истражувач преку структуриран клинички интервју-пристап, со јасно формулирани, недвосмислени прашања и без употреба на сугестивен или оценувачи речник. Беа обезбедени податоци за:

- пол и возраст;
- пушачки статус;
- времетраење на болеста ДМТ2;
- тип на антидијабетична терапија во последните три месеци;
- присуство и контрола на артериска хипертензија;
- тековна антихипертензивна терапија;
- податок за постојна етаблирана кардиоваскуларна болест;
- податок за претходно постојна остеопороза;
- податок за постоење на дијабетична ретинопатија.

Овие информации овозможува класификација на пациентите според постојните ризик-фактори и анализа на коморбидитети што можат да влијаат врз вредностите на FGF23.

Одредување на крвен притисок

Крвниот притисок беше измерен со брахијален анероиден сфигмоманометар во седечка положба по одмор од најмалку 10 минути. Мерењето беше изведено според стандардизиран протокол, при што беа регистрирани систолен и дијастолен артериски притисок.

Антропометриски мерења (телесна тежина и висина)

Заради одредување на Индексот на телесната маса (BMI), спроведовме мерење на телесната тежина и висина. Телесната тежина и висина беа измерени со калибрирани инструменти, пациентите беа лесно облечени и боси. Индексот на телесната маса беше пресметан според стандардната формула:

$$\text{BMI} = \text{тежина (kg)} / \text{висина (m)}^2$$

За пресметка беше користен валидиран електронски калкулатор достапен на веб-страницата на NHLBI: <https://www.nhlbi.nih.gov/calculate-your-bmi>.

BMI беше користен како континуирана варијабла, но и категоријално според СЗО-класификацијата.

5.5.2 Лабораториски материјали и методи

Материјал за анализа – венска крв.

Венските примероци беа земани во утринските часови, по претходна подготовка и кратко одмарање на пациентите. Беа земени со вакуумска епрувета, со и без антикоагуланс (S-Monovette®, Sarstedt, Germany).

Крвта се земаше еднакратно во соодветни моновети за:

- анализа на полна крв и
- одделување на серум.

По земањето, моноветите за серум се оставаа на сталак 10 минути за да се овозможи коагулација. Потоа беа центрифугирани на 3000 вртежи во минута, во текот на 10 минути. Од добиениот серум издвојувавме примероци во стерилни пластични епендорфи за еднакратно употреба, со волумен од 1,5 мл.

Кај сите пациенти во свежиот примерок на серум ја одредувавме концентрацијата на: глукоза, креатинин, уреа, мочна киселина, холестерол, триглицериди, ХДЛ, ЛДЛ, натриум, калиум, фосфор, калциум, РТН, витамин Д и CRP.

Од моноветата со полна крв беше изработена комплетна диференцијална крвна слика (еритроцити, леукоцити, тромбоцити, хемоглобин) и ХбА1Ц.

Материјал за анализа - урина

Како материјал користевме единечен примерок на прва утринска урина во количина од приближно 10 мл земена во сув хемиски чист сад. Пациентите добија упатство за начинот за правилно земање урина.

Во свежиот примерок на урина ја одредивме концентрацијата на микроалбумини, со нефелометриска метода користејќи апарат BN ProSpec® (Siemens Healthineers).

Методи користени при лабораториските испитувања

Одредување на eGFR (Estimated Glomerular Filtration Rate)

Проценетата гломеруларна филтрациона рата (eGFR) беше пресметана кај сите испитаници со користење на формулата CKD-EPI Creatinine 2021, според препораките на KDIGO. За пресметката се користеше валидиран електронски калкулатор достапен на платформата на MDCalc: <https://www.mdcalc.com/calc/3939/ckd-epi-equations-glomerular-filtration-rate-gfr>.

eГФР беше изразена во ml/min/1.73 m² и користена како континуирана варијабла, а истовремено и за категоризација на пациентите во стадиуми на ХББ.

Одредување на биохемиските параметри во серум

Во примерок од свеж серум беа одредени концентрациите на следниве биохемиски маркери: глукоза, креатинин, уреа, мочна киселина, холестерол, триглицериди, ХДЛ, ЛДЛ, натриум, калиум, фосфор, калциум, РТН, витамин Д.

Биохемиските анализи беа извршени со стандардни фотометриски методи, користејќи автоматизиран биохемиски анализатор: Dimension RxL – (Siemens Healthineers). Концентрацијата на CRP беше одредена со турбидиметриска метода.

Одредување диференцијална крвна слика - од полна крв беше изработена комплетна диференцијална крвна слика (број на еритроцити, леукоцити, тромбоцити и концентрација на хемоглобин). Методата за мерење беше импенданса метода (Impedance метод) со анализатор од типот Medonic.

Концентрацијата на ХбА1Ц беше определена во полна крв со помош на методата на TINIA – Turbidimetric Inhibition ImmunoAssay, валидирана за рутинска проценка на гликемиска контрола кај пациенти со дијабетес.

Одредување на концентрацијата на FGF23 во серум

Одредувањето на серумската концентрација на FGF23 беше извршено на Институтот за медицинска и експериментална биохемија при Медицинскиот факултет - УКИМ Скопје.

Лабораториската обработка, подготовката на примероците, изведувањето на анализите и пресметката на концентрациите ги вршеше доктор – специјалист по медицинска биохемија, обучен и сертифициран за работа со ELISA техника. Анализата беше изведена според стандардизиран протокол.

За мерење на концентрацијата на FGF23 во примероците беше употребен Human FGF23 ELISA Kit (Каталошки број LS-F4428, LifeSpan BioSciences, Сиетл, САД). Хуманиот FGF23 ELISA kit е дизајниран за истражувачка употреба и не е наменет за дијагностички цели. Принципот на методот е сендвич ELISA (Sandwich ELISA), каде што секое бунарче од микротитарската плоча е претходно обложено со антитело специфично за таргетираниот антиген FGF23.

Принцип на тестот: Во секое бунарче од микротитарската плочка се додаваат стандардни раствори или примероци, при што таргетниот антиген FGF23 се врзува за специфичното антитело. Неврзаните компоненти се отстрануваат со плакнење. Потоа се додава биотинизиран детекциски реагенс, кој се врзува за таргетниот антиген FGF23. Неврзаниот детекциски реагенс се отстранува со плакнење, а потоа се додава конјугиран Avidin-HRP реагенс, кој се врзува за биотинот. По плакнењето, се додава TMB супстрат, кој реагира со HRP-ензимот, резултирајќи со боена реакција. Реакцијата се прекинува со додавање стоп реагенс, а оптичката густина (Optical density - OD) или апсорбанцата се мери на $450\text{ nm} \pm 2\text{ nm}$. Концентрацијата на антигенот FGF23 во примероците се пресметува според стандардната крива.

Примероци за анализа: Примероците за анализа беа собирани и подготвени според препораките наведени во упатството за китот. Примероците од крв беа собрани во епрувети без антикоагуланс, по што беа центрифугирани 20 минути на 1000 вртежи во минута, а супернатантот - серум, беше издвоен во мали епендорфи за натамошна анализа. По препорака на производителот, серумите се собираа и чуваа на -80°C во рок

од 0-6 месеци. На Институтот за биохемија примероците ги доставивме на собна температура (18–25°C) пред изведување на анализата, без употреба на дополнително загревање. Пред аналитичката постапка концентрациите на серумските примероци беа проценети и каде што беше потребно примероците беа соодветно разредувани за да се обезбеди нивно позиционирање во опсегот на стандардната крива. Кај сите примероци беа направени сериски разредувања во однос 1:10, користејќи го истиот пуфер кој беше применет за подготовка на стандардите за генерирање на стандардната крива.

Подготовка на стандардите: Стандардите беа подготвени според упатството за комплетот (kit), со разредување на основниот стандард (4,0 pg/ml) во серија за да се добијат стандардни раствори со концентрации од 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 и 15.63 pg/ml. Серија на разредувања од позитивната контролна стандардна проба се подготви и изврши во дупликат или трипликат, при што последното бунарче во секоја серија служеше како негативна контролна празна проба (blank). Сите тест-примероци исто така се анализираа во трипликат.

Протокол за анализа:

1. Во секое бунарче од плочата беа додадени 100 µl од примерокот, стандардот или дилуент, и плочата беше инкубирана 1 час на 37°C;
2. Течноста од секоја дупка беше аспирирана без плакнење;
3. Беа додадени 100 µl од работен раствор на Detection Reagent A, и плочата беше повторно инкубирана 1 час на 37°C;
4. Течноста беше аспирирана, а бунарчињата беа плакнети трипати со 1x Wash Buffer;
5. Беа додадени 100 µl од работен раствор на Detection Reagent B, и плочата беше инкубирана 30 минути на 37°C;
6. Течноста беше аспирирана, а бунарчињата беа плакнети петпати;
7. Беа додадени 90 µl од ТМВ супстрат и плочата беше инкубирана 10-20 минути на 37°C, заштитена од светлина;
8. Беа додадени 50 µl од стоп-раствор и оптичката густина (апсорбанцата) беше измерена веднаш на 450 nm со помош на ELISA-читач.

Пресметување на концентрацијата на FGF23 во примероците:
Стандардната крива беше генерирана користејќи компјутерски софтвер кој овозможува генерирање на четирипараметарска логистичка (4-PL) крива.

Концентрацијата на FGF23 во примероците беше пресметана од подготвената стандардна крива, при што вредностите беа коригирани со факторот на разредување и изразени во pg/ml.

На Институтот за медицинска и експериментална биохемија при Медицинскиот факултет на УКИМ Скопје се изработи биомаркерот FGF23. Лабораториската обработка и пресметките ги изврши еден доктор, специјалист по биохемија, обучен за работа со ELISA-техниката.

5.5.3 Ултрасонографски преглед (доплер) на долните екстремитети

Ултрасонографскиот преглед со колор-доплер на седум артериски крвни садови на нозете беше изведен кај сите пациенти со цел да се проценат присуство и степен на периферна артериска болест на долните екстремитети, како и да се измери бифеморален ИМТ. Прегледот беше изведен од обучен, сертифициран специјалист кардиолог, според препораките на American Society of Echocardiography (ASE) и васкуларните упатства на ACC/AHA (2016).

Прегледот беше изведен со високорезолуциска линеарна сонда 7,5-10 MHz, во B-mode, со опција за колор-доплер, на високорезолутивен ултразвучен апарат Esaote Ultrasound System, SN8200478 (Esaote S.p.A., Genova, Italy).

Пациентот беше поставен во лежечка супинациска положба, со благо екстендирани нозе, за оптимален пристап до феморалните и потколеничните артерии. Беа нанесен воден гел за подобра акустична спроводливост. Овој стандарден протокол овозможи оптимална визуализација на a.femoralis communis, a.profunda femoris, a.femoralis superficialis, a.poplitea, a.tibialis anterior, a.tibialis posterior, a.dorsalis pedis.

Бифеморален ИМТ беше измерен на a.femoralis communis по следниот стандарден протокол:

- Мерење на задниот ѕид на артеријата, каде што границите на intima media се појасно видливи, со лонгитудинален пресек;
- Сегмент без атеросклеротски плаки на 2 см проксимално од бифуркацијата;
- На секоја страна беа направени по три мерења, а за анализа беше земена средната вредност,

ИМТ беше дефиниран како растојание помеѓу intima–lumen interface и media–adventitia interface.

Дијагностички критериуми:

- Нормален ИМТ : $\leq 1.0 \text{ mm}$;
- Зголемен ИМТ: $> 1.0 \text{ mm}$.

Со колор-доплер режим беа оценувани присуство и стратификација на атеросклероза во 4 категории:

- Отсутна атеросклероза;
- Несигнификантна атеросклероза $<30\%$;
- Умерена атеросклероза со стеноза од $30\text{--}50\%$;
- Сигнификантна атеросклероза/етаблирана периферна артериска болест – стеноза $>50\%$, присутен стент или бајпас-графт.

Оваа категоризација беше користена за детекција на макроваскуларни компликации кај ДМТ2 во ран стадиум на ХББ, за статистичка анализа на асоцијацијата меѓу FGF23 и макроваскуларните компликации и асоцијацијата на FGF23 со атеросклеротските промени на долните екстремитети, како и за интеграција во моделите за мултиваријантна анализа.

5.5.4 Ултрасонографски преглед (доплер) на каротидни артерии

Ултрасонографскиот преглед со колор-доплер на каротидните артерии беше изведен кај сите пациенти со цел да се проценат присуство и степен на екстракранијална каротидна атеросклероза, како и да се измери ИМТ. Прегледот беше

изведен од обучен, сертифициран специјалист кардиолог, според препораките на ASE и васкуларните упатства на ACC/АНА.

Прегледот беше изведен со високорезолуциска линеарна сонда 7,5-10 MHz, во B-mode, со опција за колор-доплер, на високорезолутивен ултразвучен апарат Esaote Ultrasound System, SN8200478 (Esaote S.p.A., Genova, Italy).

Пациентот беше поставен во лежечка супинациска положба, со благо екстендиран врат, главата ротирана за приближно 45 степени спротивно од испитуваната страна. беше нанесен воден гел за подобра акустична спроводливост. Овој стандарден протокол овозможи оптимална визуализација на a.carotis communis, бифуркацијата, a. carotis interna и a. carotis externa.

ИМТ беше измерен на a. caroti communis, по следниот стандарден протокол:

- Мерење на задниот сид на артеријата, каде што границите на intima media се појасно видливи;
- Сегмент без атеросклеротски плаки на 2 см проксимално од бифуркацијата;
- На секоја страна беа направени по три мерења, а за анализа беше земена средната вредност;

ИМТ беше дефиниран како растојание помеѓу: intima–lumen interface и media–adventitia interface.

Дијагностички критериуми:

- Нормален ИМТ : $\leq 0.9 \text{ mm}$;
- Зголемен ИМТ: $> 0,9\text{мм}$.

Со колор-доплер режим беа оценувани присуство и стратификација на атеросклероза во 4 категории:

- Отсутна атеросклероза;
- Несигнификантна атеросклероза $<30\%$;
- Умерена атеросклероза со стеноза од 30-50%;
- Сигнификантна атеросклероза/етаблирана болест – стеноза $>50\%$.

Оваа категоризација беше користена за детекција на макроваскуларни компликации кај ДМТ2 во ран стадиум на ХББ, статистичка анализа на асоцијацијата

меѓу FGF23 и макроваскуларните компликации и асоцијацијата на FGF23 со каротидните промени, како и интеграција во моделите за мултиваријантна анализа.

5.5.5 Остеоденситометрија (Dual-Energy X-ray Absorptiometry – DEXA)

Оцената на коскената минерална густина-BMD кај сите пациенти беше изведена со двоен енергетски рендген-апсорпциометриски метод -DEXA. Прегледот се спроведе по стандардизиран протокол согласно препораките на International Society for Clinical Densitometry.

DEXA-прегледот беше изведен со апарат Horizon® DXA System (Hologic Inc., Marlborough, MA, USA), кој користи две енергетски нивоа на рендгенско зрачење за прецизно определување на коскената минерална густина.

Пациентот беше поставен во супинална позиција, со правилна центрираност и имобилизација, согласно стандардните технички препораки.

BMD беше мерена на две анатомски регии, L1-L4 – лумбален ‘рбет и проксимален фемур. Овие региони се референтни точки за проценка на ризик од фрактура и се препорачани од ISCD I KDIGO за проценка на CKD-MBD ризични пациенти.

Резултатите беа изразени со T-score, а интерпретацијата беше направена според критериумите на СЗО:

- Нормална BMD: T score ≥ -1.0 ;
- Остеопенија: T-score помеѓу -1.0 и -2.5;
- Остеопороза: T-score ≤ -2.5 .

За сите мерења беа следени внатрешни контроли на апаратот, дневни калибрации, стандарди предложени од ISCD и препораки за минимизирање на артефакти. Ова овозможи висока прецизност и репродукцибилност на резултатите.

Овие наоди беа користени за проценка на коскената минерална густина како дел од оцената на коскено-минералниот метаболизам и за анализа на неговата изолирана поврзаност со серумските вредности на FGF23.

5.5.6 Офталмолошки преглед

Кај сите пациенти беше извршен офталмолошки преглед со цел да се утврди присуство, степен и тип на дијабетична ретинопатија. Прегледот беше спроведен од специјалист офталмолог, во контролирани амбулантски услови согласно предвидените стандарди. Офталмолошката евалуација опфати повеќе стандардни сегменти:

- **Процена на видна острина**

Видната острина беше измерена монокуларно со коригирана и некоригирана визура, користејќи Snellen или ETDRS табла (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study chart), стандардизиран метод за проценка на видна острина во стандарден осветлен амбиент.

- **Мерење на интраокуларен притисок**

Интраокуларниот притисок беше измерен со бесконтактна тонометрија, со цел исклучување на глауком или други секундарни офталмолошки компликации.

- **Биомикроскопски преглед**

Прегледот беше извршен со проценка на преден очен сегмент, леќа, стаклесто тело и заден очен сегмент. Биомикроскопијата беше изведена со slit-lamp техника и индиректна офталмоскопија за прецизна визуализација на фундусот.

Откако беа собрани сите податоци, резултатите од лабораториските анализи на крвта и на урината и резултатите од дијагностичките процедури, се пристапи кон статистичка анализа на податоците.

- **Преглед на очно дно (фундус)**

Прегледот на очното дно беше изведен по фармаколошка мидријаза (tropicamide 1%), со користење индиректен офталмоскоп и фундус камера.

Ретинопатијата беше детектирана како присутна или отсутна. Наодите од прегледот на очното дно се користеа за детекција на микроваскуларни компликации и нивна асоцијација со FGF23, за класификација на пациентите според присуство/отсуство на ретинопатија и за анализа на асоцираноста со FGF23.

5.6 Статистичка анализа на податоци

Статистичка анализа на податоците беше направена во статистичкиот софтвер SPSS (вер. 25.0; IBM, SPSS, USA). Kolmogorov-Smirnov тест и Shapiro Wilk's тест беа користени за тестирање на нормалноста на дистрибуцијата на податоците.

Категориските (атрибутивни) варијабли се прикажани со апсолутни и релативни броеви. Нумеричките (квантитативни) варијабли се прикажани со просек, стандардна девијација, минимални и максимални вредности, медијална вредност и интерквартилен ранк.

За споредување на нумеричките (квантитативни) варијабли беа користени параметарски тестови за два и повеќе независни примероци (Student t-test for independent samples и Analysis of Variance).

Корелацијата помеѓу FGF23 и варијаблите од интерес беше анализирана со Pearson-ов коефициент на линеарна корелација.

Мултиваријантна логистичка регресиона анализа со одредување на Odd ratio (OR) и 95% CI беше употребена за одредување на независните прогностички фактори асоцирани со дијабетична нефропатија, атеросклероза на нозе и на каротиди и ретинопатија.

Мултиваријантна линеарна регресиона анализа беше употребена за одредување на независните прогностички фактори асоцирани со гломеруларната филтрациона рата и FGF23.

ROC-анализа со одредување на плоштината под ROC-кривата AUC (Area Under the Curve) беше употребена за да се одреди дискриминаторската способност на FGF23 за предикција на ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција кај пациенти со ДМТ2. Статистичката сигнификантност ќе биде дефинирана на ниво на $p < 0.05$.

6. РЕЗУЛТАТИ

6.1 Описна анализа на клиничките и биохемиските карактеристики на испитуваната популација

Во истражувањето беа вклучени 106 испитаници (N=106), пациенти од Центарот за дијабетес во ГОБ „8 Септември“, со ДМТ2 во ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција. Имавме и контролна група од 42 пациенти за одредување на cut off вредност на FGF23.

6.1.1 Демографски карактеристики

Половата структура на пациентите ја сочинуваа 52 (49.06%) женски и 54 (50.94%) машки пациенти.

Пациентите беа на возраст од 38 до 80 години, со просечна возраст од 67.4 ± 7.6 години. Доминираа пациенти на возраст постари од 65 години – 69 (65.09%). Активни пушачи беа 83 пациенти (78.3%).

Најкраткото времетраење на дијабетесот изнесуваше 1 година, максималното времетраење беше 40 години, просечното времетраење изнесуваше 10.4 ± 8.4 години; 57 пациенти (53.77%) имаа дијабетес мелитус тип 2 повеќе од 10 години – 57 (53.77%); 41 пациент (38.68%) имаа историја на докажана кардиоваскуларна болест или имале некој кардиоваскуларен настан.

Индексот на телесната маса имаше вредност во ранг 22.2-39.9 kg/m², просечниот индекс изнесуваше 29.94 ± 4.1 kg/m²; пациентите најчесто имаа прекумерна телесна тежина – 43 (40.57%), следено со гојазни пациенти од класа 1 – 37 (34.91%) (Табела 1)

Табела 1. Основни карактеристики на пациентите

Варијабла		n (%)
Пол	женски	52 (49.06)
	машки	54 (50.94)
Возраст (години)	mean $\pm$ SD (min- max)	(67.4 $\pm$ 7.6) (38 – 80)
	$\leq$ 65 год.	37 (34.91)
	> 65 год.	69 (65.09)
Пушачки статус	да	83 (78.3)
	не	23 (21.7)
Времетраење на ДМТ2 (години)	mean $\pm$ SD (min- max)	10.4 $\pm$ 8.4 (1 – 40)
	median (IQR)	10 (3 – 16)
Времетраење на ДМТ2	$\leq$ 5 год.	40 (37.74)
	6 – 9 год.	9 (8.49)
	> 10 год.	57 (53.77)
Етаблирана КВБ и/или КВ настан	да	41 (38.68)
	не	65 (61.32)
BMI (kg/m ²)	mean $\pm$ SD (min- max)	29.94 $\pm$ 4.1 (22.2 – 39.9)
BMI	нормална тт	13 (12.26)
	прекумерна тт	43 (40.57)
	гојазност класа 1	37 (34.91)
	гојазност класа 2	13 (12.26)
FGF23 (pg/ml)	(mean $\pm$ SD) (min- max)	118.67 $\pm$ 32.3(65 – 194)

ДМТ2 – Дијабетес мелитус тип 2, КВБ – кардиоваскуларна болест, КВ – кардиоваскуларен , FGF23 – Fibroblast Growth Factor 23-Фибробластен фактор на раст 23, BMI – Body Mass Index – Индекс на телесна маса

6.1.2 Микроваскуларни компликации

Дијабетична нефропатија

Дијабетична нефропатија беше дијагностицирана кај 77 пациенти (72.64%). Гломеруларната фракциона рата се движеше во ранг 45 – 70 ml/min/1.73m² , просечно изнесуваше 58.61 $\pm$ 8.0 ml/min/1.73m².

Просечната вредност на албуминуријата изнесуваше 76.67 ± 110.99 mg/l, минималните и максимални вредности беа 1.3 и 368 mg/l, медијаната изнесуваше 23.8 mg/l (50% пациенти имаа албуминурија повисока од 23.8 mg/l). Повеќе од 50% пациенти имаа албуминурија пониска од 30 mg/l – 58 (54.72%), над 300 mg/l албумини во урина беа детектирани кај 14 пациенти (13.21%) (Табела 2).

Табела 2. Карактеристики на дијабетичната нефропатија според eGFR и албуминуријата

Варијабли		n (%)
Дијабетична нефропатија	eGFR <60 ml/min/1.73m ² албуминурија >30 mg/l	77 (72.64)
eGFR (ml/min/1.73m ²)	mean $\pm$ SD (min- max)	58.61 $\pm$ 8.0 (45 – 70)
Албуминурија (mg/l)	mean $\pm$ SD (min- max) median (IQR)	76.67 $\pm$ 110.99 (1.3 – 368) 23.8 (10.9 – 78)
Албуминурија (mg/l)	<30	58 (54.72)
	31 – 300	34 (32.07)
	>300	14 (13.21)

eGFR – Estimeted Glomerular Filtration Rate - калкулирана гломеруларна филтрациона рата

Дијабетична ретинопатија

Кај 32 пациенти (30.19%) беше докажана дијабетична ретинопатија. Просечната видна остринa изнесуваше 0.79 ± 0.4 на десното око, 0.70 ± 0.2 на левото око - намалена видна остринa на десното око имаа 81 пациент (76.41%), а 80 пациенти (75.47%) на левото око.

Тонусот на десно око просечно изнесуваше 14.21 ± 2.6 и беше нормален кај сите пациенти; 14.68 ± 3.1 изнесуваше во просек тонусот на левото око и беше намален кај 3 (2.8%) пациенти. Катаракта има 82 (77.36%) пациенти.

Табела 3.Офталмолошки параметри и присуство на дијабетична ретинопатија кај испитаниците

Варијабли		n (%)
Дијабетична ретинопатија	да	32 (30.19)
	не	69 (65.09)
Видна остринa на десно око	mean ± SD (min- max)	0.79 ± 0.4 (0 – 1)
	нормална	21 (19.81)
	намалена	81 (76.41)
Видна остринa на лево око	mean ± SD (min- max)	0.70 ± 0.2 (0 – 1)
	нормална	22 (20.75)
	намалена	80 (75.47)
Тонус на десно око	mean ± SD (min- max)	14.21 ± 2.6 (9 – 21)
	нормален	102 (100)
Тонус на лево око	mean ± SD (min- max)	14.68 ± 3.1 (7 – 24)
	нормален	99 (93.4)
	намален	3 (2.8)
	missing	4 (3.8)
Катаракта	да	82 (77.36)
	не	20 (18.87)
	missing	4 (3.8)

Макроваскуларни компликации

Периферна артериска болест, односно периферна дијабетична ангиопатија имаа 100 пациенти (94.34%).

Периферна артериска болест на долни екстремитети (ПАБДЕ) беше детектирана кај 86 пациенти (81.13%), при што етаблирана атеросклероза кај 15 пациенти (14.15%).

Екстракранијална каротидна болест (ЕККБ) беше потврдена кај 89 пациенти (83.96%), етаблирана атеросклероза на каротиди имаа 12 пациенти (11.32%).

Табела 4. Периферна и каротидна артериска болест кај испитаниците

Варијабла		n (%)
Периферна дијабетична ангиопатија (ПДА)		100 (94.34%)
Периферна артериска болест на долни екстремитети (ПАБДЕ)		
Бифеморален ИМТ	(mean $\pm$ SD) (min- max)	90.68 $\pm$ 0.1 (0.4 – 1.51)
Атеросклеоза на долни екстремитети	нема	19 (17.92)
	несигнификантна АС	56 (52.83)
	сигнификантна АС	15 (14.15)
	етабл. ПАБ >50%	15 (14.15)
	missing	1 (0.94)
Екстракранијална каротидна болест (ЕККБ)		
ИМТ каротиди	(mean $\pm$ SD) (min- max)	(0.72 $\pm$ 0.2) (0.48 – 1.9)
Каротидна атеросклероза	нема	16 (15.09)
	несигнификантна АС	58 (54.72)
	сигнификантна АС	19 (17.92)
	етабл.ПАБ >50%	12 (11.32)
	missing	1 (0.94)

ИМТ – IMT – Intima media thicknes, АС - атеросклероза

Нарушување на коскено-минералниот метаболизам

Преваленцата на нарушен коскено минерален метаболизам во оваа кохорта на пациенти изнесуваше 71.7% (76 пациенти). Нарушена коскена структура беше регистрирана кај 52 пациенти (49.06%). Согласно резултатите од ДЕКСА-скенот, нарушена коскена структура на 'рбетот имаа 35 пациенти (33.02%), кај 29 (27.36%) беше детектирана остеопенија, кај 6 (5.66%) остеопороза; нарушена коскена структура на колк имаа 37 пациенти (34.91%), кај 31 (29.24%) беше детектирана остеопенија, кај 6 (5.66%) остеопороза.

Витаминот Д просечно изнесуваше 53.44 ± 26.9 nmol/l, минималните и максималните вредности беа во ранг 10.5 – 132 nmol/l, медијаната на вредностите изнесуваше 48.43 (33.5 – 73.6) nmol/l; 82 пациенти (77.36%) имаа намален витамин Д.

Вредностите на РТН се движеа во ранг 2.4-213 pg/ml, просечните вредности беа 63.06 ± 31.6 pg/ml, медијалните вредности 62.25 (41.88 – 75.3) pg/ml; намалени вредности беа регистрирани кај 1 пациент (0.94%), зголемени кај 49 пациенти (46.23%).

Калциумот имаше просечни вредности 2.36 ± 0.2 mmol/l, вредностите се движеа во ранг 1.11 – 2.62 mmol/l; 2 пациенти (1.89%) имаа намален калциум, 9 пациенти (9.49%) имаа покачен калциум.

Вредностите на фосфор се движеа во ранг 0 – 2 mmol/l, просечно изнесуваа 1.14 ± 0.2 mmol/l; 4 пациенти (3.77%) имаа нормален фосфор, 2 пациенти (1.89%) имаа покачен фосфор.

Алкалната фосфатаза просечно изнесуваше 77.18 ± 29.2 U/L, минимални и максимални вредности 31 – 205 U/L; кај 8 пациенти (7.55%) алкалната фосфатаза беше покачена.

Табела 5. Маркери на коскено-минерален метаболизам и коскена густина кај испитаниците

Варијабла		n (%)
Нарушен коскено-минерален метаболизам		76 (71.7)
Нарушена коскена структура		52 (49.06%)
ДЕКСА 'рбет	нормален	65 (61.32)
	остеопенија	29 (27.36)
	остеопороза	6 (5.66)
	missing	6 (5.66)
ДЕКСА колк	нормален	62 (58.49)
	остеопенија	31 (29.24)
	остеопороза	6 (5.66)
	missing	7 (6.6)
Витамин Д (nmol/l)	mean $\pm$ SD (min- max)	53.44 $\pm$ 26.9 (10.5 – 132)
	median (IQR)	48.43 (33.5 – 73.6)
Витамин Д (nmol/l)	намалени вредности	82 (77.36)
	нормални вредности	24 (22.64)
PTH (pg/ml)	mean $\pm$ SD (min- max)	63.06 $\pm$ 31.6 (2.4 – 213)
	median (IQR)	62.25 (41.88 – 75.3)
	намалени вредности	1 (0.94)
	нормални вредности	56 (52.83)
	зголемени вредности	49 (46.23)
Калциум (mmol/l)	mean $\pm$ SD (min- max)	2.36 $\pm$ 0.2 (1.11 – 2.62)
	намалени вредности	2 (1.89)
	нормални вредности	95 (89.62)
	зголемени вредности	9 (8.49)
Фосфор (mmol/l)	mean $\pm$ SD (min- max)	1.14 $\pm$ 0.2 (0 – 2)
	намалени вредности	4 (3.77)
	нормални вредности	100 (94.34)
	зголемени вредности	2 (1.89)
Алкална фосфатаза (U/L)	mean $\pm$ SD (min- max)	77.18 $\pm$ 29.2 (31 – 205)
	нормални вредности	98 (92.45)
	зголемени вредности	8 (7.55)

ДЕКСА - DEXA - Dual-Energy X-ray Absorptiometry – Остеодензитометрија;

ПТХ - PTH – ParaThyroid Hormone – паратиroidен хормон

Фармаколошка терапија

Во Табела 6 е прикажана дистрибуцијата на пациентите според видот на терапијата што ја примаат.

Табела 6. Фармаколошка терапија кај испитаниците

Терапија	n (%)
Metformin	89 (83.96)
SU	17 (16.04)
Insulin	46 (43.4)
SGLT2-inh	33 (31.13)
GLP1-RA	9 (8.49)
ACE/ARB	96 (90.57)
Calcium antagonist	48 (45.28)
Бета адренергички блокатор	65 (61.32)
Furosemid	24 (22.64)
Hydrochlorothiazid	17 (16.04)
Spirinolakton	11 (10.38)
Indapamid	14 (13.21)
Антиагрегациона терапија	61 (57.55)

SU – sulfonyleurea, SGLT2 - Sodium–Glucose Co-Transporter 2– натриум-глюкозен котранспортер тип 2; GLP-1 RA -Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists– агонисти на рецепторот за глукагон-сличен пептид-1; ACE/ARB –Angiotensin Converting Enzymes inhibitors / Angiotensin II Receptor Blockers – лекови кои делуваат врз ренин-ангиотензин-алдостеронскиот систем

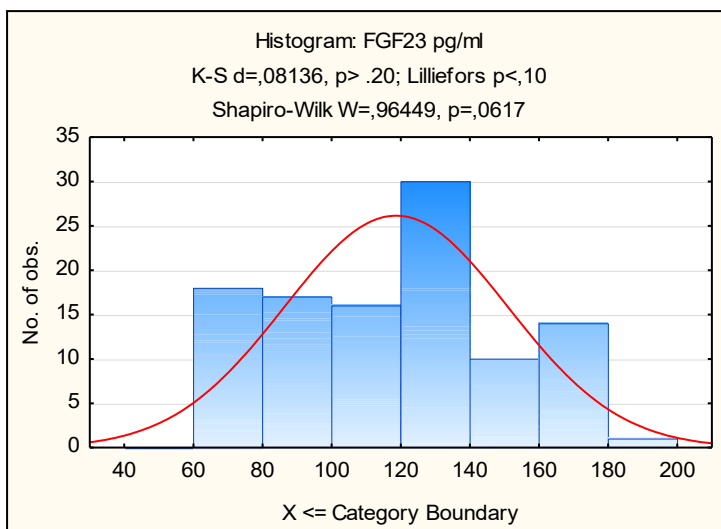
6.1.6 Дистрибуција на FGF23 кај испитуваниот примерок

Биомаркерот fibroblast growth factor 23 (FGF23) во оваа кохорта на пациенти со ДМ тип 2 во ран стадиум на ХББ имаше вредности што се движеа во ранг 65 – 194 pg/ml, просечно изнесуваше 118.67 ± 32.3 pg/ml.

Табела 7. Описни статистики за серумскиот FGF23 кај испитаниците

Варијабла	n	mean $\pm$ SD	min- max
FGF23(pg/ml)	106	118.67 ± 32.3	65 – 194

FGF23 – Fibroblast growth factor 23



Слика 3. Хистограм и нормална крива за серумски FGF23

Корелациона анализа меѓу ФГФ23 и клиничко-лабораториските параметри

6.2.1 Демографски и животен стил

Полот на пациентите немаше сигнификантно влијание врз серумската концентрација на FGF23. Вредностите на овој биомаркер беа несигнификантно повисоки кај пациентите од женски пол споредено со машките пациенти (124.71 ± 31.5 vs 112.85 ± 32.3 pg/ml).

Табела 8. Вредности на FGF23 според пол

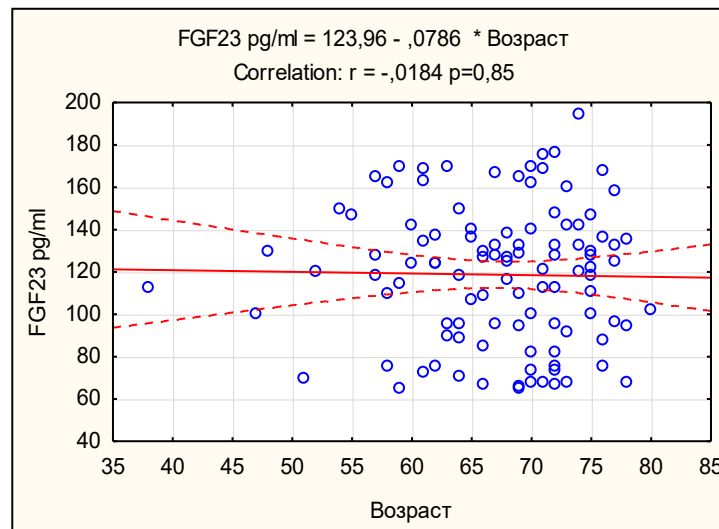
Пол	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
Женски	52	124.71 ± 31.5	65 – 194	t=1.9 p=0.059
Машки	54	112.85 ± 32.3	65 – 176	
t (Student t-test)				

FGF23 просечно изнесуваше 119.43 ± 30.4 pg/ml кај пациентите на 65-годишна возраст и помлади, 118.26 ± 33.6 pg/ml кај пациентите постари од 65 години, без сигнификантна разлика меѓу двете возрастни групи (p=0.859).

Табела 9. Вредности на FGF23 според возрастни групи

Возраст (години)	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
≤ 65	37	119.43 ± 30.4	65 – 170	t=0.18
> 65	69	118.26 ± 33.6	65 – 194	p=0.859
t (Student t-test)				

Испитуваната корелација помеѓу возраста на пациентите и серумското ниво на FGF23 беше несигнификантна ($r = -0.0184$, $p=0.85$).



Слика 4. Корелација помеѓу возраста и серумскиот FGF23

Пушачите имаа несигнификантно повисоки вредности на FGF23 во серум од непушачите (120.69 ± 31.4 vs 118.11 ± 32.8 pg/ml, $p=0.698$).

Табела 10. Вредности на FGF23 според пушачки статус

Пушачки статус	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
да	23	120.69 ± 31.4	66 – 170	t=0.34
не	83	118.11 ± 32.8	65 - 194	p=0.736
t (Student t-test)				

6.2.2 Антропометриски и метаболни параметри

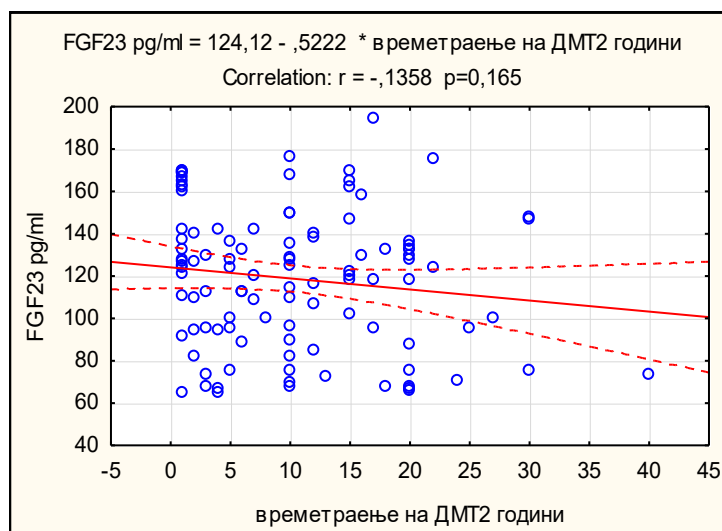
Не беше најдена статистичка сигнификантна разлика меѓу вредностите на FGF23 кај пациентите со времетраење на дијабет ≤ 5 , 5-9 и >9 години ($p=0.698$). Просечните вредности на биомаркерот во овие три групи изнесуваа 121.40 ± 33.2 , 111.78 ± 17.8 и 117.84 ± 33.7 pg/ml, соодветно.

Табела 11. Вредности на FGF23 според времетраење на дијабетесот

ДМ / години	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
≤ 5	40	121.40 ± 33.2	65 – 170	F=0.36 p=0.698
6 – 9	9	111.78 ± 17.8	89 – 142	
> 9	57	117.84 ± 33.7	66 – 194	
F (Analysis of Variance)				

ДМ- дијабетес мелитус

FGF23 не корелираше сигнификантно со должината на траење на дијабетесот ($r = -0.1358$, $p=0.165$).



Слика 5. Корелација помеѓу времетраењето на ДМТ2 и FGF23

Пациентите со/без етаблирана кардиоваскуларна болест и/или кардиоваскуларен настан имаа несигнификантно различни просечни вредности на FGF23 (114.02 ± 34.7 vs 121.60 ± 30.6 pg/ml, $p=0.24$)

Табела 12. Вредности на FGF23 во однос на етаблирана кардиоваскуларна болест

Етаблирана КВБи/илиКВ	FGF23(pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
да	41	114.02 ± 34.7	65 – 176	t=1.18 p=0.24
не	65	121.60 ± 30.6	67 – 194	
t (Student t-test)				

КВБ – кардиоваскуларна болест; КВ – кардиоваскуларен

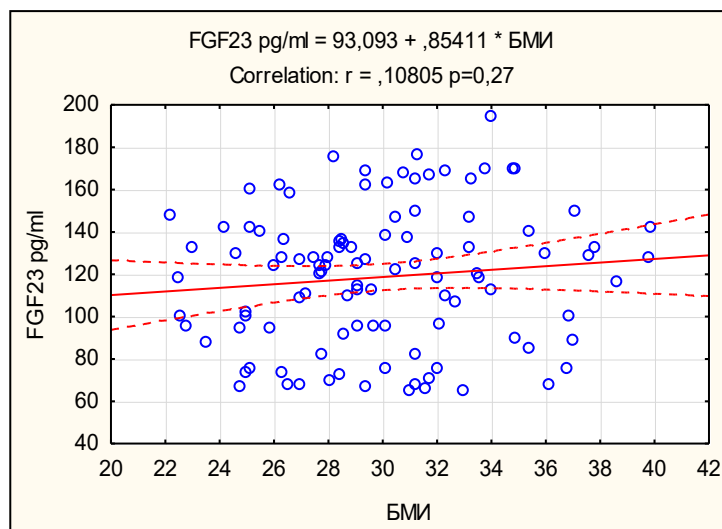
Пациентите со BMI <25 kg/m² имаа најниски просечни вредности на FGF23 (106.85 ± 25.4 pg/ml), следено со пациентите со BMI од 35-39.9, од 25.1-29.9 и од 30-34.9 kg/m² (114.15 ± 27.5 , 117.86 ± 29.3 и 125.35 ± 38.4 pg/ml, соодветно). Разликите во нивото на FGF23 во серум меѓу категориите на BMI не беа статистички сигнификантно различни ($p=0.31$).

Табела 13. Вредности на FGF23 според категории на BMI

BMI (kg/m²)	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
< 25	13	106.85 ± 25.4	67 – 148	F=1.21 p=0.31
25.1 – 29.9	43	117.86 ± 29.3	67 – 175	
30 – 34.9	37	125.35 ± 38.4	65 – 194	
35 – 39.9	13	114.15 ± 27.5	68 – 150	
F (Analysis of Variance)				

BMI – Body Mass Index – Индекс на телесна маса

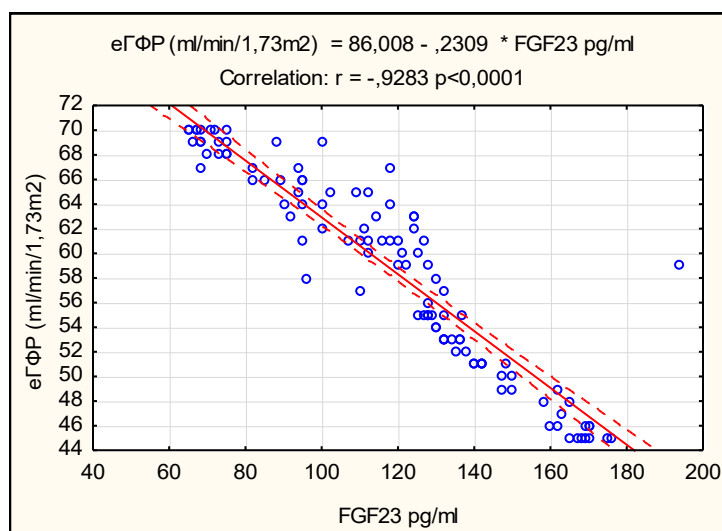
Испитуваната корелација помеѓу серумското ниво на FGF23 и Индексот на телесната маса не беше сигнификантна ($r = 0.108$, $p=0.270$).



Слика 5. Корелација помеѓу серумското ниво на FGF23 и Индексот на телесна маса

6.2.3 Корелациони анализи на ФГФ23 со ренална функција и дијабетична нефропатија

FGF23 сигнификантно корелираше со гломеруларната филтрациона рата ($p < 0.0001$). Согласно вредноста на Pearson-овиот коефициент на линеарна корелација ($r = -0.9283$), корелацијата е негативна, што сугерира на заклучок дека повисоките вредности на FGF23 може да бидат поврзани со намалена eGFR, односно намалена бубрежна функција.



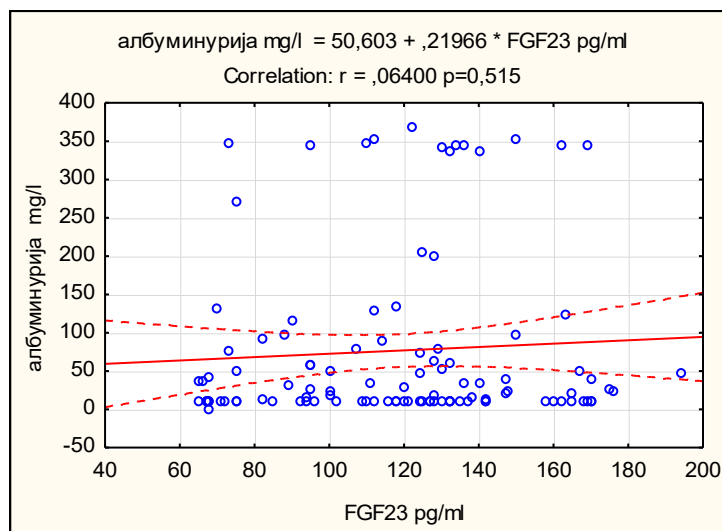
Слика 6. Корелација помеѓу серумското ниво на FGF23 и eGFR

Просечните вредности на FGF23 меѓу групите пациенти со албуминурија ≤ 30 (119.55 ± 33.1 pg/ml), 31-300 (113.29 ± 33.5 pg/ml) и >300 mg/l (128.07 ± 25.3 pg/ml) не беа сигнификантно различни ($p=0.342$).

Табела 14. Вредности на FGF23 според категории на албуминурија

Албуминурија mg/l	FGF23(pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
≤ 30	58	119.55 ± 33.1	65 – 176	F=1.08 p=0.342
31 – 300	34	113.29 ± 33.5	65 – 194	
>300	14	128.07 ± 25.3	73 – 169	
F (Analysis of Variance)				

FGF23 несигнификантно корелираше со вредностите на албуминурија ($r = 0.064$, $p=0.515$).



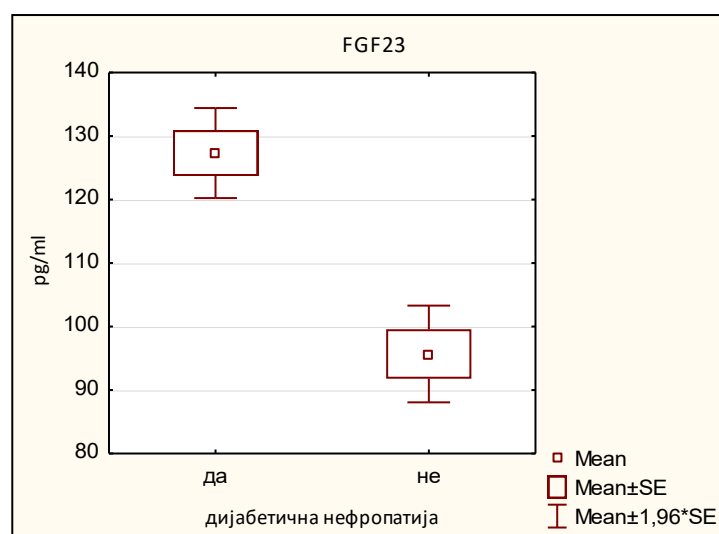
Слика 7. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на албуминурија

Пациентите со дијабетична нефропатија имаа просечен FGF23 од 95.69 ± 33.1 pg/ml, кај пациентите без дијабетична нефропатија просечните вредности на

FGF23 изнесуваа 125.32 ± 31.7 pg/ml, разликата од просечни 31.63 pg/ml беше статистички сигнификантна, за $p=0.000003$. Значајно повисоки вредности на FGF23 имаа пациентите со дијабетична нефропатија споредено со пациентите без дијабетична нефропатија.

Табела 15. Вредности на FGF23 кај пациенти со и без дијабетична нефропатија

Дијабетична нефропатија	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean $\pm$ SD	min- max	
да	77	127.32 ± 31.7	65 – 194	t=4.97 p=0.000003
не	29	95.69 ± 20.9	67 – 127	



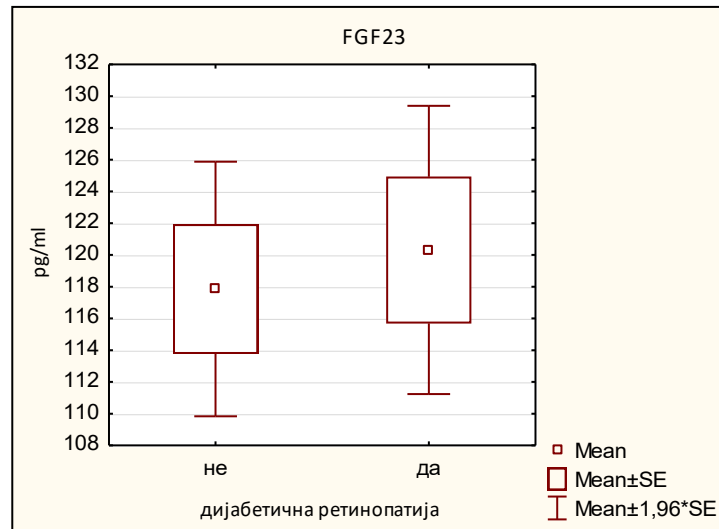
Слика 8. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со и без дијабетична нефропатија

6.2.4 Офталмолошки параметри и дијабетична ретинопатија

Пациентите со дијабетична ретинопатија имаа несигнификантно повисоки вредности на FGF23 од пациентите без ретинопатија како последица на дијабетесот (120.31 ± 26.2 vs 117.85 ± 33.9 pg/ml, $p=0.72$).

Табела 16. Вредности на FGF23 кај пациенти со и без дијабетична ретинопатија

Дијабетична ретинопатија	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean $\pm$ SD	min- max	
да	32	120.31 $\pm$ 26.2	72 – 175	t=0.36
не	69	117.85 $\pm$ 33.9	65 – 194	p=0.72
t (Student t-test)				



Слика 9. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со и без дијабетична ретинопатија

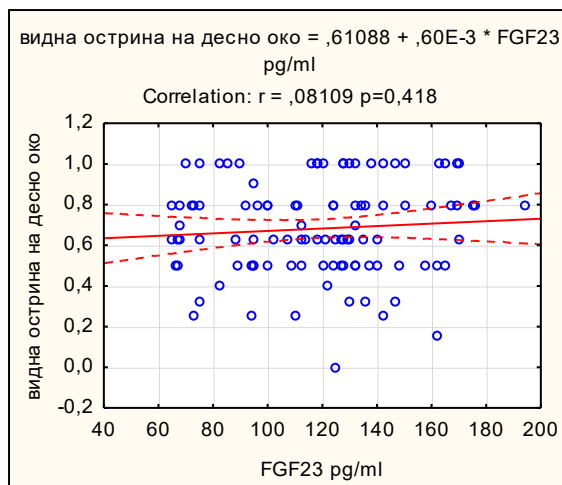
Несигнификантно различни вредности на FGF23 беа регистрирани кај пациентите со нормална и намалена видна острина на десното и левото око (125.52 ± 30.9 vs 116.86 ± 31.5 pg/ml, $p=0.263$ и 115.50 ± 31.3 vs 119.51 ± 31.6 pg/ml, $p=0.6$, соодветно).

Табела 17. Вредности на FGF23 во однос на видната острина на десното и левото око

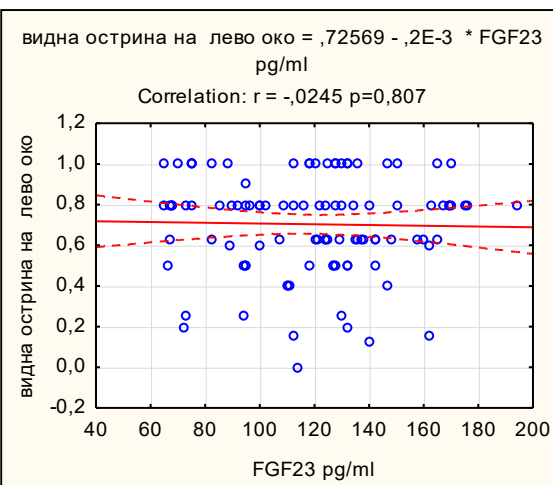
Варијабла		FGF23(pg/ml)			p-level
		n	mean ± SD	min- max	
Видна острина на десно око	нормална	21	125.52 ± 30.9	70 – 170	t=1.13
	намалена	81	116.86 ± 31.5	65 – 194	p=0.263
Видна острина на лево око	нормална	22	115.50 ± 31.3	65 – 170	t=0,53 p=0.6
	намалена	80	119.51 ± 31.6	65 – 194	
t (Student t-test)					

FGF23 несигнификантно корелираше со видната острина на двете очи ($r = 0.0811$, $p=0.418$ десно око, $r = -0.0245$, $p=0.807$ лево око).

Слика 10



Слика 10а



Слика 10. Корелација помеѓу FGF23 и видната острина на десното око

Слика 10а. Корелација помеѓу FGF23 и видната острина на левото око

Сите пациенти имаа нормален тонус на десното око, со просечен FGF23 од 118.65 ± 31.4 pg/ml. На левото око, пациентите со намален тонус имаа повисоки просечни вредности на FGF23 од пациентите со нормален тонус (152.67 ± 14.4 vs 117.62 ± 31.3 pg/ml), но без статистичка сигнификантна разлика ($p=0.057$).

Табела 18. Вредности на FGF23 во однос на очниот тонус на десното око

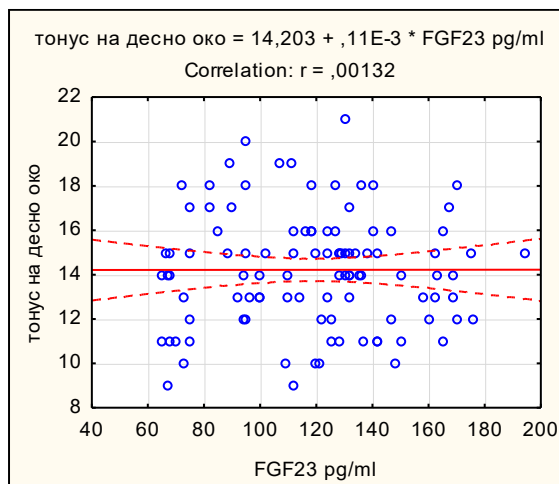
тонус на десно око	FGF23 (pg/ml)		
	n	mean $\pm$ SD	min- max
нормален	102	118.65 ± 31.4	65 – 194
t (Student t-test)			

Табела 19. Вредности на FGF23 во однос на очниот тонус на левото око

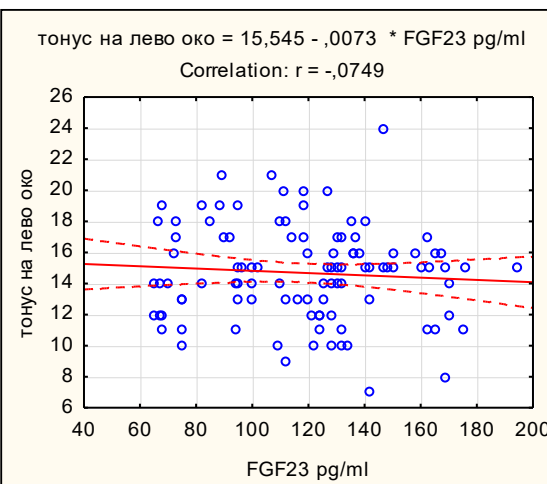
тонус на лево око	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
Нормален	99	117.62 ± 31.3	65 – 194	t=1.93 p=0.057
Намален	3	152.67 ± 14.4	142 – 169	
t (Student t-test)				

FGF23 несигнификантно корелираше со тонусот на двете очи ($r = 0.0013$, $p=0.989$ десно око, $r = -0.0749$, $p=0.454$ лево око).

Слика 11



Слика 11а



Слика 11. Корелација помеѓу FGF23 и очниот тонус на десното око

Слика 11а. Корелација помеѓу FGF23 и очниот тонус на левото око

Просечните вредности на FGF23 беа слични кај пациентите со/без катаракта (115.05 ± 31.5 vs 115.05 ± 31.6 pg/ml, $p=0.571$).

Табела 20. Вредности на FGF23 кај пациенти со и без катаракта

Катаракта	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean ± SD	min- max	
да	82	115.05 ± 31.5	65 – 194	t=0.57 p=0.571
не	20	115.05 ± 31.6	65 – 169	
t (Student t-test)				

6.2.5 Макроваскуларни параметри

Пациентите со етаблирана атеросклероза на нозете имаа повисоки просечни вредности на FGF23 во однос на пациентите без атеросклероза, со несигнификантна и сигнификантна атеросклероза (131.47 ± 30.5 pg/ml vs 113.16 ± 35.9 , 114.0 ± 29.8 и 118.77 ± 32.3 pg/ml, соодветно), но без статистичка потврдена сигнификантност ($p=0.367$).

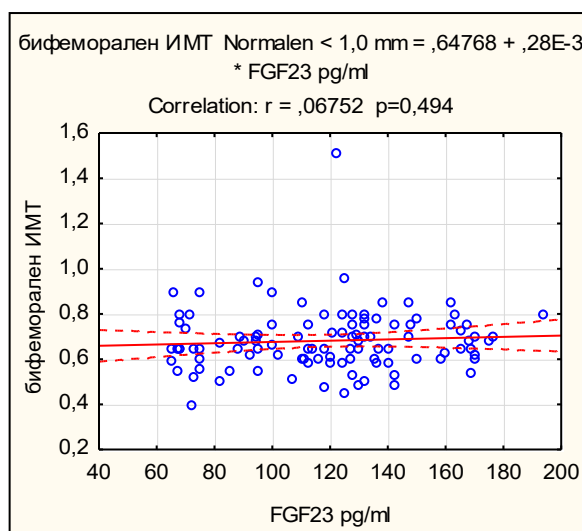
Несигнификантна беше разликата во просечните вредности на FGF23 меѓу пациентите без атеросклероза, со несигнификантна, сигнификантна и етаблирана атеросклероза на каротидите (114.64 ± 31.3 , 116.31 ± 34.0 , 129.31 ± 32.7 и 129.58 ± 33.6 pg/ml, соодветно; $p=0.255$).

Табела 21. Вредности на FGF23 во однос на степенот на атеросклероза на нозете и каротидна атеросклероза

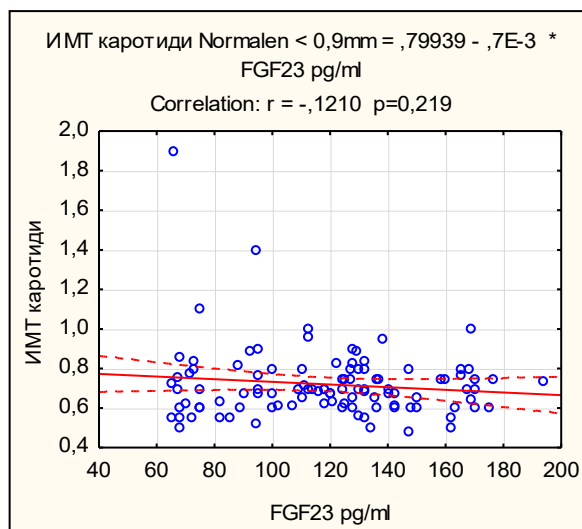
Варијабла		FGF23(pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Атеросклероза на долни екстремитети	нема	19	113.16 ± 35.9	65 – 194	F=1.07 p=0.367
	несигнификантна	56	114.0 ± 29.8	67 – 170	
	сигнификантна	15	118.77 ± 32.3	65 – 175	
	етаблирана ПАБ	15	131.47 ± 30.5	75 – 176	
Каротидна атеросклероза	нема	16	114.64 ± 31.3	67 – 194	F=1.37 p=0.255
	несигнификантна	58	116.31 ± 34.0	65 – 170	
	сигнификантна	19	129.31 ± 32.7	65 – 175	
	етаблирана ПАБ	12	129.58 ± 33.6	66 – 176	

F (Analysis of Variance)

FGF23 несигнификантно корелираше со резултатите од доплер за бифеморалниот ИМТ на артериите на долните екстремитети ($r = 0.0675$, $p=0.494$) и со ИМТ на каротидните крвни садови ($r = -0.121$, $p=0.219$).



Слика 12. Корелација помеѓу FGF23 и бифеморален ИМТ



Слика 12а. Корелација помеѓу FGF23 и каротиден ИМТ

Пациентите со периферна дијабетична ангиопатија имаа повисоки просечни вредности на FGF23 од пациентите без периферна артериска болест (119.96 ± 32.4 vs 97.4 ± 27.1 pg/ml), но разликата не беше статистички сигнификантна ($p=0.1295$).

Табела 22. Вредности на FGF23 кај пациенти со и без периферна дијабетична ангиопатија

варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
ПАБ	да	100	119.96 ± 32.4	65 – 194	t=1.53 p=0.129
	не	5	97.40 ± 27.1	65 – 127	

ПАБ – периферна артериска болест

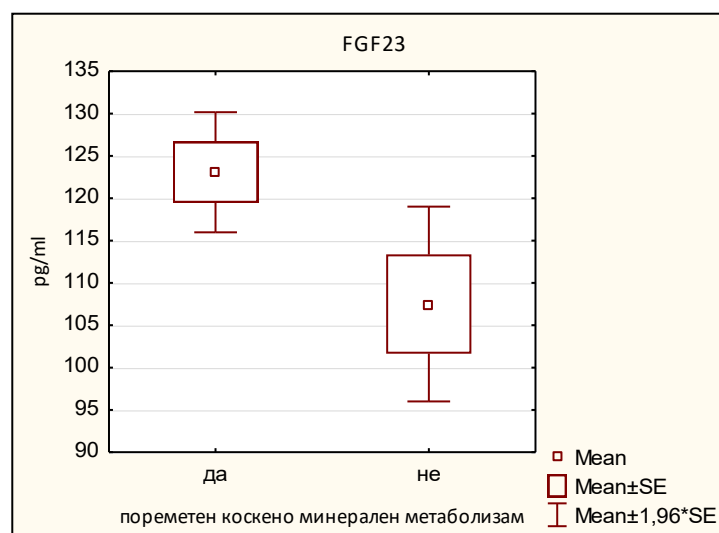
6.2.6 Корелациона анализа меѓу коскено-минерален метаболизам и коскена густина

FGF23 имаше повисоки просечни вредности кај пациентите со нарушен коскено-минерален метаболизам споредено со пациентите без коскено-минерално нарушување (123.08 ± 31.5 vs 107.5 ± 32.1 pg/ml); разликата од просечни 15.58 pg/ml

беше сигнификантна, за $p=0.025$. Пациентите со нарушен коскено-минерален метаболизам имаа значајно повисоко серумско ниво на FGF23.

Табела 23. Вредности на FGF23 кај пациенти со и без нарушен коскено-минерален метаболизам

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Нарушен коскено минерален метаболизам	да	76	123.08 $\pm$ 31.5	65 – 194	t=2.28
	не	30	107.50 $\pm$ 32.1	66 – 176	p=0.025



Слика 13. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со и без нарушен коскено-минерален метаболизам

Пациентите со остеопороза на 'рбетот имаа највисоки просечни вредности на FGF23 (123.33 ± 39.5 pg/ml), по кои следуваа пациентите со остеопенија и нормален DEXA-скен на 'рбетот (120.89 ± 32.1 и 116.23 ± 32.9 pg/ml, соодветно). Просечните вредности на FGF23 кај пациентите без нарушена коскена густина на рбетот, пациентите со остеопенија и остеопороза не беа статистички сигнификантно различни ($p=0.754$).

И пациентите со остеопороза на колк имаа несигнификантно повисоки просечни вредности на FGF23 споредено со пациентите со остеопенија и нормален

DEXA-скен на колк (134.33 ± 38.1 pg/ml vs 115.55 ± 31.6 pg/ml vs 116.43 ± 31.8 pg/ml), $p=0.4$)

Табела 24. Вредности на FGF23 според DEXA-категиите на 'рбетот и колкот

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
DEXA 'рбет	нормален	65	116.23 ± 32.9	65 – 194	F=0.28 p=0.754
	остеопенија	29	120.89 ± 32.1	65 – 170	
	остеопороза	6	123.33 ± 39.5	72 – 168	
DEXA колк	нормален	62	116.43 ± 31.8	66 – 176	F=0.91 p=0.4
	остеопенија	31	115.55 ± 31.6	65 – 175	
	остеопороза	6	134.33 ± 38.1	82 – 169	

F (Analysis of Variance)

DEXA - Dual-Energy X-ray Absorptiometry – остеодезитометрија

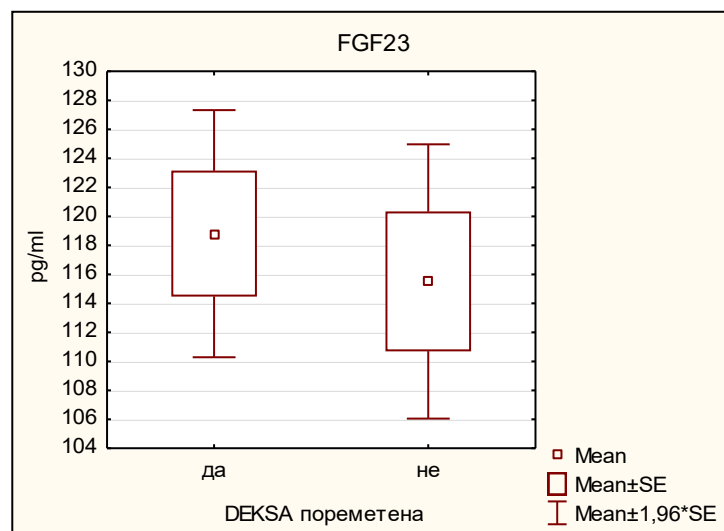
FGF23 имаше несигнификантно повисоки просечни вредности кај пациентите со нарушен DEXA на 'рбет споредено со пациентите со нормални вредности за овој параметар (121.31 ± 32.8 pg/ml vs 116.23 ± 32.9 pg/ml), $p=0.46$), кај пациентите со нарушен DEXA на колк споредено со пациентите со нормални вредности за овој параметар (118.59 ± 32.9 pg/ml vs 116.43 ± 31.8 pg/ml), $p=0.75$), и кај пациентите со нарушен DEXA споредено со пациентите со нормални вредности за овој параметар (118.81 ± 31.4 pg/ml vs 115.51 ± 33.1 pg/ml), $p=0.62$).

Табела 25. Вредности на FGF23 според нормален и нарушен DEXA-статус ('рбет, колк и скелет)

варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
DEXA 'рбет	нормален	65	116.23 ± 32.9	65 – 194	t=0.74 p=0.46
	нарушен	35	121.31 ± 32.8	65 – 170	
DEXA колк	нормален	62	116.43 ± 31.8	66 – 176	t=0.32 p=0.75
	нарушен	37	118.59 ± 32.9	65 – 175	
DEXA скелет	нормален	47	115.51 ± 33.1	66 – 176	t=0.51 p=0.62
	нарушен	52	118.81 ± 31.4	65 – 175	

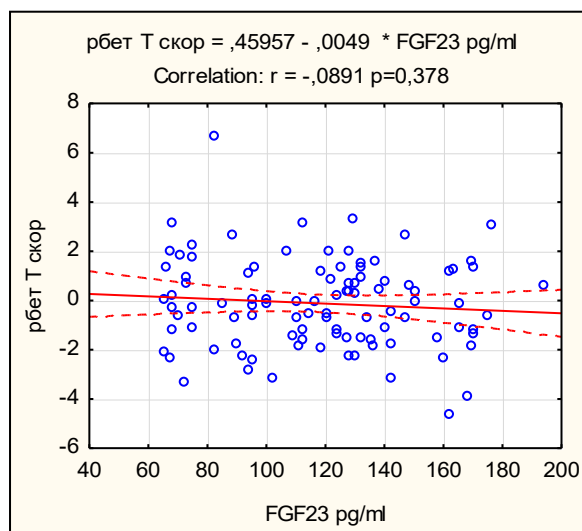
t (Student t-test)

DEXA - Dual-Energy X-ray Absorptiometry – остеоденситометрија

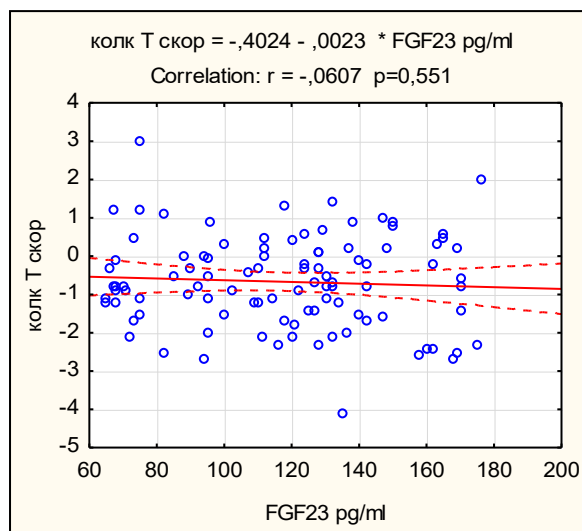


Слика 14. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со и без нарушен DEXA-наод

FGF23 несигнификантно корелираше со Т-скорот на ‘рбет и на колк ($r = -0.0891$, $p = 0.378$ и $r = -0.0607$, $p = 0.551$, соодветно).



Слика 15. Корелација помеѓу FGF23 и Т-скор на ‘рбетот



Слика 15а. Корелација помеѓу FGF23 и Т-скор на колкот

FGF23 имаше сигнификантно повисоки просечни вредности кај пациентите со намален витамин Д споредено со пациентите со нормални вредности на витамин Д (122.06 ± 31.7 vs 107.08 ± 32.3 pg/ml, difference 14.98 pg/ml; **p=0.045**).

FGF23 имаше сигнификантно повисоки просечни вредности кај пациентите со зголемени вредности на РТН споредено со пациентите со нормални вредности на РТН (127.88 ± 31.1 vs 109.91 ± 31.2 pg/ml, difference 17.97 pg/ml; **p=0.0039**). FGF23 кај пациентот со намален РТН изнеуваше 158 pg/ml.

Пациентите со покачени и нормални вредности на калциум имаа несигнификантно различни просечни вредности на FGF23 (109.22 ± 26.7 vs 119.61 ± 32.6 pg/ml, p=0.356). Пациентите со намален калциум имаа FGF23 од 75 и 158 pg/ml, соодветно.

Не беше најдена сигнификантна разлика во просечните вредности на FGF23 кај пациентите со намалени и нормални вредности на фосфор (112.25 ± 39.8 vs 118.39 ± 32.1 pg/ml, p=0.71). Пациентите со покачен фосфор имаа FGF23 од 116 и 175 pg/ml, соодветно.

FGF23 имаше сигнификантно повисоки просечни вредности кај пациентите со покачени вредности на алкална фосфатаза споредено со пациентите со нормални вредности (146.87 ± 33.3 vs 116.37 ± 31.3 pg/ml, difference 30.5 pg/ml; $p=0.0096$).

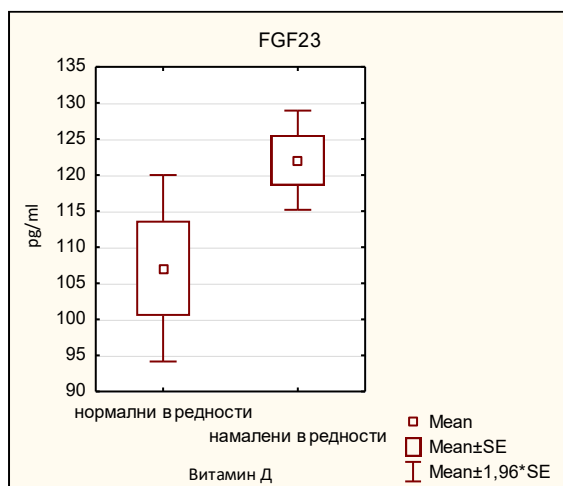
Табела 26. Вредности на FGF23 во однос на биохемиските параметри на коскено-минералниот метаболизам

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Витамин Д (nmol/l)	намален	82	122.06 ± 31.7	65 – 194	$t=2.02$ *p=0.045
	нормален	24	107.08 ± 32.3	65 – 170	
ПТХ (pg/ml)	намален	1	158.0	158	$t=2.95$ **p=0.0039
	нормален	56	109.91 ± 31.2	65 – 176	
	покачен	49	127.88 ± 31.1	67 – 194	
Калциум (mmol/l)	намален	2	116.50 ± 58.7	75 – 158	$t=0.93$ $p=0.356$
	нормален	95	119.61 ± 32.6	65 – 194	
	покачен	9	109.22 ± 26.7	67 – 150	
Фосфор (mmol/l)	намален	4	112.25 ± 39.8	65 – 150	$t=0.37$ $p=0.71$
	нормален	100	118.39 ± 32.1	65 – 194	
	покачен	2	145.50 ± 41.7	116 – 175	
Алкална фосфатаза (U/L)	нормална	98	116.37 ± 31.3	65 – 176	$t=2.64$ **p=0.0096
	покачена	8	146.87 ± 33.1	95 – 194	

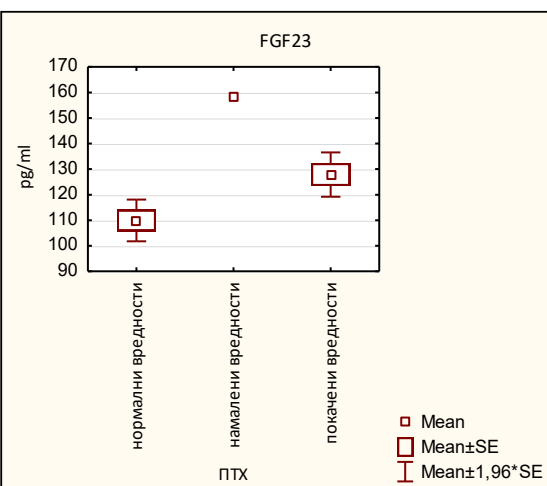
t (Student t-test)

ПТХ - PTH – ParaThyroid Hormone – паратироиден хормон

Слика 16



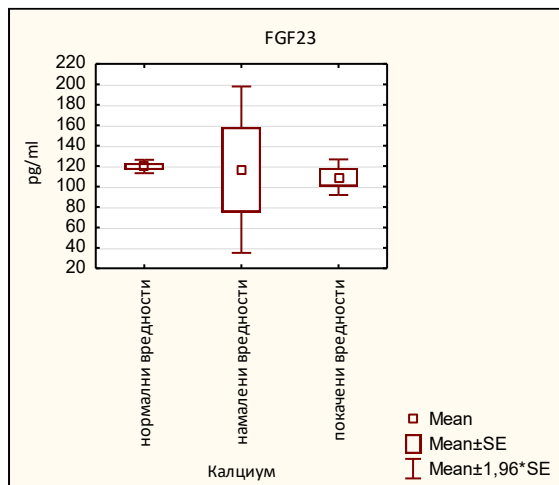
Слика 16а



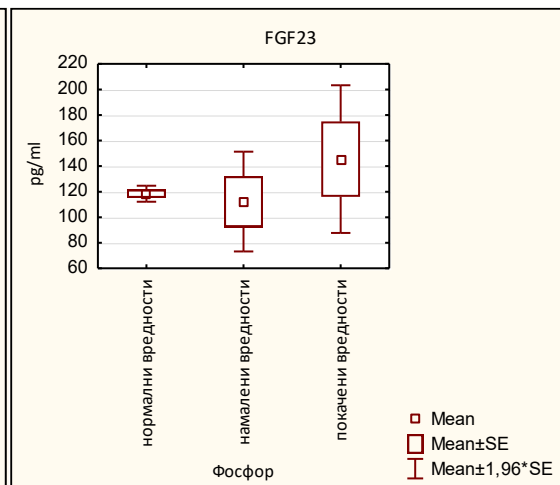
Слика 16. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со нормални и намалени вредности на витамин Д

Слика 16а. Споредба на серумскиот FGF23 според категориите на PTH

Слика 16б.

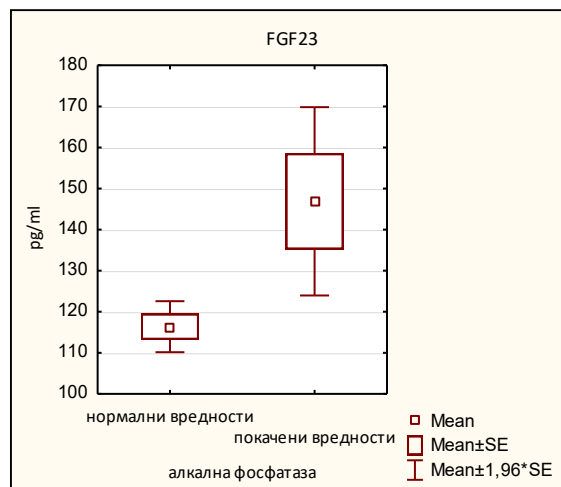


Слика 16в.



Слика 16б. Споредба на серумскиот FGF23 според категориите на серумскиот калциум

Слика 16в. Споредба на серумскиот FGF23 според категориите на серумскиот фосфор

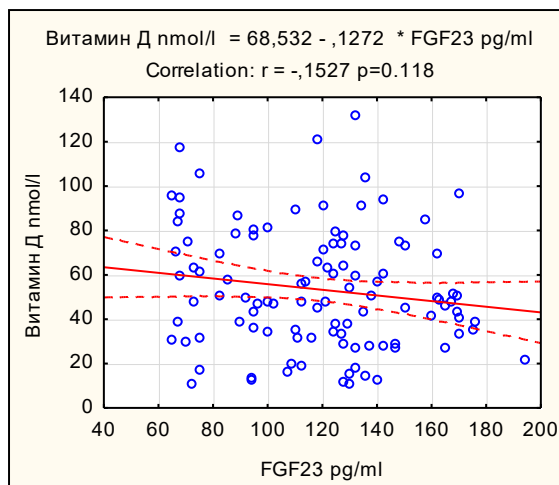


Слика 16г. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со нормални и покачени вредности на алкална фосфатаза

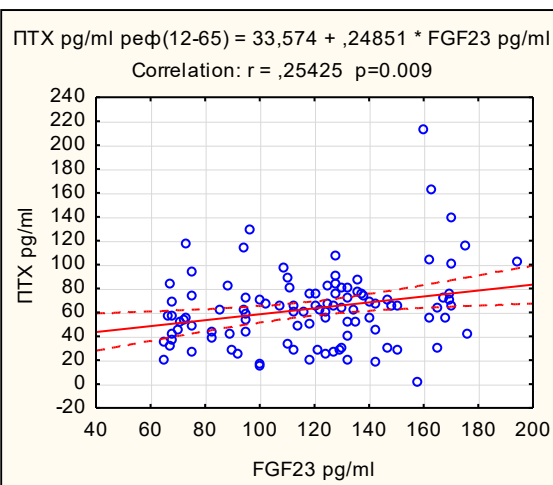
FGF23 несигнификантно корелираше со витаминот Д ($r = -0.1527$, $p=0.118$), сигнификантно позитивно корелираше со PTH ($r = 0.25425$, $p=0.009$), несигнификантно корелираше со калциумот ($r = -0.114$, $p=0.245$), сигнификантно позитивно корелираше со фосфорот ($r = 0.2562$, $p=0.008$), несигнификантно корелираше со калциумот ($r = -0.114$, $p=0.245$), несигнификантно корелираше со алкалната фосфатаза ($r = -0.1114$,

p=0.256). Овие корелации сугерираат на заклучок дека можеби зголеменото ниво на FGF23 е асоцирано со покачени серумски концентрации на PTH и на фосфор.

Слика 17



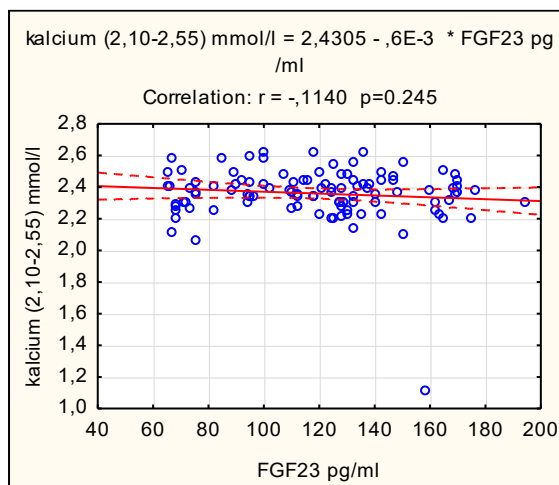
Слика 17а



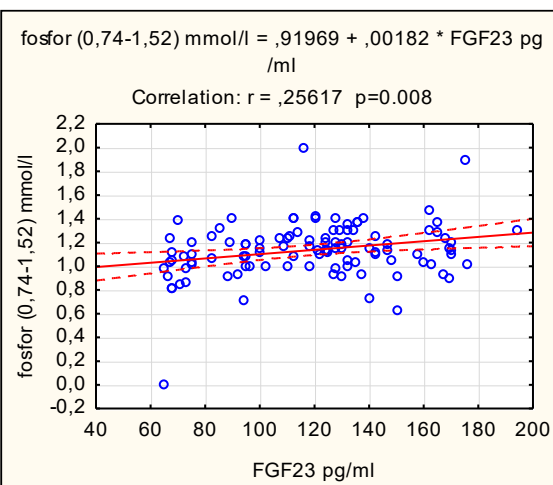
Слика 17. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на витамин Д

Слика 17а. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на PTH

Слика 17б

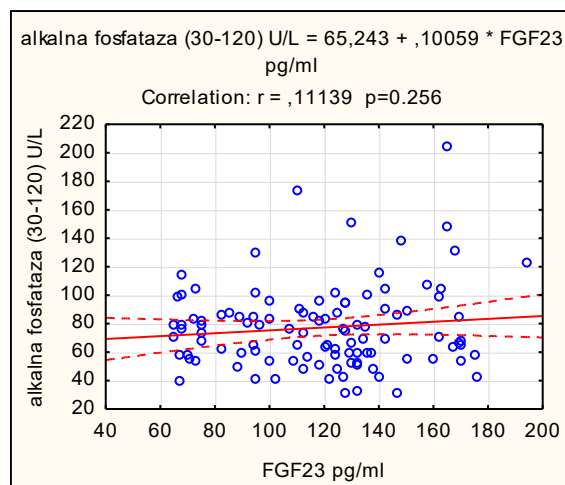


Слика 17в



Слика 17б. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на калциум

Слика 17в. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на фосфор



Слика 17г. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на алкалната фосфатаза

6.2.7 Корелација помеѓу метаболните, инфламаторните, хематолошките и други биохемиски параметри

Пациентите со покачен гликолизиран хемоглобин имаа повисоки просечни вредности на FGF23 од пациентите со намален и нормален HgA1C, но без статистичка сигнификантна разлика меѓу овие три групи (123.18 ± 41.7 vs 116.67 ± 36.5 vs 118.30 ± 30.9 pg/ml, $p=0.88$). Просечниот FGF23 имаше вредност од 118.67 ± 29.8 pg/ml кај пациентите со нормална гликемија на гладно и 118.67 ± 32.7 pg/ml кај пациентите со покачена серумска гликоза на гладно.

Табела 27. Вредности на FGF23 во однос на HbA1c и гликемијата на гладно

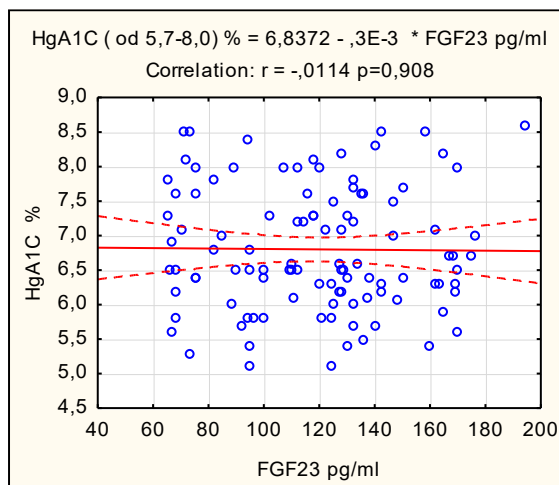
		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
HbA1C (%)	намален	9	116.67 ± 36.5	67 – 170	F=0.13 p=0.88
	нормален	86	118.30 ± 30.9	65 – 176	
	покачен	11	123.18 ± 41.7	71 – 194	
Гликемија на гладно (mmol/l)	нормална	9	118.67 ± 29.8	71 – 160	t=0.0003 p=0.999
	покачена	97	118.67 ± 32.7	65 – 194	

t (Student t-test)

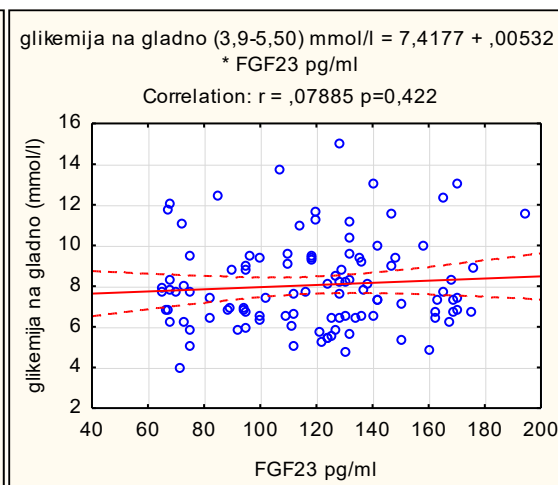
HbA1C – Glycosilated Haemoglobin type A1c

FGF23 несигнификантно корелираше со гликозниот статус, односно со HbA1C ($r = -0.0114$, $p=0.908$) и со серумското ниво на гликозата на гладно ($r = 0.0788$, $p=0.422$).

Слика 18



Слика 18а



Слика 18. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на HgA1C

Слика 18а. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на гликемијата на гладно

FGF23 имаше несигнификантно различни вредности кај пациентите со намален и нормален натриум (98.0 ± 26.3 vs 120.16 ± 32.4 pg/ml, $p=0.1$); пациентот со покачен натриум имаше вредност на FGF23 од 95 pg/ml). Сигнификантно повисоки вредности на FGF23 имаа пациентите со покачен калиум споредено со пациентите со нормален калиум (138.13 ± 31.4 vs 115.19 ± 31.6 pg/ml, difference 22.94 pg/ml; $p=0.01$).

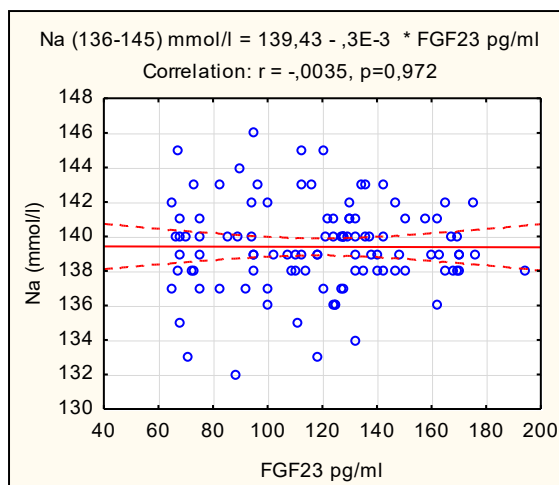
Табела 28. Вредности на FGF23 во однос на серумските вредности на натриумот и калиумот

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Natrium (mmol/l)	намален	6	98.0 ± 26.3	68 – 132	$t=1.64$ $p=0.1$
	нормален	99	120.16 ± 32.4	65 – 194	
	покачен	1	95.0	95.0	
Kalium (mmol/l)	намален	1	140.0	140.0	$t=2.61$ $*p=0.01$
	нормален	90	115.19 ± 31.6	65 – 176	
	покачен	15	138.13 ± 31.4	72 – 194	

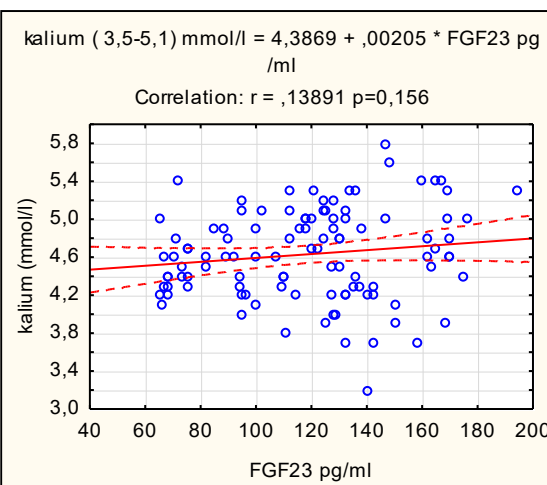
t (Student t-test)

FGF23 несигнификантно корелираше со натриум и калиум ($r = -0.0035$, $p=0.972$ и $r = 0.1389$, $p=0.156$, соодветно).

Слика 19



Слика 19а



Слика 19. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на натриумот

Слика 19а. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на калиумот

Вредностите на FGF23 беа несигнификантно повисоки кај пациентите со покачено ALT-ниво споредено со пациентите со нормални вредности на ALT (140.50 ± 19.3 vs 117.81 ± 32.5 pg/ml, $p=0.169$) и кај пациентите со покачено AST-ниво споредено со пациентите со нормални вредности на AST (124.80 ± 19.3 vs 118.37 ± 32.9 pg/ml, $p=0.666$).

Табела 29. Вредности на FGF23 во однос на ALT и AST

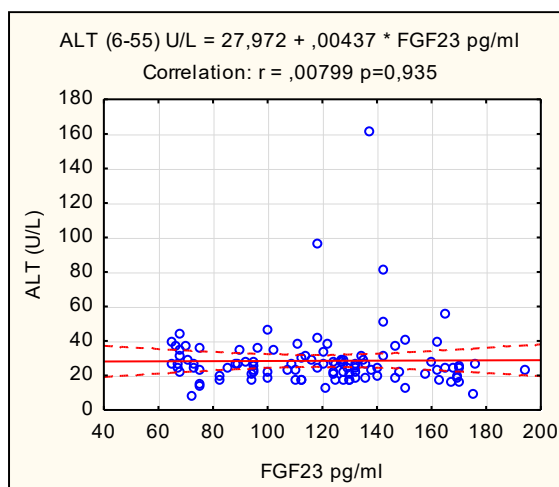
Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
ALT (U/L)	нормално	102	117.81 ± 32.5	65 – 194	$t=1.38$ $p=0.169$
	покачени	4	140.50 ± 19.3	118 – 165	
AST (U/L)	нормално	101	118.37 ± 32.9	65 – 194	$t=0.43$ $p=0.666$
	покачени	5	124.80 ± 19.3	102 – 150	

t (Student t-test)

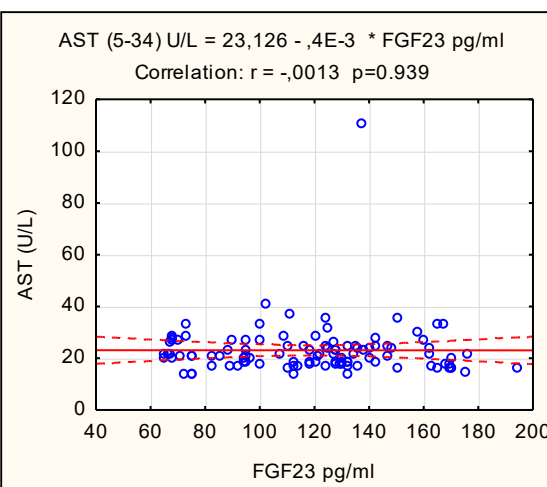
AST- Aspartate aminotransferase; ALT – Alanine Aminotransferase

Несигнификантна беше корелацијата помеѓу FGF23 и ALT ($r = 0.008$, $p=0.935$) и помеѓу FGF23 и AST ($r = -0.0013$, $p=0.989$).

Слика 20



Слика 20а



Слика 20. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на ALT

Слика 20а. Корелација помеѓу FGF23 и вредностите на AST

Просечните вредности на FGF23 беа сигнификантно повисоки кај пациентите со покачена уреа споредено со пациентите со нормални серумски вредности на уреа (126.57 ± 30.7 vs 111.88 ± 32.4 pg/ml, difference 14.69 pg/ml; $p=0.019$).

FGF23 имаше просечни вредности од 135.17 ± 27.6 pg/ml кај пациентите со покачен креатинин во серумот, 107.84 ± 30.7 pg/ml кај пациентите со нормални вредности на креатинин, разликата од просечни 27.33 pg/ml беше статистички сигнификантна, за $p=0.00001$.

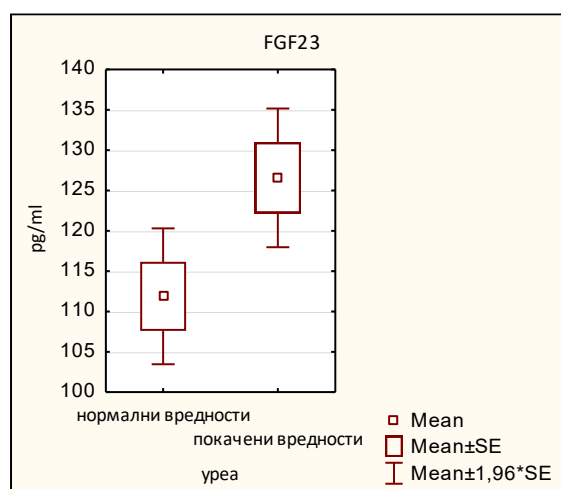
Несигнификантно повисоки просечни вредности на FGF23 имаа пациентите со покачени серумски вредности на мокрачна киселина споредено со пациентите со нормални вредности (123.67 ± 32.8 vs 117.08 ± 32.3 pg/ml, $p=0.338$).

Табела 30. Вредности на FGF23 во однос на параметрите на реналната функција (уреа, креатинин, мочна киселина)

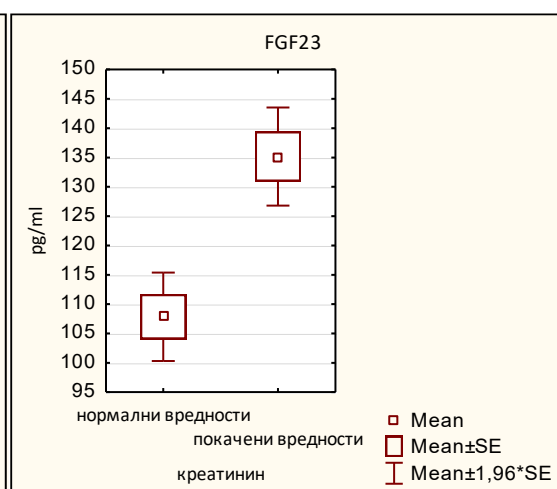
Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Уреа (mmol/l)	нормална	57	111.88 $\pm$ 32.4	65 – 194	t=2.38
	покачена	49	126.57 $\pm$ 30.7	65 – 176	*p=0.019
Креатинин (mmol/l)	нормален	64	107.84 $\pm$ 30.7	65 – 194	t=4.65
	покачен	42	135.17 $\pm$ 27.6	70 – 176	***p=0.00001
Мочна киселина (umol/L)	намалена	2	92.50 $\pm$ 3.5	90 – 95	t=0.96 p=0.338
	нормална	71	117.08 $\pm$ 32.3	65 – 194	
	покачена	33	123.67 $\pm$ 32.8	65 – 176	

(Student t-test)

Слика 21



Слика 21а

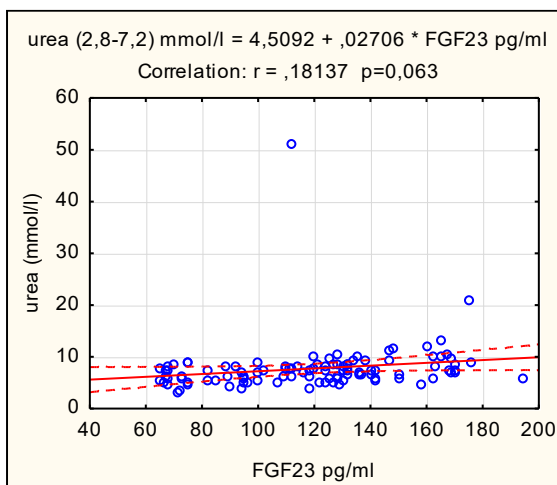


Слика 21. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со нормални и покачени вредности на уреата

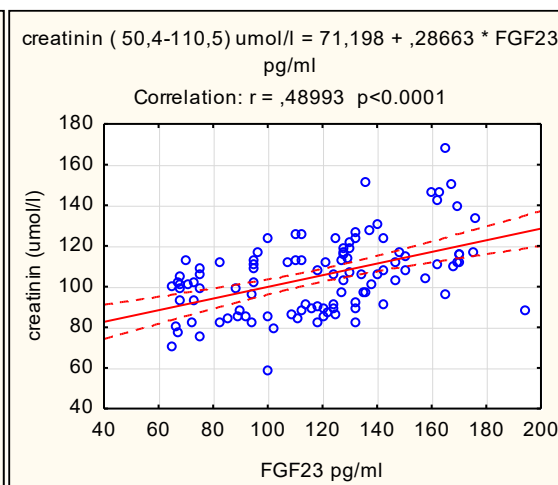
Слика 21а. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со нормални и покачени вредности на креатининот

FGF23 несигнификантно корелираше со уреата ($r = 0.1814$, $p=0.063$), сигнификантно позитивно корелираше со креатининот ($r = 0.4899$, **$p<0.0001$**), несигнификантно корелираше со мочната киселина ($r = 0.1699$, $p=0.082$), што покажува дека можеби зголеменото ниво на FGF23 е асоцирано со покачени серумски концентрации на креатинин.

Слика 22

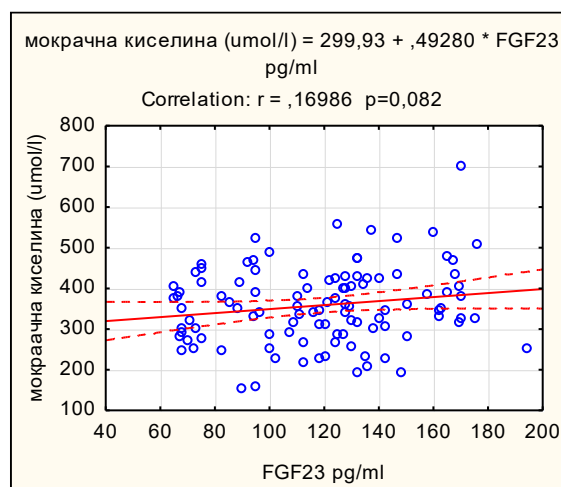


Слика 22а



Слика 22. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на уреата

Слика 22а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на креатининот



Слика 22б. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на мочната киселина

FGF23 имаше несигнификанто повисоки просечни вредности кај пациентите со покачен холестерол споредено со пациентите со намален и нормален холестерол (126.38 ± 35.2 , 115.22 ± 31.1 и 122.57 ± 33.6 pg/ml, соодветно; $p=0.39$); пациентите со покачени триглицериди споредено со пациентите со нормални вредности на триглицериди (120.34 ± 32.0 и 117.61 ± 32.7 pg/ml, соодветно $p=0.675$); кај пациентите

со покачен LDL споредено со пациентите со намален и нормален LDL (119.69 ± 34.1 , 115.22 ± 24.7 и 117.71 ± 33.3 pg/ml, соодветно; $p=0.867$); несигнификантно различни беа просечните вредности на FGF23 кај пациентите со намален, нормален и покачен HDL (120.31 ± 32.3 , 117.50 ± 32.8 и 129.0 ± 25.4 pg/ml, соодветно; $p=0.678$).

Табела 31. Вредности на FGF23 кај пациенти со различни липидни параметри

варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Холестерол (mmol/l)	намален	63	115.22 ± 31.1	65 – 194	F=0.94 p=0.39
	нормален	30	122.57 ± 33.6	70 – 176	
	покачен	13	126.38 ± 35.2	65 – 170	
Триглицериди (mmol/l)	нормални	65	117.61 ± 32.7	65 – 194	t=0.42 p=0.675
	покачени	41	120.34 ± 32.0	65 – 176	
LDL (mmol/L)	намален	18	115.22 ± 24.7	66 – 165	F=0.14 p=0.867
	нормален	14	117.71 ± 33.3	65 – 170	
	покачен	74	119.69 ± 34.1	65 – 194	
HDL (mmol/l)	намален	36	120.31 ± 32.3	66 – 176	t=0.42 p=0.678
	нормален	68	117.50 ± 32.8	65 – 194	
	покачен	2	129.0 ± 25.4	111 – 147	

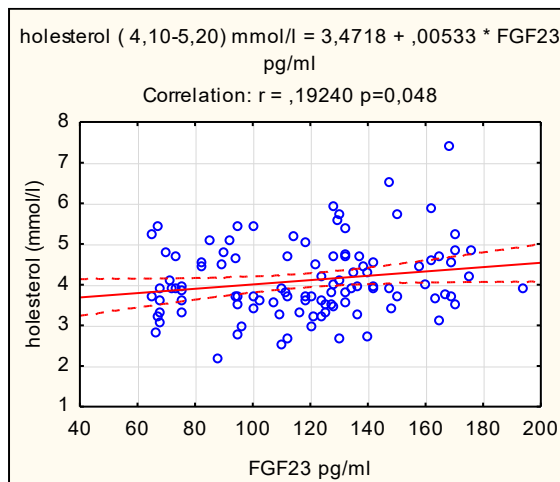
t (Student t-test)

HDL – High Density Lipoproteins; LDL – Low Density lipoproteins

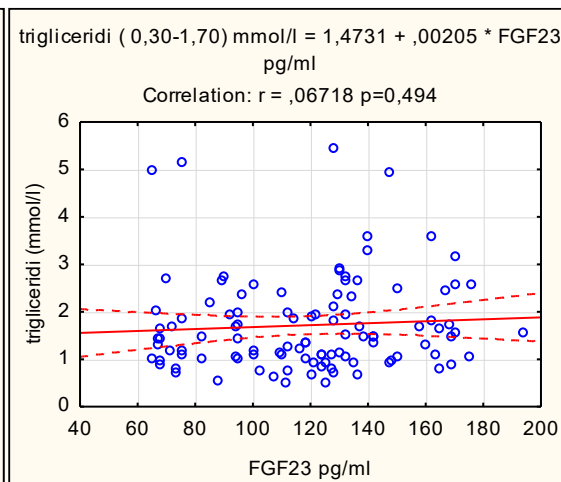
Испитуваната корелација помеѓу FGF23 и липидниот статус беше сигнификантна за поврзаноста со вкупниот холестерол, која беше позитивна ($r = 0.1924$, $p=0.048$), и несигнификантна за поврзаноста со триглицеридите ($r = 0.0672$, $p=0.494$), LDL ($r = 0.1101$, $p=0.261$) и со HDL ($r = 0.0295$, $p=0.764$).

Овие корелации сугерират на заклучок дека можеби зголеменото ниво на FGF23 е асоцирано со покачени серумски концентрации на вкупниот холестерол.

Слика 23

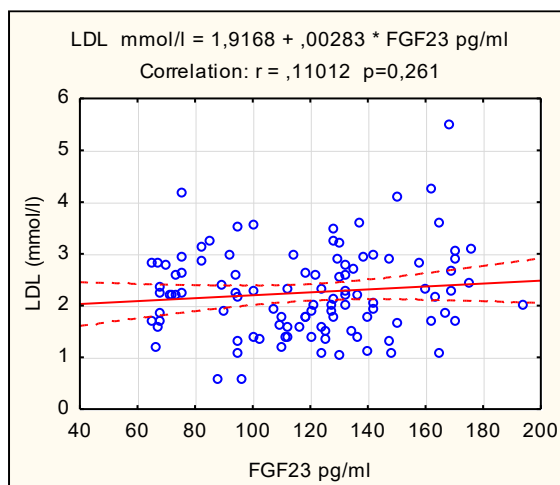


Слика 23а

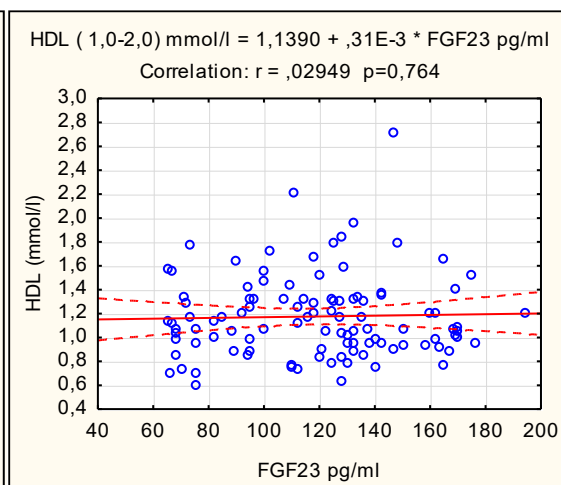


Слика 23. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на холестеролот
Слика 23а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на триглицеридите

Слика 23б



Слика 23в



Слика 23б. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на LDL
Слика 23в. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вредностите на HDL

Пациентите со покачени и нормални вкупни протеини не се разликуваа сигнификантно во однос на просечниот FGF23 (130.20 ± 23.7 vs 118.09 ± 32.7 pg/ml, $p=0.417$).

FGF23 изнесуваше 125 pg/ml кај пациентот со намалени албумини, 70 pg/ml кај пациентот со покачени албумини.

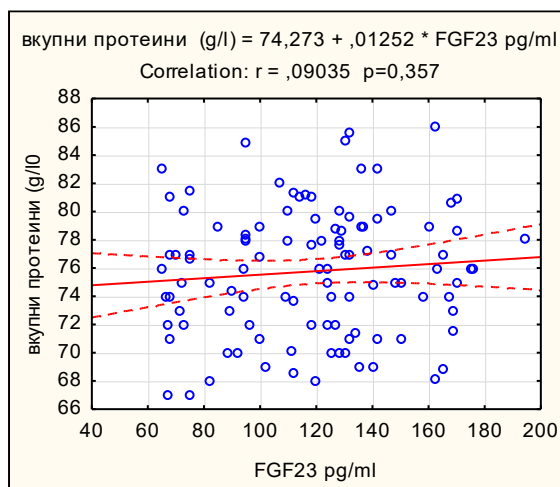
Табела 32. Вредности на FGF23 во однос на вкупните протеини и албумините

варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Вкупни протеини (g/l)	нормални	101	118.09 $\pm$ 32.7	65 – 194	t=0.81 p=0.417
	покачени	5	130.20 $\pm$ 23.7	95 – 162	
Албумини (g/l)	намалени	1		125.0	
	нормални	104	119.08 $\pm$ 32.3	65 – 194	
	покачени	1		70.0	

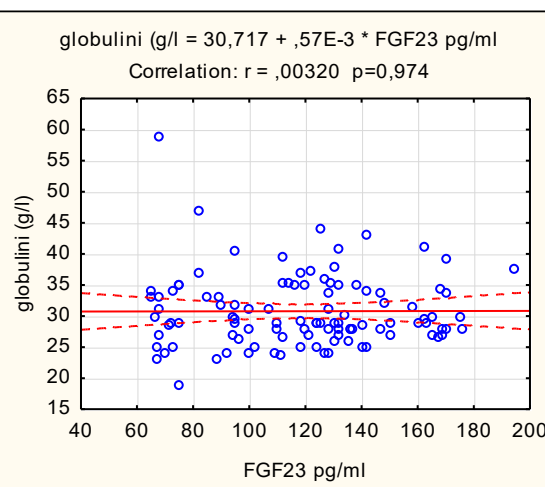
t (Student t-test)

FGF23 несигнификантно корелираше со вкупните протеини ($r = 0.09035$, $p=0.357$), глобулини ($r = 0.0032$, $p=0.974$) и албумини ($r = -0.0616$, $p=0.531$).

Слика 24



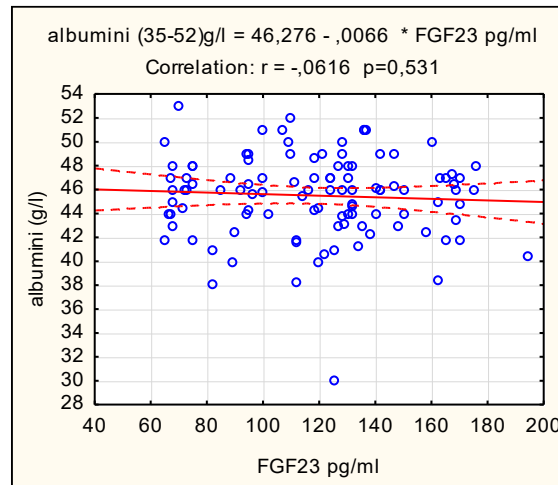
Слика 24а



Слика 24. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и вкупните протеини

Слика 24а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и глобулините

Слика 24б



Слика 24б. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и албумините

Пациентите со покачен CRP имаа повисоки просечни вредности на FGF23 споредено со пациентите со нормални вредности на CRP, но без статистичка сигнификантна разлика (125.09 ± 32.8 vs 113.93 ± 31.5 pg/ml, $p=0.079$).

Табела 33. Вредности на FGF23 во однос на CRP

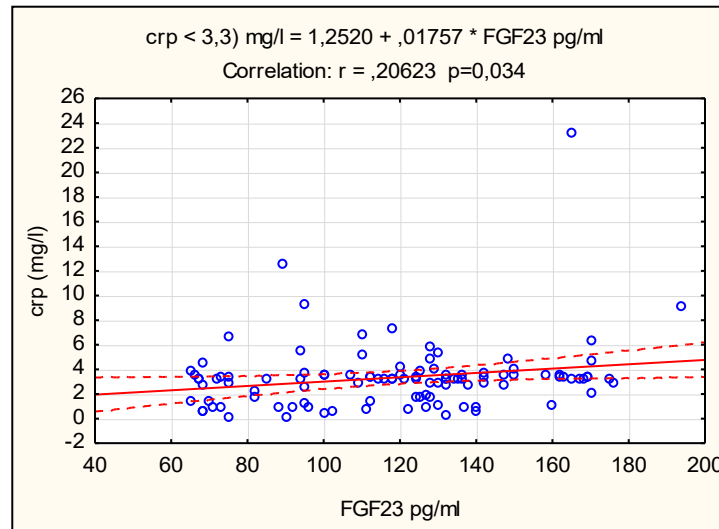
CRP (mg/l)	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean $\pm$ SD	min- max	
нормално	61	113.93 ± 31.5	65 – 176	$t=1.77$ $p=0.079$
покачени	45	125.09 ± 32.8	65 – 194	

t (Student t-test)

CRP - C Reactive Protein

FGF23 сигнификантно позитивно корелираше со CRP ($r = 0.2062$, $p=0.034$), што сугерира на заклучок дека можеби зголеменото ниво на FGF23 е асоцирано со покачените вредности на CRP.

Слика 25. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и CRP



Не беше најдена сигнификантна разлика меѓу пациентите со покачени и нормални еритроцити (107.44 ± 31.4 vs 119.55 ± 32.7 pg/ml, $p=0.289$), меѓу пациентите со покачени и нормални леукоцити (121.08 ± 37.9 vs 117.89 ± 31.6 pg/ml, $p=0.748$), пациентите со намален и нормален хемоглобин (134.44 ± 36.9 vs 117.21 ± 31.7 pg/ml, $p=0.127$) и пациентите со намалени и нормални тромбоцити (142.0 ± 9.9 vs 117.81 ± 32.7 pg/ml, $p=0.145$).

Табела 34. Вредности на FGF23 во однос на хематолошките параметри

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Er ($10^3/\mu\text{L}$)	намалени	2	127.50 ± 13.4	118 – 137	$t=1.06$ $p=0.289$
	нормални	95	119.55 ± 32.7	65 – 194	
	покачени	9	107.44 ± 31.4	67 – 158	
Le ($10^3/\mu\text{L}$)	намалени	1	162.0	162.0	$t=0.32$ $p=0.748$
	нормални	93	117.89 ± 31.6	65 – 194	
	покачени	12	121.08 ± 37.9	65 – 175	
Hgb (g/dl)	намален	9	134.44 ± 36.9	67 – 175	$t=1.54$ $p=0.127$
	нормален	97	117.21 ± 31.7	65 – 194	
Tr ($10^3/\mu\text{L}$)	намалени	4	142.0 ± 9.9	128 – 150	$t=1.47$ $p=0.145$
	нормални	101	117.81 ± 32.7	65 – 194	
	покачени	1	112.0	112.0	

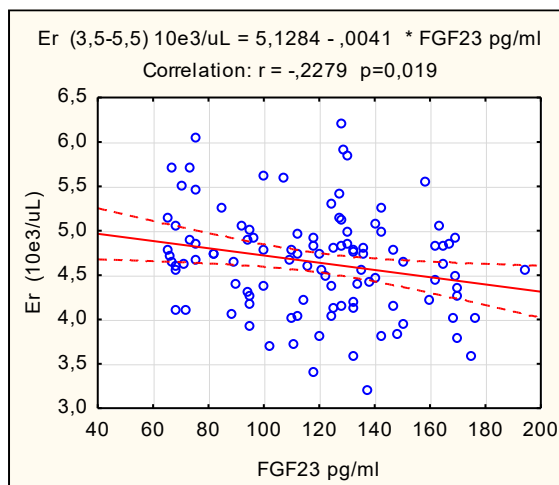
t (Student t-test)

Er – Eritrocites – еритроцити; Tr – Trombocytes – тромбоцити; Hgb – hemoglobin- хемоглобин; Le – Leucocytes – леукоцити

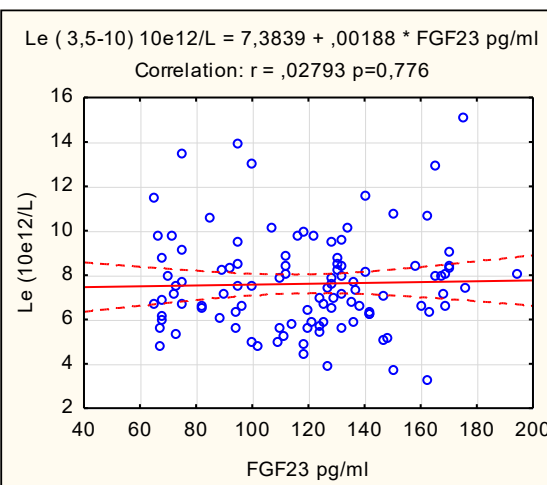
FGF23 негативно сигнификантно корелираше со бројот на еритроцитите ($r = -0.2279$, $p=0.019$), несигнификантно корелираше со бројот на леукоцитите ($r = 0.02793$, $p=0.776$), негативно сигнификантно корелираше со вредноста на хемоглобинот ($r = -0.2536$, $p=0.009$), несигнификантно корелираше со бројот на тромбоцитите ($r = 0.0384$, $p=0.696$).

Овие резултати сугерираат на заклучок дека повисоките вредности на FGF23 се можеби поврзани со пониски еритроцити и хемоглобин, односно со влошени хематолошки параметри.

Слика 26



Слика 26а

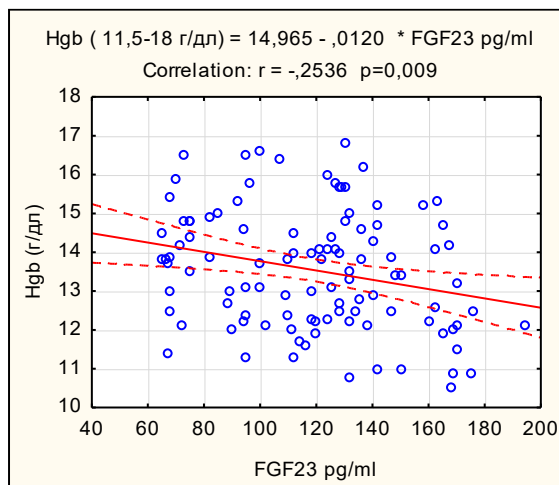


Слика 26. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и еритроцитите

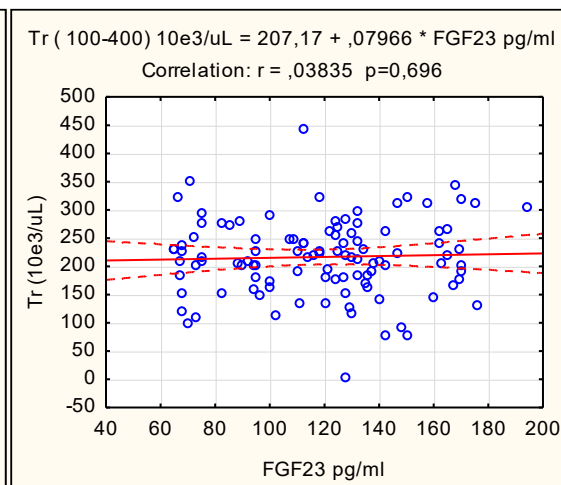
Слика 26а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и леукоцитите

Во групата пациенти со гломеруларна филтрациона рата 45-60 ml/min FGF23 негативно сигнификантно корелираше со хематолошките параметри еритроцити ($r = -0.2696$, $p=0.047$) и хемоглобин ($r = -0.4311$, $p=0.001$).

Слика 26б



Слика 26в



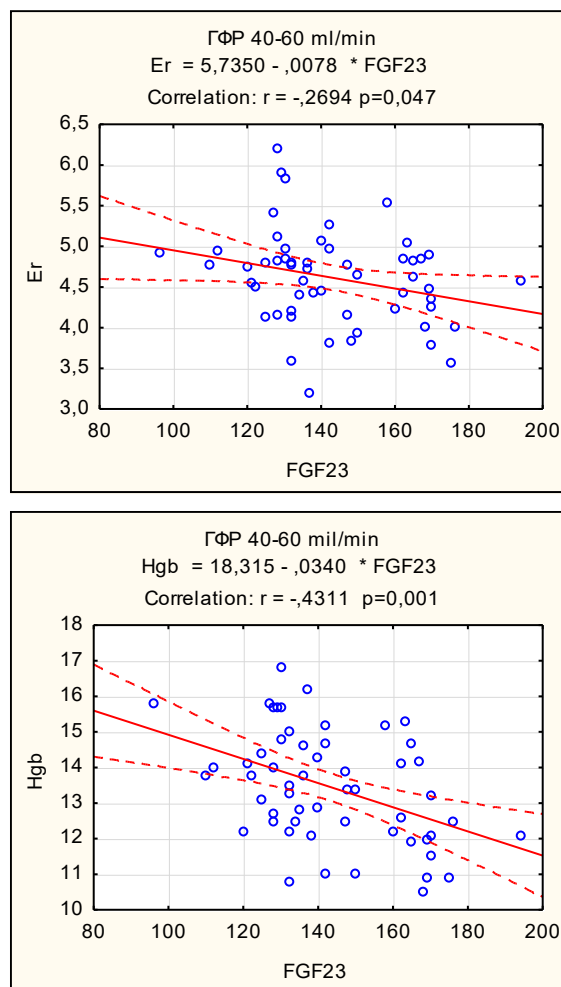
Слика 26б. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и хемоглобинот

Слика 26в. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и тромбоцитите

Табела 35. Вредности на ФГФ23 во однос на еритроцитите и хемоглобинот кај пациенти со еГФР 45-60 мл/мин/1,73м²

ГФР (45 – 60 ml/min/1,73m ²)		
Корелации (FGF23)	Pearson r	p-level
Er	-0.2694	*0.047
Hgb	-0.4311	**0.001

*sig p<0.05, **sig p<0.01



Слика 27. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и еритроцитите кај пациенти со еГФР 45-60 ml/min

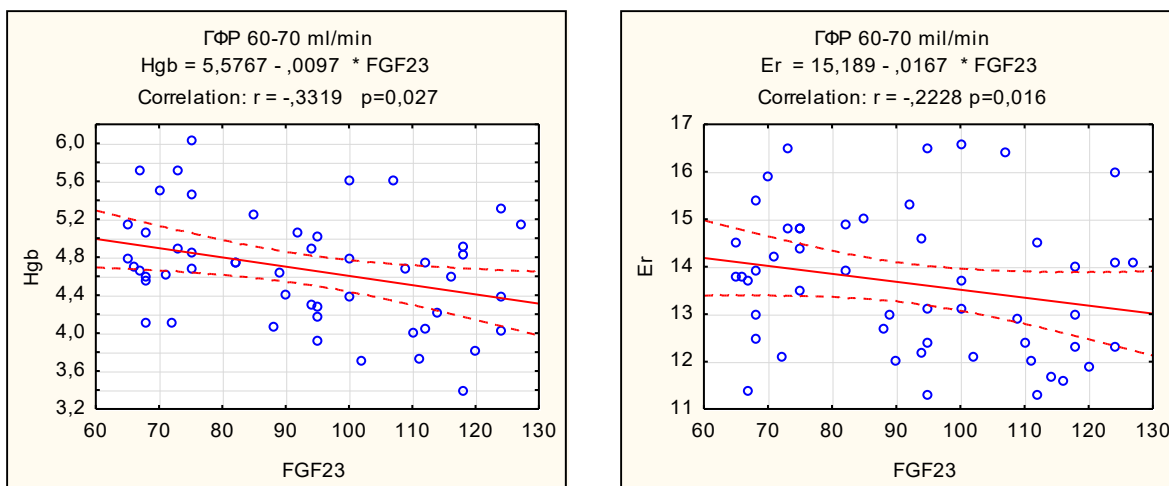
Слика 27а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и хемоглобинот кај пациенти со еГФР помеѓу 45-60 ml/min

Во групата пациенти со гломеруларна филтрациона рата 60-70 ml/min FGF23 негативно сигнификантно корелираше со еритроцитите ($r = -0.2228$, $p = 0.016$) и хемоглобинот ($r = -0.3319$, $p = 0.027$).

Табела 36. Вредности на ФГФ23 во однос на еритроцитите и хемоглобинот кај пациенти со еГФР 60-70 ml/min/1,73m²

ГФР (60 – 70 ml/min/1,73m ²)		
корелации (FGF23)	Pearson r	p-level
Er	-0.2228	*0.016
Hgb	-0.3319	*0.027

*sig $p < 0.05$



Слика 28. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и еритроцитите кај пациенти со eГФР 60-70 мл/мин/1,73m²

Слика 28а. Корелација меѓу серумскиот FGF23 и хемоглобинот кај пациенти со eГФР помеѓу 60-70 мл/мин/1,73m²

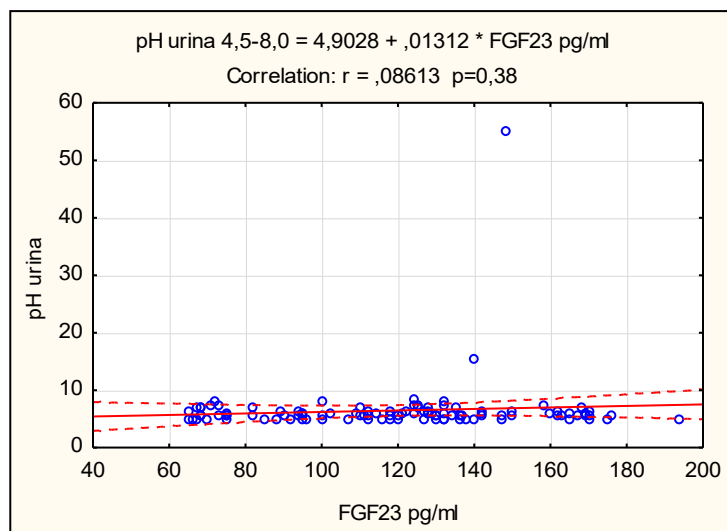
Просечните вредности на FGF23 кај пациентите со покачени и нормални вредности на рН на урината изнесуваа 137.33 ± 12.2 и 118.13 ± 32.6 pg/ml, соодветно, и без сигнификантна разлика ($p=0.313$).

Табела 37. Вредности на FGF23 во однос на рН на урината

рН урина	FGF23 (pg/ml)			p-level
	n	mean $\pm$ SD	min- max	
нормална	103	118.13 ± 32.6	65 – 194	t=1.01 p=0.313
покачена	3	137.33 ± 12.2	124 – 148	

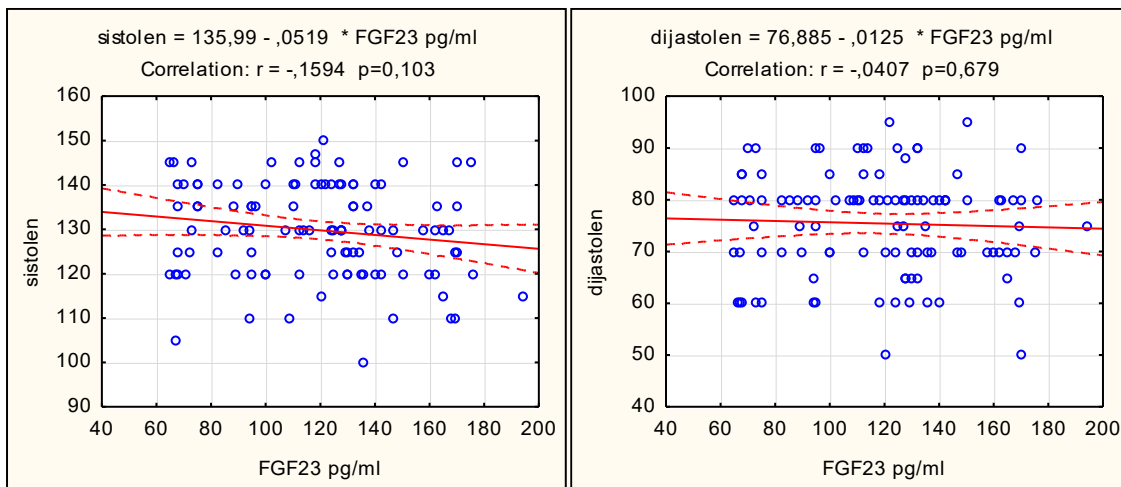
t(Student t-test)

FGF23 несигнификантно корелираше со рН вредноста на урината ($r = 0.08613$, $p=0.38$).



Слика 29. Корелација помеѓу FGF23 и pH на урината

FGF23 несигнификантно корелираше со систолниот и дијастолниот притисок ($r = -0.1594$, $p=0.103$ и $r = -0.407$, $p=0.679$).



Слика 30. Корелација помеѓу FGF23 и систолниот крвен притисок

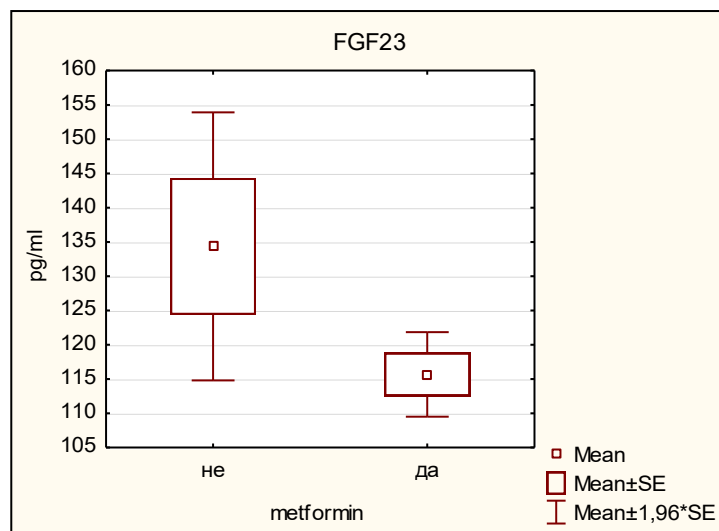
Слика 30а. Корелација помеѓу FGF23 и дијастолниот крвен притисок

6.2.8 Корелациона анализа меѓу вредноста на ФГФ23 и фармаколошката терапија

Во Табела 38 се прикажани вредностите на FGF23 во зависност од терапијата што пациентите ја примаат:

- Просечните вредности на FGF23 беа сигнификантно пониски кај пациентите што примаат метформин споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (115.67 ± 29.7 vs 134.35 ± 41.1 pg/ml, **p=0.028**);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат SU споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (114.29 ± 30.6 vs 119.51 ± 32.7 pg/ml, p=0.545);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат инсулин споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (115.72 ± 34.3 vs 120.93 ± 30.9 pg/ml, p=0.413);
- Слични кај пациентите со/без терапија со SGLT2-inh (118.09 ± 32.7 vs 119.94 ± 31.9 vs pg/ml, p=0.787);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат GLP1-RA споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (115.11 ± 36.9 vs 119.0 ± 32.1 pg/ml, p=0.732);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат ACE/ARB споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (101.33 ± 25.93 vs 120.16 ± 32.7 pg/ml, p=0.096);
- Слични кај пациентите со/без терапија со калциум антагонист (118.58 ± 34.6 vs 118.51 ± 30.8 pg/ml, p=0.991);
- Несигнификантно повисоки кај пациентите што примаат бета-блокатори споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (121.23 ± 32.1 vs 114.17 ± 33.1 pg/ml, p=0.282);
- Несигнификантно повисоки кај пациентите што примаат furosemid споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (125.33 ± 37.2 vs 116.53 ± 30.9 pg/ml, p=0.245);

- Несигнификантно повисоки кај пациентите што примаат терапија за хипотиреоза споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (122.23 ± 33.1 vs 117.83 ± 32.5 pg/ml, $p=0.61$);
- Несигнификантно повисоки кај пациентите што примаат HCTZD споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (130.65 ± 31.1 vs 116.20 ± 32.4 pg/ml, $p=0.093$);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат spironolakton споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (114.82 ± 35.9 vs 118.98 ± 32.2 pg/ml, $p=0.69$);
- Несигнификантно пониски кај пациентите што примаат indapamid споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (115.50 ± 40.4 vs 119.01 ± 31.3 pg/ml, $p=0.708$);
- Несигнификантно повисоки кај пациентите што примаат антиагрегациона терапија споредено со пациентите што не ја примаат оваа терапија (119.13 ± 32.2 vs 117.73 ± 33.2 pg/ml, $p=0.828$).



Слика 31. Споредба на серумскиот FGF23 кај пациенти со и без терапија со метформин

Табела 38. Вредности на FGF23 во однос на различните терапевтски режими

Варијабла		FGF23 (pg/ml)			p-level
		n	mean $\pm$ SD	min- max	
Метформин	да	89	115.67 $\pm$ 29.7	65 – 176	t=2.22
	не	17	134.35 $\pm$ 41.1	65 – 194	*p=0.028
SU	да	17	114.29 $\pm$ 30.6	65 – 168	t=0.61
	не	89	119.51 $\pm$ 32.7	65 – 194	p=0.545
Инсулин	да	46	115.72 $\pm$ 34.3	66 – 194	t=0.82
	не	60	120.93 $\pm$ 30.9	65 – 170	p=0.413
SGLT2-inh	да	33	118.09 $\pm$ 32.7	66 – 176	t=0.27
	не	73	119.94 $\pm$ 31.9	65 – 194	p=0.787
GLP1-RA	да	9	115.11 $\pm$ 36.9	65 – 150	t=0.34
	не	97	119.0 $\pm$ 32.1	65 – 194	p=0.732
AKE/АРБ	да	96	101.33 $\pm$ 25.93	67 – 140	t=1.68
	не	9	120.16 $\pm$ 32.7	65 – 194	p=0.096
Калциумски антагонисти	да	48	118.58 $\pm$ 34.6	65 – 194	t=0.01
	не	57	118.51 $\pm$ 30.8	65 – 175	p=0.991
Beta блокатор	да	65	121.23 $\pm$ 32.1	65 – 176	t=1.08
	не	40	114.17 $\pm$ 33.1	67 – 194	p=0.282
Furosemid	да	24	125.33 $\pm$ 37.2	67 – 176	t=1.17
	не	81	116.53 $\pm$ 30.9	65 – 194	p=0.245
Хипотиреоза	да	17	122.23 $\pm$ 33.1	65 – 176	t=0.51
	не	88	117.83 $\pm$ 32.5	65 – 194	p=0.61
Hidrohlorotiazid	да	17	130.65 $\pm$ 31.1	67 – 176	t=1.69
	не	88	116.20 $\pm$ 32.4	65 – 194	p=0.093
Spirinolakton	да	11	114.82 $\pm$ 35.9	65 – 170	t=0.4 p=0.69
	не	94	118.98 $\pm$ 32.2	65 – 194	
Indapamid	да	14	115.50 $\pm$ 40.4	65 – 194	t=0.37
	не	91	119.01 $\pm$ 31.3	67 – 194	p=0.708
Антиагрегациона терапија	да	61	119.13 $\pm$ 32.2	65 – 176	t=0.22
	не	44	117.73 $\pm$ 33.2	65 – 194	p=0.828

t (Student t-test)

SU – Sulfonilurea; SGLT2 - Sodium-Glucose Co-Transporter 2; GLP-1 RA - Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists; AKE/ARB – Angiotensin Converting Enzymes inhibitors / Angiotensin II Receptor Blockers

6.3 Мултиваријантна анализа

6.3.1 Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за дијабетична нефропатија

Во Табела 39 се прикажани резултатите од мултиваријантната логистичка регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна прогностичка вредност во предвидување дијабетична нефропатија кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со дијабетична нефропатија ги детерминира: пушачкиот статус ($p=0.012$), биомаркерот FGF23 ($p=0.001$), хормонот PTH ($p=0.016$) и триглицеридите ($p=0.015$).

Пушачите имаат за 2.723 пати поголем ризик за дијабетична нефропатија во споредба со непушачите (OR 2.723, 95% CI 1.731-10.655); зголемувањето на серумското ниво на FGF23 за 1 pg/ml ја зголемува шансата за дијабетична нефропатија за 6.3%; зголемувањето на серумското ниво на PTH за 1 pg/ml ја зголемува шансата за дијабетична нефропатија за 3.6%; зголемувањето на триглицеридите во серум за 1 mmol/l ја зголемува шансата за дијабетична нефропатија за 62.8%.

Табела 39. Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за фактори асоцирани со дијабетична нефропатија

	B	S.E.	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
					Lower	Upper
Пушач. статус	реф. непушач					
Пушач	1.555	0.953	0.012	2.723	1.731	10.655
FGF23	-0.106	0.107	0.001	1.063	1.027	1.101
PTH	0.035	0.016	0.029	1.036	1.004	1.069
Триглицериди	2.155	0.890	0.015	1.628	1.208	9.373

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетес, BMI, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, терапија, систолен и дијастолен притисок

6.3.2 Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за атеросклероза на долните екстремитети

Во Табела 40 се прикажани резултатите од мултиваријантната логистичка регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна прогностичка вредност во предвидување атеросклероза на долните екстремитети кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со атеросклерозата на долните екстремитети ги детерминира: полот на пациентите ($p=0.016$), BMI ($p=0.045$), холестеролот ($p=0.048$) и LDL ($p=0.049$).

Мажите споредено со жените имаат за 4.642 пати поголем ризик за атеросклероза на нозете (OR 4.642, 95% CI 1.416-11.148); зголемувањето на BMI за 1 kg/m² ја зголемува шансата за атеросклероза на нозете за 1.827 пати (OR 1.827 95% CI 1.687-1.995); зголемувањето на холестеролот за 1 mmol/l ја зголемува шансата за атеросклероза на нозете за 3.388 пати (OR 3.388 95% CI 2.940-13.425; зголемувањето на триглицеридите во серум за 1mmol/l ја зголемува шансата за атеросклероза на нозе за 1.135 пати (OR 1.135 95% CI 1.018-1.987).

Табела 40. Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за фактори асоцирани со атеросклероза на нозете

	B	S.E.	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
					Lower	Upper
Пол	Реф. жени 1.893 0.788					
Мажи			0.016	4.642	1.416	11.148
BMI	-0.190	0.095	0.045	1.827	1.687	1.995
Холестерол	1.854	0.978	0.048	3.388	2.940	13.425
LDL	-2.005	1.016	0.049	1.135	1.018	1.987

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетес, BMI, FGF23, GFR, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, терапија, систолен и дијастолен притисок

6.3.3 Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за атеросклероза на каротидните артерии

Во Табела 41 се прикажани резултатите од мултиваријантната логистичка регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна прогностичка вредност во предвидување атеросклероза на каротидите кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со атеросклерозата на каротидите ги детерминира: пушачкиот статус ($p=0.044$), возраста ($p=0.002$), времетраењето на дијабетот ($p=0.043$), холестеролот ($p=0.007$) и LDL ($p=0.003$). Пушачите споредено со непушачите имаат за 1.915 пати поголем ризик за атеросклероза на каротидите (OR 1.915, 95% CI 1.678-9.916); зголемувањето на возраста за 1 година ја зголемува шансата за атеросклероза на каротидите за 66.3% (OR 1.663 95% CI 1.210-2.286); зголемувањето на должината на траењето на дијабетесот за 1 година ја зголемува шансата за атеросклероза на каротидите за 89.4% (OR 1.894 95% CI 1.790-2.010); зголемувањето на холестеролот за 1 mmol/l ја зголемува шансата за атеросклероза на каротидите за 6.158 пати (OR 6.158 95% CI 3.340-12.417); зголемувањето на LDL за 1mmol/l ја зголемува шансата за атеросклероза на каротидите за 23% (OR 1.23 95% CI 1.002-2.272).

Табела 41. Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за фактори асоцирани со атеросклероза на каротидите

	B	S.E.	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
					Lower	Upper
Пуш. стат.	реф. непушач 0.767	0.547	0.044	1.915	1.678	9.916
пушач						
Возраст	0.509	0.162	0.002	1.663	1.210	2.286
Времетраење на дијабетесот	-0.112	0.063	0.043	1.894	1.790	2.010
Холестерол	1.456	0.658	0.007	6.158	3.340	12.417
LDL	-1.768	0.259	0.003	1.23	1.002	2.272

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетесот, BMI, FGF23, GFR, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, терапија, систолен и дијастолен притисок

6.3.4 Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за дијабетична ретинопатија

Во Табела 42 се прикажани резултатите од мултиваријантната логистичка регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна прогностичка вредност во предвидувањето ретинопатија кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со ретинопатијата ги детерминира: полот ($p=0.026$), времетраењето на дијабетесот ($p=0.019$), нарушениот коскен метаболизам ($p=0.04$) и фосфорот ($p=0.01$).

Мажите споредено со жените имаат за 2.167 пати поголем ризик за ретинопатија (OR 2.167, 95% CI 1.215-4.964); зголемување на должината на траењето на дијабетесот за 1 година ја зголемува шансата за ретинопатија за 9.1% (OR 1.091 95%CI 1.014-1.173); нарушениот коскен метаболизам ја зголемува шансата за ретинопатија за 2.444 пати (OR 2.444 95% CI 1.916-20942; зголемувањето на фосфорот за 1 mmol/l ја зголемува шансата за ретинопатија за 1.941 пати (OR 1.941 95% CI 1.292-2.611).

Табела 42. Мултиваријантна логистичка регресиона анализа за фактори асоцирани со ретинопатија

	B	S.E.	p	Exp (B)	95% CI for Exp (B)	
					Lower	Upper
Пол	Реф. жени					
мажи	1.6420.738		0.026	2.167	1.215	4.964
Времетраење на дијабетесот	0.087	0.037	0.019	1.091	1.014	1.173
Нарушен коскен метаболизам	1.079	0.595	0.04	2.444	1.916	2.942
Фосфор	1.525	0.375	0.01	1.941	1.292	2.611

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетесот, BMI, FGF23, GFR, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, терапија, систолен и дијастолан притисок

6.3.5 Мултиваријантна линеарна регресиона анализа за детерминанти на eGFR

Во Табела 43 се прикажани резултатите од мултиваријантната линеарна регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна прогностичка вредност во предвидувањето на гломеруларната филтрациона рата (ГФР) кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со eGFR ги детерминира: FGF23 ($p<0.0001$), триглицеридите ($p=0.037$) и BMI ($p=0.049$).

Со секое зголемување на FGF23 за 1 pg/ml, GFR просечно се намалува за 0.227 (95%CI -0.249- -0.206); со зголемувањето на триглицеридите за 1 mmol/l, ГФР просечно се намалува 0.911 (95% CI -1.76 - -0.057); со зголемувањето на BMI за 1 kg/m², ГФР просечно се намалува за 0.161 (95% CI -0.326—0.223).

Табела 43. Мултиваријантна регресиона анализа за фактори асоцирани со ГФР

варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	Sig.	95,0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta		Lower Bound	Upper Bound
FGF23	-0.227	0.011	-0.914	0.000	-0.249	-0.206
Триглицериди	-0.911	0.429	-0.112	0.037	-1.766	-0.057
BMI	-0.161	0.083	-0.082	0.049	-0.326	-0.223

Зависна варијабла GFR (гломеруларна филтрациона рата)

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетесот, BMI, FGF23, GFR, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, терапија, систолен и дијастолен притисок

6.3.6 Мултиваријантна линеарна регресиона анализа за детерминанти на FGF23

Во Табела 44 се прикажани резултатите од мултиваријантната линеарна регресиона анализа за детерминирање на факторите што имаат независна

прогностичка вредност во предвидувањето на FGF23 кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција.

Мултиваријантната анализа како независни сигнификантни фактори асоцирани со FGF23 ги детерминира: PTH ($p=0.006$), калциум ($p=0.031$), фосфор ($p=0.046$), креатинин ($p<0.0001$) и холестерол ($p=0.042$).

Со секое зголемување на PTH за 1 mmol/l, FGF23 просечно се зголемува за 0.278 (95%CI -0.081-0.475); со зголемувањето на калциумот за 1 mmol/l, FGF23 просечно се намалува за 4.404 (95% CI -9.038 - -3.77); со зголемувањето на креатининот за 1 umol/l, FGF23 просечно се зголемува за 0.741 (95% CI 0.44-1.042); со зголемувањето на холестеролот за 1mmol/l, FGF23 просечно се зголемува за 5.748 (95% CI 3.301—11.796).

Табела 44. Мултиваријантна регресиона анализа за фактори асоцирани со FGF23

варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	Sig.	95,0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta		Lower Bound	Upper Bound
PTH	0.278	0.099	0.272	0.006	0.081	0.475
Калциум	-4.404	8.934	-0.215	0.031	-9.038	-3.770
Фосфор	7.714	3.670	0.197	0.046	0.544	14.883
Креатинин	0.741	0.152	0.443	0.000	0.44	1.042
Холестерол	5.748	3.047	0.159	0.042	3.301	11.796

Зависна варијабла GFR (гломеруларна филтрациона рата)

*Варијабли вклучени во анализата: пол, возраст, пушачки статус, времетраење на дијабетесот, BMI, GFR, витамин Д, PTH, калциум, фосфор, алкална фосфатаза, гликемија, холестерол, триглицериди, HDL, LDL, CRP, креатинин, терапија, систолен и дијастолен притисок

Во табела 45 прикажани се резултатите од мултиваријантната линеарна регресиона анализа за детерминирање на факторите кои имаат независна прогностичка вредност во предвидување на FGF23 кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција со GFR 45-60 ml/min/1,73m².

Мултиваријантната анализа како независен сигнификантни фактор асоциран со FGF23 го потврди хемоглобинот. ($p=0.009$). Со секое зголемување на Hgb за 1 g/dL, FGF23 просечно се намалува за 5.297 pg/ml (95%CI -9.24- -1.353).

Табела 45. Мултиваријантна регресиона анализа за фактори асоцирани со ГФР 45-60 ml/min

Варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	Sig.	95,0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta		Lower Bound	Upper Bound
Er	-0.819	5.322	-0.2694	0.878	-11.498	9.860
Hgb	-5.297	1.965	-0.4311	0.009	-9.24	-1.353

Зависна варијабла FGF23

Во табела 46 прикажани се резултатите од мултиваријантната линеарна регресиона анализа за детерминирање на факторите кои имаат независна прогностичка вредност во предвидување на FGF23 кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција со GFR 60-70 ml/min/1,73m².

Мултиваријантната анализа како независен сигнификантни фактор асоциран со FGF23 го потврди хемоглобинот. ($p=0.042$). Со секое зголемување на Hgb за 1 g/dL, FGF23 просечно се намалува за 3.1 pg/ml (95%CI -7.432 - -1.223)

Табела 46. Мултиваријантна регресиона анализа за фактори асоцирани со ГФР 60-70 ml/min/1,73m²

Варијабла	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	Sig.	95,0% Confidence Interval for B	
	B	Std. Error	Beta		Lower Bound	Upper Bound
Er	-0.920	2.781	-0.2228	0.742	-4.672	6.513
Hgb	-3.10		-0.3319	0.042	-7.432	-1.223

Зависна варијабла FGF23

6.3.7 ROC анализа на дискриминаторската способност на FGF23

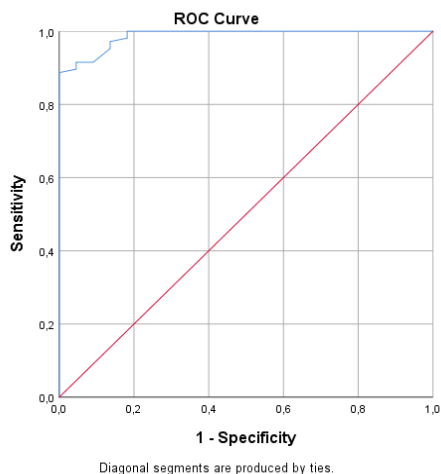
Во истражувањето беше користена ROC-анализа за да се одреди дискриминаторската способност на FGF23 за предикција на ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција кај пациенти со тип 2 дијабетес мелитус. За таа цел беа анализирани 42 пациенти, од кои 22 беа здрави, а 20 со ДМТ2 без ХББ.

Плоштината под ROC-кривата AUC (Area Under the Curve) за FGF23 има вредност од 0.987 (AUC=0.987, CI 95%0.972-1.0), што укажува дека овој биомаркер е одличен предиктор во разграничувањето на пациенти со тип 2 дијабетес мелитус и ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција (Табела 41, Слика 29).

Cut off-вредноста на биомаркерот FGF23 на оваа група пациенти изнесува 69.5 pg/ml, со сензитивност од 91.5% и специфичност од 95.5%.

Табела 47. AUC за FGF23 во предикција на ран стадиум на хронична бубрежна инсуфициенција кај пациенти со тип 2 ДМ

Варијабла	AUC	Std. Error ^a	Sig.	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
FGF23	0.987	0.008	0.000	0.972	1.0



Слика 32. ROC-крива за дискриминаторната способност на FGF23 за дијабетична Нефропатија

7. ДИСКУСИЈА

Дијабетес мелитус тип 2 претставува хронично, мултисистемско заболување со значително висока преваленца и доминантен придонес за глобалниот морбидитет и морталитет. Над 90% од компликациите кај дијабетесот произлегуваат од неговите хронични ангиопatii, додека акутните метаболни нарушувања учествуваат со околу 10% од исходите [93,94]. Ова ја нагласува потребата за рано препознавање на суптилните патофизиолошки промени пред појавата на клинички видлива органска дисфункција.

Современите клинички извештаи на ADA, EASD и други релевантни здруженија подвлекуваат дека традиционалните биомаркери, како еГФР и албуминуријата, често не ја одразуваат раната тубуло-интерстицијална и минерално-метаболна дерегулација која им претходи на структурните оштетувања [3,95].

Дополнително, хроничното воспаление, оксидативниот стрес и ендотелната дисфункција претставуваат заедничка биолошка основа за развој на микро- и макроваскуларните компликации, а нивната кумулативна интеракција ја влошува вкупната прогноза [11]. Пациентите со двата ентитета имаат 6 пати поголем ризик за смрт од општата популација, 3 пати поголем ризик од тие само со дијабетес и 2 пати поголем ризик од пациентите само со ХББ [96].

Ова бара холистичен пристап, суштински различен од традиционалниот глукоцентричен пристап [3,95].

Во целиот овој контекст, сè појасно станува ограничувањето на традиционалните биомаркери – еГФР и албуминурија. Иако се основа на клиничката процена, нивната сензитивност е недоволна во ран стадиум, бидејќи клеточните, воспалителните, тубуларните и минералните оштетувања почнуваат многу порано [10,97,98].

Оттука произлегува потребата за идентификација на нови, посензитивни биомаркери со поширока патофизиолошка покриеност. FGF23 се истакнува како таков кандидат - хормон што рефлектира нарушена фосфатна хомеостаза, тубуло-

интерстицијални промени, ренална дисфункција и кардиоваскуларен ризик уште пред да се наруши еГФР или да се појави албуминурија [68].

Современите податоци ја зајакнуваат хипотезата дека FGF23 може да биде еден од најраните и најсеопфатните биомаркери поврзани со развојот и прогресијата на микро- и макроваскуларните компликации [17,89, 99, 100]

7.1 Предиктивна вредност на FGF23

Во нашата кохорта на пациенти со ДМТ2 и ран стадиум на ХББ, вредностите на FGF23 се движеа во опсег од 65-194 pg/ml, со просечна вредност од 118.67 ± 32.3 pg/ml. Распонот на FGF-23 во нашата кохорта (65–194 pg/ml) е споредлив со стадиум-специфичните вредности прикажани во големата СКД кохорта на Escudero et al., каде intact FGF-23 расте од ~60 pg/ml во СКД стадиум 3, до ~111 pg/ml во стадиум 4, со широка варијабилност, што ја позиционира нашата популација во очекуваниот опсег за рана/умерена ХББ [95].

ROC анализата во ова истражување покажа $AUC = 0.987$ (95% CI 0.972–1.0), што претставува исклучително висока дискриминативна способност на биомаркерот FGF23 за рана детекција на ХББ кај пациенти со ДМТ2. Определената cut-off вредност од 69.5 pg/ml, сензитивноста од 91.5% и специфичноста од 95.5%, укажува дека FGF23 е способен да ја идентификува субклиничката бубрежна дисфункција пред да се манифестира со пад на еГФР или појава на албуминурија. Силната дијагностичко-дискриминативна вредност на FGF23 е потврдена и во студијата на El-Sayed et al., каде биомаркерот демонстрира исклучително висока чувствителност (91.4%) и специфичност (90.0%) за детекција на хронична бубрежна болест, со $AUC = 0.977$ и оптимален пресек ≥ 59.7 [101].

Ова е значајно, бидејќи токму тубуларните нарушувања и дисрегулацијата на фосфатната хомеостаза се случуваат многу порано од гломеруларните промени [68, 84]. Нашите наоди ја потврдуваат тезата дека FGF23 се покачува како компензаторен одговор на фосфатна ретенција, механизам што современите студии го посочуваат како најран биохемиски маркер на ХББ [71.61.72,41].

Постојните литературни податоци, вклучувајќи ги и резултатите од студиите CRIC, ARIC, PREVEND и други популациски анализи, покажуваат дека FGF23 се зголемува експоненцијално со намалувањето на функцијата на бубрезите, далеку пред појавата на хиперфосфатемија или предиктивно значајна албуминурија [74,91.89]. Нашите резултати се во согласност со овие сознанија и дополнително ја поддржуваат употребата на FGF23 како високо сензитивен предиктивен биомаркер, особено кај пациенти со дијабетес кај кои динамиката на бубрежните промени е побрза, а класичните биомаркери често доцнат во детекцијата [102,46].

Нашето истражување како и досегашните сознанија, ја нагласува улогата на FGF23 како биомаркер со висока предиктивна вредност кај популацијата со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ, што може да има значајни импликации во идниот клинички скрининг, стратификација на ризик и навременото започнување со нефропротективни стратегии.

7.2 Асоцираност на FGF23 со демографските параметри кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ

Во дизајнот на примерокот беше применет селективен пристап со јасна цел да се редуцира влијанието на главните фактори што можат да ја модифицираат концентрацијата на FGF23, без притоа да се наруши реалната епидемиолошка слика на популацијата. Пушачите не беа исклучени, артериската хипертензија беше стабилизирана, гликемиската контрола беше одржувана и имаше рамномерна застапеност на двата пола. Со ова се обезбеди репрезентативност и контрола на варијабилноста, соодветна на реалната клиничка пракса.

Во големите популациски студии ARIC, PREVEND и CRIC се детално анализирани демографските детерминанти и е утврдено дека вредностите на FGF23 се зголемуваат со возраста, повисоки се кај женскиот пол и се асоцирани со повисок BMI, пушењето, времетраењето на дијабетесот и присутната хипертензија [74,91.89].

Во нашето испитување беа застапени пациенти со просечна старост од 67 години и тоа е најрепрезентативната возраст за ДМТ2 и ран стадиум на ХББ во

клиничката пракса. Пушењето беше високо застапено, дури 83 пациенти беа активни пушачи, што е во согласност со локалните популациски навики. Најчесто пациентите во примерокот имаа прекумерна ТТ, следено со гојазни од класа 1, што ја отсликува актуелната епидемиолошка структура на ДМТ2 во нашата средина.

Резултатите од студијата покажаа дека FGF23, иако несигнификантно, беше повисок кај женската популација, кај пушачите и имаше тенденција на раст кај повозрасната популација. Пациентите со BMI <25 kg/m² имаа најниски просечни вредности на FGF23, следено со пациентите со BMI од 25.1-39,9 kg/m², каде што се забележуваше постепен пораст. Сепак испитуваната корелација помеѓу серумското ниво на FGF23 и БМИ не достигна статистичка сигнификантност, како и корелацијата со времетраењето на дијабетесот. Ова укажува дека антропометриските детерминанти сами по себе не се доволни да ја објаснат динамиката на FGF23.

Иако голем број студии укажуваат дека FGF23 е повисок кај постарата возраст, женски пол, гојазност и пушење, постојат популациски подгрупи кај кои овие очекувани врски не се потврдуваат. Во Cardiovascular Health Study, дебелината без присутна инсулинска резистенција не е асоцирана со покачен FGF23, што го поддржува концептот дека метаболниот стрес, а не само антропометријата игра клучна улога во неговата регулација [100].

Слично во PREVEND, пушењето само посебе, без висок фосфатен внес, не доведе до покачени вредности на FGF23. Овие наоди укажуваат дека биомаркерот FGF23 е многу повеќе од демографски или антропометриски биомаркер, напротив, тој претставува чувствителен индикатор на фосфатниот товар, тубулоинтерстицијалната дисфункција и метаболната хомеостаза [91,84].

Резултатите од нашето истражување, и покрај тоа што не ги следат целосно најчестите и очекувани демографски асоцијации опишани во литература, сепак го следат општиот тренд пријавен во големите популациски студии, спроведени на значително поголеми примероци. Ова укажува дека добиентите асоцијации се методолошки конзистентни и очекувани во рамките на демографски хетерогената популација со ДМТ2.

Иако демографските детерминанти можат умерено да влијаат врз варијациите на FGF23, суштинските клинички информации произлегуваат од неговата поврзаност со суптилните ренални промени. Затоа, следниот логичен чекор е да се разгледа релацијата меѓу FGF23 и степенот на рано бубрежно оштетување.

7.3 Асоцираност на FGF23 со степенот на бубрежно оштетување кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ

Асоцираноста на FGF23 со степенот на бубрежната аинсуфициенција е добро позната и систематски опишана во голем број репрезентативни клинички студии, анализи и извештаи. Конзистентните податоци покажуваат дека нивото на FGF23 се покачува многу рано во текот на ХББ, дури и во фазите кога серумскиот фосфат и РТН се во референтни граници, што го позиционира како еден од најраните биомеркери на нарушена фосфатна елиминација и тубуло-интерстициелна дисфункција [68, 71, 98].

Овој механизам, кој претставува компензација на нефроните со цел одржување на фосфатната хомеостаза, се активира уште при минимално нарушување на тубуларниот транспорт.

Целта на нашето испитување беше да ја провериме оваа асоцијација на наш популациски примерок, кој имаше тесно дефиниран распон на бубрежна слабост со eGFR (45-70 ml/min/1,73m²). Ваквиот распон овозможува проценка на суптилните варијации на FGF23 во период кога традиционалните биохемиски показатели можат да одганат релативно стабилни и недоволно сензитивни.

Во големата и методолошки високо валидна студија CRIC е утврдено дека нивото на FGF23 експоненцијално расте со намалувањето на eGFR и дека неговото покачување претходи на појавата на хиперфосфатемија и изразена последична покачена вредност на РТН [103]. Слични резултати се регистрирани и во ARIC [89] и PREVEND [91], кои покажуваат дека и во општата популација повисоките нивоа на FGF23 ја рефлектираат раната дисфункција на бубрегот, особено изразени кај лица со присутна микроалбуминурија. Овие наоди го позиционираат FGF23 како посредник меѓу нарушената бубрежна функција и кардиоваскуларниот ризик. Овие студии ја

потенцираат улогата на FGF23 не само како биохемиски маркер, туку и како патофизиолошки фактор поврзан со KB дисфункција и повисок морталитет.

Од аспект на клиничка пракса, FGF23 претставува одраз на комплексен адаптивен механизам на бубрегот, кој настојува да ја компензира намалената фосфатна елиминација. Кога нефронската маса се намалува, организмот реагира со зголемена продукција на FGF23, со цел да ја стимулира тубуларната екскреција на фосфати и да ја потисне хидроксилацијата на витамин Д, со што се намалува внесот на фосфор од гастроинтестиналниот тракт.

Во нашто истражување беше утврдено дека FGF23 сигнификантно и негативно корелира со еГФР ($p < 0.0001$), што е во согласност со претходно опишаните наоди во големите популациски студии и ја потврдува улогата на FGF23 како ран индикатор на нарушена бубрежна функција. Негативната корелација укажува дека во раната фаза на ХББ, кога падот на еГФР е суптилен, FGF23 реагира многу посензитивно, што го прави ран индикатор на нарушена бубрежна функција дури и во услови на нормален серумски фосфор.

Дополнително, регистриравме дека пациентите со хиперкалемија имаа сигнификантно повисоки вредности на FGF23 ($p = 0.01$). Иако корелацијата на FGF23 со серумските вредности на калиум и натриум не беше статистички значајна, оваа обсервација може да се објасни со заедничкиот патофизиолошки контекст на тубуло-интерстициелно оштетување, нарушена ренална екскреција и рана загуба на нефронска функционалност.

Во согласност со очекуваното, FGF23 исто така беше сигнификантно повисок кај пациентите со покачени вредности на уреа и креатинин, со оглед дека овие параметри се директни сурогат-маркери за намален бубрежен клиренс. Иако корелацијата со уреа беше несигнификантна ($r = 0.1814$, $p = 0.063$), сигнификантно позитивно корелираше со креатинин ($r = 0.4899$, $p < 0.0001$) и несигнификантно корелираше со мокрачна киселина ($r = 0.1699$, $p = 0.082$). Овие податоци ја поткрепуваат позицијата на FGF23 како чувствителен биомаркер на намалена функционална маса на нефроните.

Интересен и клинички значаен аспект од нашите резултати беше негативната и статистички сигнификантна корелација на FGF23 со бројот на еритроцити ($r=-0.2279$, $p=0.019$) и со хемоглобинот ($r=-0.2536$, $p=0.009$). Отсутни беа значајни корелации со леукоцити и тромбоцити.

Во контекст на ХББ и регистрираната негативна корелација на FGF23 со бројот на еритроцити и хемоглобин, повеќе механизми ги поврзуваат повисоките нивоа на FGF23 со нарушувањето на еритропоезата [64.65.67].

По добиените сигнификантни корелации, пациентите беа дополнително стратифицирани според вредностите на eGFR во две подгрупи (45–60 и 60–70 ml/min), при што анализата поединечно во двете групи повторно покажа негативна и статистички сигнификантна корелација на FGF23 со бројот на еритроцитите ($r=-0.2694$, $p=0.047$ и $r=-0.2228$, $p=0.016$, соодветно) и со хемоглобинот ($r=-0.4311$, $p=0.001$ и $r=-0.3319$, $p=0.027$). Фактот дека овие асоцијации се задржуваат и кај пациенти со eGFR над 60 ml/min, кај кои не се очекува клинички значајна анемија поврзана со ХББ, укажува дека врска помеѓу FGF23 и хематолошките параметри не е исклучиво последица на природниот тек на бубрежната дисфункција. Дополнително, мултиваријантната регресиона анализа го потврди хемоглобинот како независен фактор асоциран со FGF23, при што со секое зголемување на концентрацијата на хемоглобинот за 1 g/dL се регистрираше просечно намалување на FGF23 од 5.3 pg/ml во групата со eGFR 45–60 ml/min и од 3.1 pg/ml кај пациентите со eGFR 60–70 ml/min, што ја зацврстува улогата на FGF23 како ран маркер поврзан со нарушувањата на еритропоезата во раните стадиуми на ХББ.

Овој однос е биолошки објаснив преку неколку механизми докажани во предклинички модели.

- Преку FGF23-хепцидин оската, каде што зголемениот FGF23 доведува до супресија на 1,25(OH)2D, зголемена продукција на хепцидин, намалена мобилизација и достапност на железо и на крај инхибиција на еритропоетскиот одговор [104].

- Преку FGF23 – витамин Д оската – FGF23 ја инхибира 1 α -хидроксилазата во бубрегот, го намалува витаминот Д, тоа ја намалува апсорпцијата на железо и ја намалува ЕПО сигнализацијата [56].
- Преку директно дејство врз еритроидните прекурсори, кое доведува до инхибиција на нивната пролиферација [105].
- Преку повратна оска со еритропоетинот – еритропоетинот го стимулира синтезирањето на FGF23 во коскеното ткиво, но истовремено ја забрзува и неговата конверзија во неактивна форма. Ова создава динамичка регулаторна рамнотежа, колку повеќе анемија, толку повеќе еритропоетин, толку повеќе FGF23. Тогаш високиот FGF23 повторно ја инхибира еритропоезата, формирајќи така еден затворен патолошки круг во ХББ [105,67].

Отсуството на значајни корелации со леукоцити и тромбоцити методолошки потврдува дека не се работи за општа хематолошка дестабилизација, туку за нарушена еритропоетинска линија.

Сумирано, добиените наоди укажуваат дека FGF23 се однесува како чувствителен индикатор на нарушена бубрежна функција, особено во раните фази, кога промените на традиционалните параметри како еГФР и албуминурија можат да бидат суптилни, а серумскиот фосфат, мочната киселина, хемоглобинот и бројот на еритроцити се сè уште нормални. Овој наод ја поддржува концепцијата дека FGF23 може да се разгледува како потенцијален биомаркер со прогностичка вредност.

Дополнително утврдената негативна корелација меѓу FGF23, независно од степенот на намалена еГФР во испитуваната група и хематолошките параметри упатува на учество на FGF23 во регулацијата на еритропоезата. Ова дополнително го позиционира FGF23 не само како биомаркер, туку и како потенцијален патофизиолошки медијатор во развојот и продлабочувањето на анемијата кај пациенти со ХББ, што го прави поволен биомаркер за идентификација на пациенти со висок ризик за развој или прогресија на анемија и дополнително ја нагласува неговата мултисистемска клиничка релевантност.

Бидејќи FGF23 се покачува како одговор на раната тубуло-интерстицијална дисфункција и нарушената фосфатна хомеостаза, природно се поставува прашањето дали оваа рана активација има одраз и врз специфичните микроангиопатски исходи. Затоа, следниот сегмент ја анализира поврзаноста меѓу FGF23 и најраните и најзначајни микроваскуларни компликации – дијабетичната нефропатија и ретинопатија.

7.4 Асоцираност на FGF23 со микроваскуларните компликации кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ

Микроваскуларните компликации кај ДМТ2 се фундаментален дел од хроничните компликации и се едни од најзначајните компликации што се резултат на хронична хипергликемија. Во почетокот се дискретни, но прогресивни по природа и резултираат со длабоки структурни и функционални промени на малите крвни садови.

Најчесто застапени се нефропатија, ретинопатија и полиневропатија, кои заедно ја дефинираат долгорочната прогноза и квалитетот на живот на пациентите. Во рамките на ова испитување беа опфатени двете клинички најзначајни и најрано манифестни микроваскуларни компликации: дијабетична нефропатија и дијабетична ретинопатија.

Микроваскуларните компликации се последица на комплексна интеракција на повеќе патофизиолошки механизми: ендотелна дисфункција, оксидативен стрес, воспалителни процеси, акумулација на продукти на прекумерна гликлација, нарушена микроциркулаторна авторегулација, патолошка клеточна пролиферација и акумулација на екстрацелуларен матрикс и, во поново време, често споменувана микроваскуларна инсулинска резистенција, која води до нарушена капиларна вазодилатација и намалена достапност на нутриенти и кислород во ткивата. Како резултат на овие процеси, доаѓа до задебелување на капиларните сидови, намалена перфузија и прогресивна ткивна исхемија [106,107,108].

Нивното рано препознавање и стратификација на ризик се особено важни заради навремен третман и превенција на сериозни последици поради прогресија и

компликации на основното нарушување. Традиционалните биомаркери за нивна детекција и прогноза - албуминурија, еГФР и преглед на очно дно - ги детектираат промените кога веќе настанале структурни промени. Во потрага на посензитивен маркер, ги вклучивме овие компликации за да ја утврдиме нивната застапеност во кохортата и нивната асоцираност со FGF23.

Во рамките на микроваскуларните компликации, дијабетичната нефропатија претставува најрано манифестниот и патофизиолошки најконзистентен пример на прогресивно оштетување. Затоа, следниот сегмент ги анализира врските меѓу FGF23 и различните степени на нефропатско оштетување, со фокус на тоа дали неговото рано покачување ја рефлектира субклиничката фаза на болеста.

7.5 Асоцираност на FGF23 со дијабетична нефропатија

Дијабетичната нефропатија е хронично и прогресивно оштетување на бубрежната структура и функција, како последица на долготрајна хипергликемија кај пациенти со ДМ и се карактеризира со перзистентна албуминурија ≥ 30 мг/г, намлена еГФР < 60 ml/min/1.73m², или и двете, кои траат најмалку 3 месеци, без друга очигледна нефролошка причина [10]. Се карактеризира со задебелување на гломеруларната базална мембрана, задебелување на мезангијалниот матрикс, подоцитно оштетување и постепено намалување на гломеруларната филтрациона рата [107.108].

Во нашето испитување беше утврдено дека FGF23 негативно и статистички сигнификантно корелира со еГФР ($p < 0.0001$), што е во согласност со податоците дека зголемувањето на FGF23 се јавува како рана компензациска реакција на нарушена фосфатна екскреција и тубуларна дисфункција [68.69.70].

Иако во нашето испитување FGF23 не покажа сигнификантна корелација со степенот на микроалбуминурија, ниту неговите вредности значајно се разликуваа меѓу групите со различен степен на албуминурија, сепак кога анализата се фокусираше на клинички дефинирана ДН, се регистрираше јасна разлика во нивото на FGF23.

Пациентите со дијабетична нефропатија имаа значајно повисоки вредности на FGF23, споредено со пациентите без нефропатија од просечни 31.63 pg/ml, што беше статистички сигнификантна разлика за $p=0.000003$. Ова укажува дека FGF23 може да рефлектира структурни и функционални промени во нефронот дури и пред појава на стабилна микроалбуминурија, што е и потврдено и во скорешни студии, од кои и една голема кохортна на Liu et al.2025, спроведена на лица со ДМТ2, каде што FGF23 е значително покачен кај нормоалбуминурични пациенти, следени во текот на речиси 5 години [109].

Ова се јавува во фаза кога кај нашата испитувана група нема покачен фосфор, односно тој е покачен само кај двајца испитаници. Микроалбуминуријата е исто така во нормални вредности, односно помала од 30 mg/g кај повеќе од половината од примерокот, што укажува на рано откривање на FGF23 пред класичните лабораториски маркери.

Сумирано, резултатите од нашето истражување покажуваат дека FGF23 е значајно поврзан со присуство на ДН.

Овој наод беше потврден и во мултиваријантна логистичка регресија, каде што FGF23 се издвојува како независен предиктор, заедно со пушачкиот статус, РТН и триглицеридите, што укажува на комплексна интеракција со минерално-метаболната регулација. Особено е значајно што овие асоцијации се јавуваат во фаза на рана патофизиолошка активација на FGF23 пред појавата на класичните биохемиски маркери.

Нормалната албуминурија не ја исклучува ДН согласно KDIGO 2022 и KDIGO/ADA консензусот, бидејќи дијабетична нефропатија може да се презентира и како намален еГФР, покачен РТН, покачен FGF23 или други маркери на тубуларна дисфункција, уште пред појавата на манифестна албуминурија [3,10].

Заклучокот е дека проценката на FGF23 кај пациенти со дијабетес во ран стадиум на ХББ и дијабетична нефропатија има потенцијално клиничко значење, бидејќи дозволува рано препознавање на пациенти со повисок ризик, за прогресија на болеста и КВ компликации. Ова дава можност за рана интервенција во насока на

контролирање на фосфатниот внес и да се преземе оптимизација на терапевските и скрининг-протоколите за спречување на понатамошно оштетување.

Бидејќи FGF23 покажа јасна поврзаност со структурните и биохемиските промени карактеристични за дијабетичната нефропатија, логично е да се разгледа дали овој биомаркер има клинички релевантна улога и во другата главна микроваскуларна компликација – дијабетичната ретинопатија. Притоа, од особена важност е да се процени дали раното зголемување на FGF23 се одразува и во ретиналната микроциркулација, каде што процесите на исхемија, воспаление и капиларна дисфункција следат различна биолошка динамика.

7.6 Асоцираност на FGF23 со дијабетична ретинопатија

Дијабетичната ретинопатија претставува прогресивно микроваскуларно оштетување на ретиналните капилари при што традиционалните маркери како офталмолошки преглед на очното дно и детекција на албуминурија, имаат ограничена чувствителност во рана фаза [107,108].

FGF23 има улога во микроваскуларното оштетување, што доведува до микроваскуларна ремоделација и капиларна исхемија во ретината [110].

Големата CRIC студија покажа дека повисокиот серумски фосфор е независно асоциран со поголема тежина на ДР, додека FGF23 не покажа независна асоцијација со ретинопатијата. Ова сугерира дека фосфатот има директен микроваскуларен ефект врз ретиналната циркулација, додека FGF23 веројатно делува преку други таргетни системи, а не директно на васкуларниот ендотел [103, 111].

Сè повеќе студии сугерираат дека коскено-минералниот метаболизам, особено витаминот Д и неговиот рецептор, може да имаат улога во патогенезата на ДР. Пониските вредности се поврзани со понапредна ДР. Дополнително некои од индикаторите за коскена ресорпција се покажале како потенцијални маркери поврзани со присуство и тежина на ДР, што укажува дека микроваскуларната дисфункција може да биде придружена со нарушен коскено-минерален метаболизам [110].

Во овој контекст и FGF23 се разгледува како може биомаркер од интерес, бидејќи се јавува во раните фази на тубуло-интерстицијално оштетување и нарушена фосфатна хомеостаза. Прашањето дали FGF23 е директно поврзан со микроваскуларните промени на ретината и дали може да има предиктивна вредност е недоволно истражено.

Во нашето испитување пациентите со дијабетична ретинопатија имаа тенденција кон повисоки вредности на FGF23, иако разликата не достигна статистичка значајност ($p=0,72$). Ова укажува дека FGF23 веројатно не е директен маркер на ретиналното оштетување, но може индиректно да го рефлектира присуството на рана системска микроангиопатија.

Сепак, мултиваријантната логистичка регресиона анализа во нашето истражување идентификуваше повеќе независни фактори асоцирани со присуството на ретинопатија:

- Полот се покажа како значаен предиктор, при што мажите имаа значително повисока веројатност за развој на ретинопатија во однос на жените ($p = 0.026$);
- Времетраењето на дијабетесот беше независен и силен предиктор, при што секоја дополнителна година траење на болеста ја зголемуваше веројатноста за ретинопатија за 9.1% ($p = 0.019$);
- Нарушениот коскено-минерален метаболизам беше поврзан со 2.44 пати повисока веројатност за ретинопатија ($p = 0.04$), што укажува на интегрирана улога на фосфатната регулација и системското микроваскуларно оштетување;
- Зголемувањето на серумскиот фосфор за 1 mmol/L ја зголемуваше шансата за ретинопатија за 1.94 пати ($p = 0.01$).

Мултиваријантната анализа не го идентификуваше FGF23 како независен предиктор за ретинопатија, што ја поддржува хипотезата дека неговото зголемување е повеќе одраз на системски микроангиопатски промени отколку на специфични ретинални оштетувања.

Овие резултати ја истакнуваат потребата за интегриран пристап во проценката на пациентите со дијабетес, кој покрај гликемиската контрола ќе вклучи и редовна

проценка на минералниот метаболизам. Навремено препознавање и корекција на фосфатниот товар и нарушениот коскено-минерален метаболизам може да придонесе за превенција или забавување на прогресијата на дијабетичната ретинопатија.

Иако микроваскуларните промени како нефропатијата и ретинопатијата претставуваат рани и чести манифестации на дијабетичната микроангиопатија, клиничката прогноза кај пациентите со ДМТ2 најчесто се одредува од макроваскуларните исходи. Затоа, следниот сегмент ја анализира асоцијацијата меѓу FGF23 и структурните промени на големите артериски садови, со цел да се процени дали неговото рано покачување има улога и во атеросклеротичниот континуум.

7.7 Асоцираност на FGF23 со макроваскуларните компликации кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ

Макроваскуларните компликации се главни причинители за кардиоваскуларната смртност кај пациентите со ДМТ2, а присуството на ХББ дополнително го зголемува ризикот (10,112). Комбинацијата на ендотелна дисфункција, воспаление и атероген метаболен профил ја забрзува прогресијата на атеросклерозата. Ова води во намалена еластичност, ригидност и атеросклероза на артериските крвни садови, што клинички се манифестира со атеросклероза (113).

Главна се манифестира како периферна артериска болест на долните екстремитети и екстракранијална каротидна атеросклероза [23]. Дополнително, нарушениот коскено-минерален метаболизам игра клучна улога во овој процес - FGF23, фосфорот и РТН придонесуваат за ендотелна дисфункција, артериска калцификација и структурни промени на васкуларното корито дури и при нормален серумски фосфор [34-38,40-43,80,114-119].

Зголемениот FGF23 доминантно се поврзува со левовентрикуларна хипертрофија, атеросклероза и зголемен КВ ризик, што го позиционира како ран предиктивен биомаркер на васкуларна патологија, особено кај пациенти со ДМТ2 и ран стадиум на ХББ [119,121].

Овие резултати се во согласност со наодите на големата шведска национална кохортна студија, која покажа дека пациентите со ДМТ2 кај кои сите пет ризик фактори (HbA1C, LDL, TA, албуминурија и пушење) се таргет, имаат ризик за смрт, инфаркт и МУ речиси идентичен со тој кај општата популација [122]. Сепак, има резидуален васкуларен ризик, што го оправдува барањето на нови биомаркери како FGF23, кои би можеле да го детектираат тој резидуален ризик.

Раните морфолошки промени на артериите – зголемениот IMT и појавата на атероматозни плаки - се чувствителни предиктивни биомаркери за мајорни КВ настани [123-125]. Овие промени се јавуваат во фази кога функционалните параметри eГФР и албуминурија, се сè уште во нормала, што ја нагласува потребата од структурни и биохемиски индикатори за рано препознавање на васкуларен ризик.

Комбинирањето на структурните маркери со биохемиски биомаркери на коскено-минералниот метаболизам претставува современ интегриран пристап за рана идентификација и стратификација на макроваскуларен ризик кај овие пациенти, со потенцијал да овозможи навремена интервенција уште пред клинички манифестна болест.

Во нашата кохорта со ДМТ2 и рана ХББ, FGF23 не покажа статистички значајна асоцијација со степенот на макроваскуларна болест измерен со доплер на долните екстремитети и каротидите, ниту со структурните сурогати на атеросклероза (IMT на каротиди и бифеморален IMT). Пациентите со/без етаблирана кардиоваскуларна болест и/или кардиоваскуларен настан имаа несигнификантно различни просечни вредности на FGF23 ($p=0.24$).

Иако пациентите со етаблирана ПАБ на нозете имаа повисоки просечни нивоа на FGF23 во споредба со групите без или со помал степен на атеросклероза, разликата не достигна сигнификантност ($p=0.367$). Слично, порастот на средните вредности на FGF23 низ категориите на каротидна атеросклероза не беше статистички потврден ($p=0.255$). Корелациите со двата IMT беа мали и несигнификантни. Иако пациентите со клиничка периферна дијабетична ангиопатија имаа повисок FGF23 од тие без ПАБ, и оваа разлика не беше статистички значајна ($p=0.129$).

Овие наоди сугерираат дека FGF23 веројатно рефлектира порано метаболно тубуло-интерстициелно нарушување во кардиореналниот континуум, кое не е задолжително синхронизирано со морфолошки детектибилна макроваскуларна болест. Со други зборови, FGF23 може да сигнализира ризик и активирани патофизиолошки механизми пред да настанат ултразвучно мерливи промени на сидот на големите артерии.

Ваквата интерпретација е конзистентна со фактот дека кај истата кохорта FGF23 беше значајно повисок кај пациентите со нарушен коскено-минерален метаболизам ($p=0,025$), сугерирајќи дека FGF23 е потесно поврзан со раните биохемиско-минерални нарушувања, отколку со веќе етаблирани структурни макроваскуларни исходи.

Во мултиваријантните модели, макроваскуларните компликации беа независно асоцирани со класичните атерогенски фактори: кај долните екстремитети – машки пол, повисок BMI, повисок холестерол и ЛДЛ, а кај каротиди – пушење, понапредна возраст, подолготрајност на дијабетесот, холестерол и ЛДЛ.

Отсуството на независен ефект на FGF23 во присуство на овие силни коваријанти упатува дека во оваа фаза на ХББ варијабилноста на атеросклерозата се објаснува претежно преку традиционалната атерогена оптовареност.

Во нашето испитување овие резултати сугерираат дека FGF23 не треба да се користи како тековен маркер на структурна макроваскуларна болест, туку како рано предупредување за нарушена кардиоренална и коскено-минерална хомеостаза.

Неговата потенцијална клиничка улога може да биде најистакната во прогностички и стратификациски контекст, односно да предвиди кој пациент има поголем ризик да ја развие или да напредува побрзо. FGF23 се менува порано од ултразвучните промени и затоа може да сигнализира влошување, пред да ги видиме промените на доплер или IMT.

Резултатите од ова испитување само го потврдуваат постоењето на исклучоци и она што подгрева научна дилема.

Сепак, нашите резултати се конзистентни со наодите од студијата Cardiovascular Health Study, каде што покачени вредности на FGF23 не беа асоцирани со ниски или високи вредности на ABI, ниту со инциденцата на ПАБ, по направено приспособување за еГФР и албуминурија. Во оваа студија асоцијацијата меѓу FGF23 и ПАБ исчезна откако беше земена предвид бубрежната функција, што укажува дека ХББ е посредник во односот FGF23 –макроваскуларни компликации, а не нивна последица и дека FGF23 веројатно не делува како директен маркер на атеросклероза [126].

Слично, во студијата на Kaya et al. спроведена кај пациенти со хронична бубрежна болест не беше пронајдена корелација меѓу FGF23 и CIMT. Во оваа студија, возраста, пушачкиот статус и нивото на 25(ОН) витамин D се идентификувани како посилни независни ризик-фактори за атеросклероза отколку FGF23 [127].

Дополнителна поддршка на нашите резултати дава и големата Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA), која покажа дека FGF23 е поврзан со левовентрикуларна хипертрофија, коронарна калцификација и ризик за срцева слабост и коронарна болест, но не и со каротидниот IMT, ниту со инцидентен мозочен удар [121]. Ова сугерира дека FGF23 има посилен ефект врз миокардното ремоделирање и кардиореналната хомеостаза, отколку врз структурната атеросклероза на големите артерии.

Севкупно, добиените резултати и анализираната литература укажуваат дека FGF23 не функционира како тековен маркер на степенот на атеросклероза, туку како прогностички и стратификациски биомаркер, со клиничка вредност во рано идентификување на пациенти со повисок кардиоренален ризик, во период кога морфолошките промени на крвните садови сè уште не се изразени.

Иако макроваскуларните промени претставуваат клучен дел од кардиоваскуларниот ризичен профил кај пациентите со ДМТ2 и ХББ, нивната патофизиологија е тесно поврзана со нарушувањата во коскено-минералниот метаболизам. Бидејќи FGF23 е централна молекула во фосфатната хомеостаза и CKD-

MBD, логичен следен чекор е да се анализира неговата поврзаност со биохемиските и структурните аспекти на минералниот метаболизам.

7.8 Асоцираност на FGF23 со коскено-минералниот метаболизам кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ

СКД-MBD е системско нарушување на коскено-минералниот метаболизам, кое се јавува како последица на ХББ и се дефинира со позитивни минимум два параметри од следните: променети вредности на витамин Д, фосфор, калциум, АЛП, FGF23, промени во коскената морфологија и васкуларни или други мекоткивни калцификати [10]. Патофизиолошки вредноста на FGF23 се покачува многу рано во процесот на развој на СКД-MBD како компензаторен одговор на намалена фосфатна екскреција со пад на 1 алфа-хидроксилаза, пад на 1,25(OH)₂D и секундарна хиперпаратиреоза, што доведува до коскено ремоделирање и васкуларна, односно мекоткивна калцификација [68].

Бидејќи СКД-MBD претставува комплексно нарушување, направивме и поединечни корелации на FGF23 со сите параметри на коскено-минералниот метаболизам, со цел да утврдиме дали FGF23 како динамичен биомаркер се поврзува со поединечните структурни и биохемиски компоненти на СКД-MBD и дали неговото зголемување може да ја одрази раната дерегулација на минералниот метаболизам, како и тоа дали другите параметри на коскено минералниот метаболизам влијаат на неговата концентрација.

Бидејќи DEXA е традиционален метод и златен стандард за утврдување на коскената густина, во рамките на истражувањето направивме директна корелација меѓу FGF23 и маркерот T-score, добиен со овој метод. Целта беше да се провери дали зголеменото ниво на FGF23, како динамичен биомаркер на коскено-минералниот метаболизам, се одразува и преку структурни промени измерени со DEXA.

Во нашето истражување, пациентите со дијабетес и нарушен коскено-минерален метаболизам СКД-MBD имаа значајно повисоки вредности на FGF23 во

споредба со пациентите со зачуван коскено-минерален статус ($p=0.025$). Овој наод е конзистентен со добро познатата улога на FGF23 како клучен фосфатуричен хормон, кој реагира на зголемена фосфатемија и на нарушена хормонална регулација во оската FGF23–PTH–витамин Д.

Во однос на коскената густина, пациентите со остеопороза на ‘рбетот и колковите имаа повисоки средни вредности на FGF23 во споредба со пациентите со остеопенија и нормален DEXA скен, но овие разлики не беа статистички значајни ($p=0.754$ за ‘рбет; $p=0.4$ за колк). Ова укажува дека коскената минерална густина не ја одразува моменталната активност на FGF23, бидејќи DEXA ја мери структурната, а не динамичната состојба на коскено то ремоделирање.

FGF23 корелираше значајно позитивно со PTH ($p=0.009$) и со фосфор ($p=0.008$), додека негативната корелација со витамин Д беше несигнификантна ($r = -0.153$, $p=0.118$). Овие резултати укажуваат дека FGF23 најсилно се поврзува со активната хормонална дерегулација и со фосфатната оптовареност, а не со структурните маркери на коскената маса. Значајно повисоките вредности на FGF23 кај пациенти со покачена алкална фосфатаза дополнително го поддржуваат ова, бидејќи алкалната фосфатаза е индикатор за зголемена коскена метаболна активност.

Мултиваријантната регресиона анализа ги идентификува PTH ($p=0.006$), калциумот ($p=0.031$), фосфорот ($p=0.046$), креатининот ($p<0.0001$) и холестеролот ($p=0.042$) како независни предиктори на FGF23. Ова ги одразува поврзаните метаболни оски: FGF23–PTH–витамин Д–фосфор и кардиореналниот метаболизам.

Позитивната асоцијација со PTH и фосфорот е очекувана, додека негативната врска со калциумот го одразува намалувањето на потребата за регулаторен FGF23 сигнал при повисоки вредности на калциум. Најсилниот предиктор беше креатининот, што ја нагласува улогата на FGF23 како најран биомаркер на нарушена ренална елиминација на фосфат.

Холестеролот остана независно поврзан со FGF23, сугерирајќи врска со атерогените кардиометаболни патеки.

Сумирано, мултиваријантната анализа прикажува дека FGF23 е динамичен хормонален биомаркер, кој се покачува рано и рефлектира фосфатна оптовареност уште кога мерливиот фосфат е во референтни граници.

DEXA, како структурен индикатор, не е доволно чувствителен за да ја детектира моменталната ендокрина активност на FGF23, додека АЛП и фосфорот, во комбинација со PTH, ја поддржуваат тезата за активна коскено-минерална дисрегулација во која FGF23 игра централна компензациска улога.

Нашите резултати се во согласност со податоците на прегледот на Sirikul et al. 2022 и податоците од Isakova et al. 2015, кои покажуваат слаби, несигнификантни врски на FGF23 со BMD по приспособување [128, 129]. Повеќето студии од прегледот на Sirikul покажале дека по приспособувањето нема стабилна асоцијација на FGF23 со коскената густина измерена со DEXA [128].

Kužmová et al. понатаму покажуваат дека TBS (Trabecular Bone Score), кој ја оценува микроархитектурата на трабекуларната коска, е значајно поврзан со FGF23 и Klotho, и се намалува уште во раните фази на ХББ, додека DEXA останува непроменета [130]. Нашите резултати, иако не вклучуваа TBS мерење, се патофизиолошки компатибилни со овој модел, бидејќи кај нашите пациенти FGF23 беше покачен и биохемиски најавуваше нарушување, додека DEXA не детектирала значајна редукција на коскената маса.

Сепак, и во нашето истражување, како и во студијата на Kužmová, не беше утврдена значајна корелација помеѓу нивото на FGF23 и коскената густина измерена со DEXA [130].

Ова повторно ја потврдува ограничената чувствителност на DEXA-BMD во раните фази на CKD-MBD. Кај нашата група пациенти, исто како и во нивната студија, DEXA не прикажуваше структурни промени, иако биохемиските маркери укажуваа на нарушена минерална хомеостаза.

Ова сугерира дека FGF23 не одразува намалување на минералната густина, туку рано нарушување на метаболичката и микроархитектонската стабилност на коската, која DEXA не може да ја детектира.

Оттука, нашиот наод ја поддржува препораката развиена и од Kužmová et al. дека идното оценување на коскениот ризик кај пациенти со ХББ треба да вклучи динамични маркери (FGF23, Klotho, PTH, фосфор) и параметри на микроархитектура (TBS), а не само DEXA и одредување на минерална коскена густина.

Студијата на Kaaya et al. (2019) го потврдува концептот дека FGF23 не го одразува степенот на морфолошка атеросклероза или коскена структура, туку метаболната активност и хормонската регулација, односно дека FGF23 е динамичен хормонален маркер, додека DEXA е статичен структурен индикатор, кој се менува побавно [127]. Затоа кај ран стадиум на ХББ не е очекувано покачениот FGF23 да одразува присуство и степен на коскено нарушување.

Студијата на Ribeiro et al. (2019) демонстрира дека кај пациенти со ДМТ2 и рана ХББ, фрактурите и нарушувањата на коската не се секогаш рефлектирани со промена на коскената структура детектирано со DEXA. Динамичките биомаркери FGF23 и Klotho во ова истражување покажале поголема дијагностичка и предиктивна вредност од DEXA самостојно [131].

Студијата на Lee et al. 2023, и Bouksila et al. 2019 спроведена кај пациенти на дијализа, покажува силна негативна асоцираност на FGF23 со коскената густина, што упатува на тоа дека кога структурната деградација е во напреднат стадиум, дури тогаш промените стануваат видливи за DEXA [132, 133]. Во нашиот примерок не станува збор за таква асоцијација бидејќи пациентите се во ран стадиум на ХББ.

Такви неконзистентни наоди, но во прилог на тоа дека FGF23 не е директен маркер за коскена густина, увиделе и Hussain et al. 2023 во своето испитување спроведено на дијализни пациенти, кај кои се очекува да имаат нарушена коскена густина [134].

Севкупно, овие податоци потврдуваат дека FGF23 функционира како рано предупредувачки биомаркер на CKD-MBD, нарушување на коскената густина и кардиоренален ризик, додека DEXA доцна детектира структурна промена на коските.

Комбинирањето на FGF23, PTH, фосфор и Klotho со DEXA може да обезбеди повисока дијагностичка и прогностичка вредност отколку секој маркер поединечно.

Еден од дополнителните мотиви за изработка на овој труд беше да се процени и потенцијалната клиничка употребливост на FGF23 во донесувањето на тераписките одлуки кај пациентите со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ. Уште во фазата на дизајн на студијата пациентите што примале терапија со ДПП-4 инхибитори не беа вклучени во испитувањето имајќи го предвид нивното добро документирано влијание врз редукцијата на серумското ниво на FGF23, што би можело да биде значаен збунувачки фактор. Предклиничките студии на Manrique et al. (2016) покажаа дека linagliptin ја спречува диет-индуцираната експресија на FGF23 и ја нормализира Klotho сигнализацијата, а истражувањата на Hasegawa et al. (2017) дополнително го поддржаа овој механизам, па затоа нивно исклучување беше неопходно за да се минимизира биолошката варијабилност и да се избегне терапевтски конфаундер [135, 136].

Бидејќи FGF23 се покажа како чувствителен биомаркер поврзан со повеќе патофизиолошки оски — тубуло-интерстицијална дисфункција, микро- и макроваскуларни промени и нарушен коскено-минерален метаболизам — логично е да се разгледа дали неговото ниво може да биде модифицирано и преку клиничкиот третман. Анализата на врската меѓу FGF23 и применетата антидијабетична и на антихипертензивна терапија овозможува дополнителен увид во потенцијалните механизми и клиничката употребливост на овој биомаркер.

7.9 Асоцијација на FGF23 со третманот

Бидејќи располагавме со податоци за антидијабетичен и антихипертензивен третман кој пациентите го користеле континуирано најмалку три месеци пред вклучувањето, направивме дополнителни анализи за можната асоцијација меѓу FGF23

и применетата терапија, што овозможи да се испита дали некоја од овие терапевтски класи има потенцијално модулаторно влијание врз нивото на FGF23.

Во однос на антидијабетичната и антихипертензивната терапија, добиените резултати покажаа дека пациентите што примале метформин имале сигнификантно пониски вредности на FGF23 во споредба со тие што не биле на оваа терапија ($p=0.028$). Користењето на другите антидијабетици и антихипертензивни не покажа сигнификантна разлика во вредностите на FGF23.

Овој наод е во согласност со експерименталните и клиничките податоци за ефектите на овој лек. Метформин ја активира Adenosin Monophosphate – Activated Protein Kinase патеката – (AMPK), го подобрува клеточниот енергетски метаболизам и ја намалува потребата од компензациски хормонални одговори, меѓу кои и секрецијата на FGF23 [137]. Дополнително, неговите антиинфламаторни својства можат да ја намалат стимулацијата на FGF23, особено што воспалението е докажан стимул за неговото покачување – што е компатибилно и со нашите резултати, каде што FGF23 позитивно корелираше со CRP иако не постигна статистичка сигнификантност ($p=0,079$).

Подобрувањето на инсулинската сензитивност и намалувањето на инсулинската резистенција, исто така, може да ги редуцираат фосфатниот товар и тубуларната стимулација за продукција на FGF23 [86-138, 137].

Иако метформин, преку AMPK, теоретски може да ја намали продукцијата на FGF23, не најдовме директни интервенциски студии што го испитуваат неговиот ефект врз FGF23. Van der Vaart et al. 2021 експлицитно наведуваат дека досега нема студии што го испитуваат ефектот на метформинот врз FGF23, ниту во човечки ниту во анимални модели [81].

Сумирано, овие механизми и нашите наоди сугерираат дека метформинот може да има поволно влијание врз фосфатната хомеостаза кај пациенти со ДМТ2 и ран стадиум на ХББ, надвор од неговото основно антидијабетично дејство. И со тоа потенцијално да ја модифицира рано нарушената CKD-MBD оска преку стабилизирање на калциум-фосфор балансот и редукција на FGF23.

Доколку овие резултати се реплицираат во проспективни интервенциски студии, метформинот – како широко достапна, економична и рано воведувана терапија во третман на ДМТ2 и ХББ – би можел да се препознае како потенцијален модулатор на раните нарушувања на СКД-MBD оската. Ваквите сознанија имаат значајна импликација за рedefинирање на терапискиот пристап во оваа популација и ја нагласуваат потребата од понатамошни клинички истражувања.

Овие наоди отвораат прашање со суштинска клиничка важност — дали FGF23, како рано активиран и мултисистемски биомаркер, може да најде место во клиничката практика не само како индикатор на патофизиолошки промени, туку и како алатка за персонализирање на тераписките стратегии кај пациенти со ДМТ2 и рана ХББ.

Како логичен завршен чекор на оваа анализа, следува интегративната анализа на тоа како FGF23 се позиционира во поширокиот клинички биомаркерски панел и дали неговите мултилатерални асоцијации може да бидат искористени за подобра стратификација на ризик и за рана детекција на компликации.

7.10 Потенцијалот на FGF23 како дел од клинички релевантен панел

Иако FGF23 често се анализира како изолирана молекула, неговата клиничка вредност најдобро се разбира во контекст на пошироките биомаркерски промени кај ДМТ2 и рана ХББ [73].

Во ова истражување тој беше анализиран заедно со повеќе биомаркери што овозможи еден интегративен пристап кон проценката на компликациите кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ.

Сознанието дека FGF23 се покачува рано, пред појавата на хиперфосфатемијата и пред поизразени хормонални промени, ја нагласува неговата чувствителност како индикатор на суптилна дисрегулација на фосфатната хомеостаза [68].

Дополнително, повисоките вредности на FGF23 кај пациенти со ДМТ2 се поврзуваат со инсулинска резистенција, хронична инфламација, тубуло-

интерстициелни нарушувања и нарушена Клото сигнализација [139], што го позиционира FGF23 како биомаркер со мултисистемска рефлексција.

Во нашата кохорта, ова беше потврдено преку позитивна корелација на FGF23 со CRP, што дополнително ја поддржува улогата на воспалението како еден од раните активатори на FGF23. Ова е компатибилно и со регистрираната негативна корелација со еритроцити и хемоглобин во нашата кохорта, што упатува дека FGF23 може рано да учествува во развојот на анемија кај овие пациенти.

Во нашето испитување увидовме дека FGF23 нема значајна асоцираност со напреднатите стадиуми на оштетување и веќе дефинираните структурни промени. Тоа не значи дека кај пациентите со нормална вредност на FGF23 не се детектираат компликации, туку дека нивната детекција бара паралелно и структурирано следење со соодветни биомаркери показатели на органско оштетување.

Ова дополнително ја нагласува потребата FGF23 да се разгледува како дел од поширок биомаркерски модел, а не како единечен параметар. Комбинирањето на FGF23 со други маркери, потенцијално може да ја подобри раната идентификација на ризик кај пациенти со ДМТ2 и ХББ, особено кога ќе се земат предвид неговите рани врски со воспаление, анемија и потенцијално модифицирање преку метформин, што го прави корисен во интегриран панел наместо како изолиран параметар.

7.11 Интегративна синтеза на наодите

Синтетички разгледано, добиените резултати ја потврдуваат комплексната и меѓусебно зависна патофизиологија кај пациентите со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ, во која нарушувањето на тубуло-интерстициелна функција, фосфатна хомеостаза, хормонална регулација и на васкуларните процеси се испреплетуваат многу порано отколку што тоа можат да го детектираат класичните биохемиски или морфолошки маркери.

FGF23 се покажа како најран биолошки сигнал кој ги рефлектира субклиничката тубуларна дисфункција и фосфатниот товар, со јасна предност над традиционалните маркери како eGFR, микроалбуминуријата или серумскиот фосфор.

Дополнително, неговите асоцијации со РТН, фосфорот и креатининот ја потврдуваат централната улога на FGF23 во оската FGF23-РТН-дитамина Д-Клото, која се активира пред структурните промени на коскениот и васкуларниот ткиво.

Фактот дека FGF23 беше силно поврзан со дијабетичната нефропатија, но не и со ретинопатијата или макроваскуларните промени, ја рефлектира различната хроно-биологија и прагот на ткивната ранливост на различните органски системи: нефроните реагираат рано и хормонално, додека васкуларните и ретиналните промени стануваат видливи дури во подоцнежните структурни фази.

Иако не беше главен фокус на анализата, се забележа тренд на пониски вредности на FGF23 кај пациенти што примаа метформин, што е во согласност со податоците дека активацијата на AMPK и подобрувањето на метаболната ефикасност може индиректно да влијаат вр фосфатниот метаболизам и оската FGF23-РТН.

Ова укажува дека FGF23 е биомаркер кој најпрецизно го детектира почетокот на кардиореналните и минерално-метаболичните нарушувања, додека неговата улога како маркер на веќе изразена органска болест е ограничена. Ваквата динамика го позиционира FGF23 како критична компонента на интегриран биомаркерски панел, со потенцијал да ја подобри стратификацијата на ризикот, навремено да сигнализира прогресија и да ја информира клиничката одлука уште во фаза кога другите параметри остануваат во референтните граници.

7.12 Силни страни на истражувањето

Ова истражување има повеќе методолошки и клинички предности, кои ја зајакнуваат неговата валидност и релевантност:

- Станува збор за прво систематско истражување во Република С. Македонија што ја оценува улогата на FGF23 кај пациенти со ДМТ2 во ран стадиум на ХББ, со што се надминува значајна празнина во регионалната литература;
- Примерокот беше внимателно дизајниран со тесен опсег на eGFR 45-70 мл/мин/1,73м², што овозможи чувствителна детекција на суптилните патофизиолошки промени присутни во раната фаза на ХББ;
- Истражувањето опфати широк биомаркерски спектар, вклучувајќи ренални, метаболни, воспалителни, хормонални и коскено-минерални параметри, што овозможи интегративен пристап во проценката на FGF23;
 - Откриената позитивна корелација меѓу FGF23 и CRP го зајакнува моделот на хронично воспаление како важен механизам во рана активација на FGF23, што претставува уште една методолошка предност на оваа студија;
 - Метформинот е ретко истражувана асоцијација, што на нашето испитување му дава дополнителна силна страна, поради идентификацијата на значајно пониски вредности на FGF23 кај пациенти третирани со метформин. Ова претставува ретко анализирана и клинички релевантна асоцијација со потенцијални терапевтски импликации;
 - Утврдувањето значајна негативна корелација на FGF23 со хемоглобин и еритроцити го проширува познавањето за неговата улога во еритропоезата;
 - Беа применети стандардизирани методи за процена на васкуларните компликации, што претставува значителна методолошка предност. Со ова се овозможи интегрална процена на васкуларното корито;
 - Пациентите беа од стандардната клиничка пракса, без вештачки селекции (пушачки статус, BMI, хипертензија, степен на гликорегулација), што ја прави кохортата репрезентативна за типичниот пациент со ДМТ2 и рана ХББ;
 - Исклучувањето на пациенти третирани со DPP-4 инхибитори, чии ефекти врз FGF23 се добро докуметирани, ја минимизираше методолошката конфузија и придонесе за почисто биолошко мерење на вистинската хомеостатска регулација на FGF23;

- Употребата на мултиваријантни аналитички модели, со приспособување за повеќе класични и нови ризик-фактори овозможи оценување на независната асоцијација на FGF23 со клиничките и лабораториските параметри. Ваквиот статистички пристап со високо дискриминаторската ROC анализа ја зајакнува валидноста на добиените резултати.

7.13 Ограничувања на истражувањето

Постојат и одредени ограничувања што треба да се земат предвид при интерпретацијата на резултатите:

- Студијата е пресечна, што не дозволува каузална интерпретација, ниту процена на прогресивни промени во FGF23 со текот на времето;
- Иако примерокот е клинички релевантен, бројот на пациенти ја ограничува можноста за детекција на посуптилни разлики и анализа во подгрупи;
- Не беа достапни податоци за неколку важни модулатори на FGF23, како: внес на фосфат (особено преку процесирана храна), физичка активност и функционален статус, стеатозна болест на црниот дроб, гликемиска варијабилност и долгорочен гликемиски товар. Сето ова може да има влијание врз минералната хомеостаза и FGF23;
- Студијата не ги опфати напредните параметри на коскена микроархитектура, како trabecular bone score или високорезолуциски периферен КТ, кои можат да го надополнат DEXA при рано откривање на CKD-MBD. Исто така, не беше измерена Клото, што претставува важен корегулатор на FGF23 и значајна врска во оската FGF23-PTH-витамин Д;
- Бидејќи пациентите се во рана фаза на ХББ, можеби постои метаболно плато, каде што структурните промени на коските и васкуларните сидови сè уште не се доволно изразени за да корелираат со FGF23, што може да ја ограничи неговата структурна асоцијативна вредност во оваа фаза на болеста.

8. ЗАКЛУЧОК

- FGF23 ги детектира раните патофизиолошки нарушувања кај пациенти со ДМТ2 уште во раните стадиуми на ХББ со исклучителна дијагностичка точност и висока дискриминаторска способност потврдени со ROC-анализа..
- FGF23 беше силно негативно асоциран со eGFR, поизразено кај пациентите со дијабетична нефропатија. Неговата сигнификантна негативна корелација со хемоглобинот во раните стадиуми на ХББ се одржа и по направеното приспособување за eGFR, што укажува на висока сензитивност на FGF23 како ран биомаркер поврзан со хематолошките промени што не се детектибилни со стандардните лабораториски методи.
- FGF23 покажа сигнификантна поврзаност со тубуло-интерстициелните, минерално-метаболичните и воспалителните нарушувања, што се потврдува со неговата позитивна корелација со креатининот, липидите, фосфорот, PTH и CRP, како и сигнификантно пониските вредности кај пациентите третирани со метформин.
- Отсуството на значајна врска меѓу FGF23 и структурните васкуларни и коскени промени укажува дека овој маркер има претежно предиктивна и ризик-стратификациска важност, а не дијагностичка функција.
- FGF23 и терапевтската асоцираност со метформин укажува на можен модулаторен ефект врз фосфатната хомеостаза и CKD-MBD оската, што отвора перспектива за нови терапевтски стратегии.
- Ова истражување ја поставува основата за потенцијално вклучување на FGF23 во рутинските скрининг алгоритми кај пациентите со ДМТ2 и рана ХББ, а идните студии треба да го потврдат неговиот прогностички потенцијал преку долгорочни и интервенциски модели.

9. КОРИСТЕНА ЛИТЕРАТУРА

1. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*, 10th ed. Brussels: International Diabetes Federation; 2023. Available from: <https://diabetesatlas.org> – Accessed 05 Sept 2025
2. World Health Organization. *Diabetes Fact Sheet* [Internet]. Geneva: WHO; 2024 Apr [cited 2025 Nov 03]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> Accessed 05 Sept 2025
3. American Diabetes Association. Standards of Care in Diabetes—2025.* Diabetes Care. 2025;48(Suppl 1):S207-S219. DOI:10.2337/dc25-S010. Available from: https://diabetesjournals.org/care/article/48/Supplement_1/S207/157549/10-Cardiovascular-Disease-and-Risk-Management
4. Centers for Disease Control and Prevention. Diabetes and Your Heart [Internet]. Atlanta (GA): CDC; 2024 May 15 [cited 2025 Sept 03].
5. Geiss LS, James C, Moonesinghe R, Engelgau. Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. Curr Diab Rep. 2013;13(6):814-823.
6. Li Z., He R., Wang Y., Qu Z, Liu J, Yu R et al. Global trends of chronic kidney disease from 1990 to 2021: a systematic analysis for the global burden of disease study 2021. BMC Nephrol 26, 385 (2025). doi.org/10.1186/s12882-025-04309-7
7. Hoogeveen, E.K. The Epidemiology of Diabetic Kidney Disease. Kidney Dial. 2022;2:433-442. doi.org/10.3390/kidneydial2030038
8. van der Velde M, Matsushita K, Coresh J, Astor BC, Woodward M, Levey AS, et al. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality: a collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. Kidney Int. 2011;79: 1341-1352
9. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic Kidney Disease. Lancet. 2017 Mar 25;389(10075):1238-1252
10. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2024 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. Kidney Int. 2024 Apr;105(4S):S117-S314. doi: 10.1016/j.kint.2023.10.018. PMID: 38490803.
11. Li Y., Liu, Y., Liu, S. Gao M, Wang W, Chen K, et al. Diabetic vascular diseases: molecular mechanisms and therapeutic strategies. Sig Transduct Target Ther 8, 152 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01400-z>
12. Rout P, Jialal I. Diabetic Nephropathy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–. PMID: 30480939.

13. American Diabetes Association. Diabetic Retinopathy: A Position Statement. *Diabetes Care*. 2017;40(3):412–418. doi:10.2337/dc16-2641.
14. Sivaprasad S, Gupta B, Crosby-Nwaobi R, Evans J, Chakrabarti S, et al. Diabetic retinopathy: Screening, prevention, and treatment. *Cleve Clin J Med*. 2024;91(8):503-512. doi:10.3949/ccjm.91a.24028.
15. Sivaprasad S, Gupta B, Crosby-Nwaobi R, Evans J. Prevalence of diabetic retinopathy in various ethnic groups: a worldwide perspective. *Surv Ophthalmol*. 2012;57(4):347-370. doi:10.1016/j.survophthal.2012.01.004.
16. Teo ZL, Tham YC, Yu M, Chee ML, Rim TH, Cheung N, et al. Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*. 2021 Nov;128(11):1580-1591. doi: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027.
17. Grunwald JE, Ying GS, Maguire M, Pistilli M, Daniel E, Alexander J, et al. Association between retinopathy and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease (from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study) *Am J Cardiol*. 2012;110(2):246–253. Doi:10.1016/j.amjcard.2012.03.014
18. Hahr AJ, Molitch ME. Diabetes, cardiovascular risk and nephropathy. *Cardiol Clin*. 2010;28(3):467–475.
19. Cardoso CRL, Marques CEC, Leite NC, Salles GF. Prognostic impact of carotid intima-media thickness and carotid plaques on cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetic patients: a longitudinal cohort study. *Cardiovasc Diabetol*. 2019;18:52. DOI: 10.1186/s12933-019-0809-1
20. Santoro, L., Ferraro, P., Flex, A. Nesci A, de Matteis G, Di Giorgio A, et al. New semiquantitative ultrasonographic score for peripheral arterial disease assessment and its association with cardiovascular risk factors. *Hypertens Res* 2016;39:868–873
21. Nicolaides, Andrew N, Griffin, Maura B. The contribution of arterial ultrasound scanning to atherosclerotic cardiovascular risk stratification: Short review. *Vasc Investig Ther* 2023;6(2):25-29 DOI: 10.4103/2589-9686.379842
22. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;3(7):514–525.
23. Writing Committee to Develop Clinical Data Standards for Peripheral Atherosclerotic Vascular Disease, Creager MA, Belkin M, et al 2012 ACCF/AHA/ACR/SCAI/SIR/STS/SVM/SVN/SVS key data elements and definitions for peripheral atherosclerotic vascular disease: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Clinical Data Standards *Circulation*. 2012; 125:395–467.

24. G Buso , VAboyans, L Mazzolai, Brodman M, Espinola-Klein C, sillesen H, et al. Lower extremity artery disease in patients with type 2 diabetes, *Eur J Prev Cardiol* 2019;26(2S) 114–124
25. Nativel M, Potier L, Alexandre L, Baillet-Blanco L, Ducasse E, Velho G, et al. Lower extremity arterial disease in patients with diabetes: a contemporary narrative review, . *Cardiovasc Diabetol* (2018) 17:138
26. Jude EB, Eleftheriadou I, Tentolouris N. Peripheral arterial disease in diabetes—a review. *Diabet Med*. 2010; 27:4–14.
27. Prompers L, Huijberts M, Apelqvist J, Jude E, piaggese A, Bakker K, et al. High prevalence of ischaemia, infection and serious comorbidity in patients with diabetic foot disease in Europe. Baseline results from the Eurodiale study. *Diabetologia* 2007; 50: 18–25.
28. American Institute of Ultrasound in Medicine (AIUM), American College of Radiology (ACR), Society of Radiologists in Ultrasound (SRU). AIUM practice guideline for the performance of peripheral arterial ultrasound examinations using color and spectral doppler imaging. *J Ultrasound Med*. 2014; 33:1111–21.
29. Santoro L, Flex A, Nesci A, Ferraro PM, De Matteis G, Di Giorgio A, et al. Association between peripheral arterial disease and cardiovascular risk factors: role of ultrasonography versus ankle–brachial index. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(10I):3160–3165.
30. Kajitani N, Uchida HA, Sumiyoshi K, Kitamura K, Nakanishi T, Nakamura T et al. Chronic kidney disease is associated with carotid atherosclerosis and symptomatic ischaemic stroke, *J Int Med Res* 2018, Vol. 46(9) 3873–3883
31. Lawal OM , Balogun MO, Adebao PB, Akintomide AO, Adeboye MA, Abiodun OO, et al, Carotid Intima-Media Thickness: A Surrogate Marker for Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease Patients, *SAGE journals* 2019, *Clin Med Insights: Cardiol*. Volume 13: 1–9,
32. Sanches CP, Vianna AGD, Barreto FC. The impact of type 2 diabetes on bone metabolism. *Diabetol Metab Syndr*. 2017;9:85. doi: 10.1186/s13098-017-0278-1.
33. De Liefde II, Van der Klift M, De Laet CEDH, Van Daele PLA, Hofman A, Pols HAP. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the rotterdam study. *Osteoporos Int*. 2005; 16:1713–20.
34. Oei L, Zillikens MC, Dehghan A, Buitendijk GH, Castano-Betancourt MC, Estrada K, et al. High bone mineral density and fracture risk in type 2 diabetes as skeletal complications of inadequate glucose control. The Rotterdam study. *Diabetes Care*. 2013; 36:1619–28
35. Sanches CP, Vianna AGD, Barreto FC The impact of type 2 diabetes on bone metabolism, *Diabetol Metab Syndr* (2017) 9:85

36. Massy Z, Drueke T. Adynamic bone disease is a predominant bone pattern in early stages of chronic kidney disease. *J Nephrol.* 2017 Oct;30(5):629-634. doi: 10.1007/s40620-017-0397-7.
37. Khairallah P and Nickolas TL, Management of Osteoporosis in CKD, *Clin J Am Soc Nephrol* 13: 962–969, 2018.
38. Ketteler M, Block GA, Evenepoel P, Fukagawa M, Herzog CA, McCann L, et al. Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney Int.* 2017 Jul;92(1):26-36. doi: 10.1016/j.kint.2017.04.006.
39. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA.* 2001 Feb 14;285(6):785-95. doi: 10.1001/jama.285.6.785. PMID: 11176917.
40. U.S. Renal Data System (USRDS), “Chronic kidney disease in the adult NHANES population,” USRDS Annual Report Data, 2009,
41. John GB, Cheng CY, Kuro-o M. Role of Klotho in aging, phosphate metabolism, and CKD. *Am J Kidney Dis.* 2011 Jul;58(1):127-34. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.12.027.
42. Cases A, Broseta JJ, Marqués M, Cigarrán S, Julián JC, Alcázar R, et al.. Cardiovascular-kidney-metabolic syndrome definition and its role in the prevention, risk staging, and treatment. An opportunity for the Nephrology. *Nefrologia (Engl Ed).* 2024 Nov-Dec;44(6):771-783. doi: 10.1016/j.nefro.2024.11.011.
43. Ndumele CE, Neeland IJ, Tuttle KR, Chow SL, Mathew RO, Khan SS, et al. A Synopsis of the Evidence for the Science and Clinical Management of Cardiovascular-Kidney-Metabolic (CKM) Syndrome: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation.* 2023 Nov 14;148(20):1636-1664. doi: 10.1161/CIR.0000000000001186.
44. Murata K, Baumann NA, Saenger AK, Larson TS, Rule AD, Lieske JC. Relative performance of the MDRD and CKD-EPI equations for estimating glomerular filtration rate among patients with varied clinical presentations. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011 Aug;6(8):1963-72. doi: 10.2215/CJN.02300311.
45. Dwyer JP, Parving HH, Hunsicker LG, Ravid M, Remuzzi G, Lewis JB. Renal Dysfunction in the Presence of Normoalbuminuria in Type 2 Diabetes: Results from the DEMAND Study. *Cardiorenal Med.* 2012 Feb;2(1):1-10. doi: 10.1159/000333249.
46. Al-Rubeaan, K., Siddiqui, K., Al-Ghonaim, M.A. Al-Sharquawi A, Al-Hussein K, Khan F. et al. Assessment of the diagnostic value of different biomarkers in relation to various stages of diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients. *Sci Rep* 7, 2684 (2017).doi.org/10.1038/s41598-017-02421-9

47. An JH, Cho YM, Yu HG, Jang HC, Park KS, Kim SY, et al.. The Clinical Characteristics of Normoalbuminuric Renal Insufficiency in Korean Type 2 Diabetic Patients: A Possible Early Stage Renal Complication. *J Korean Med Sci.* 2009 Jan;24(Suppl 1):S75-S81.doi.org/10.3346/jkms.2009.24.S1.S75
48. De CosmoS, Viazzi, F. Pacilli AM, GiordaC, Gentile S et al. Predictors of chronic kidney disease in type 2 diabetes: A longitudinal study from the AMD Annals initiative. *Medicine Baltimore* 95(27):p e4007, July 2016. | DOI: 10.1097/MD.0000000000004007
49. Erben RG. Physiological Actions of Fibroblast Growth Factor-23. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 May 28;9:267. doi: 10.3389/fendo.2018.00267.
50. Quarles LD. Role of FGF23 in vitamin D and phosphate metabolism: implications in chronic kidney disease. *Exp Cell Res.* 2012 May 15;318(9):1040-8. doi: 10.1016/j.yexcr.2012.02.027.
51. Rausch, S., Föller, M. The regulation of FGF23 under physiological and pathophysiological conditions. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 474, 281–292 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00424-022-02668-w>
52. Nishida Y, Taketani Y, Yamanaka-Okumura H, Imamura F, Taniguchi A, Sato T, et al. Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men. *Kidney Int.* 2006 Dec;70(12):2141-7. doi: 10.1038/sj.ki.5002000.
53. Gerber, J.S., Arroyo, E.M.P., Pastor, J. Yamada S, Muller D, Wagner CA, et al. Controlled dietary phosphate loading in healthy young men elevates plasma phosphate and FGF23 levels. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 477, 495–508 (2025). <https://doi.org/10.1007/s00424-024-03046-4>
54. Antoniucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Aug;91(8):3144-9. doi: 10.1210/jc.2006-0021.
55. Russo D, Battaglia Y. Clinical Significance of FGF-23 in Patients with CKD. *Int J Nephrol.* 2011;2011:364890. doi: 10.4061/2011/364890.
56. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res.* 2004 Mar;19(3):429-35. doi: 10.1359/JBMR.0301264.
57. Guo YC, Yuan Q. Fibroblast growth factor 23 and bone mineralisation. *Int J Oral Sci.* 2015 Mar 23;7(1):8-13. doi: 10.1038/ijos.2015.1.
58. Martínez-Heredia L, Canelo-Moreno JM, García-Fontana B, Muñoz-Torres M. Non-Classical Effects of FGF23: Molecular and Clinical Features. *Int J Mol Sci.* 2024 Apr 30;25(9):4875. doi: 10.3390/ijms25094875.

59. Shalhoub V, Shatzem EM, Ward SC, Davis J, Stevens J, Bi V, et al: Fgf23 neutralization improves chronic kidney disease- associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J Clin Inv* 2012; 122:2543-2553.
60. Fukumoto S. Anti-fibroblast growth factor 23 antibody therapy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014 Jul;23(4):346-51. doi: 10.1097/01.mnh.0000447012.98357.da.
61. Smith ER, Cai MM, McMahon LP, Holt SG. Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012 Sep;97(9):3357-65. doi: 10.1210/jc.2012-1811. Epub 2012 Jun 11. PMID: 22689697. 143...
62. Szczykowska-Miller J, Hryszko T, Koc-Żórawska E, Naumnik B. iFGF23:cFGF23 Ratio Is a Questionable Diagnostic Marker for Distinguishing Between Acute and Chronic Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2025 Aug 18;26(16):7952. doi: 10.3390/ijms26167952.
63. Brescia V, Fontana A, Lovero R, Capobianco C, Marsico SV, De Chirico T, et al., Determination of iFGF23 Upper Reference Limits (URL) in healthy pediatric population, for its better correct use. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Nov 9;13:1018523. doi: 10.3389/fendo.2022.1018523.
64. Fang YW, Wang JT, Lin TY, Lee CJ, Jang TN, Tsai MH, et al. High intact fibroblast growth factor 23 levels associated with low hemoglobin levels in patients on chronic hemodialysis. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Apr 4;10:1098871. doi: 10.3389/fmed.2023.1098871.
65. Hu MC, Shiizaki K, Kuro-o M, Moe OW. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:503-33. doi: 10.1146/annurev-physiol-030212-183727.
66. Hanudel MR, Laster M, Salusky IB. Non-renal-Related Mechanisms of FGF23 Pathophysiology. *Curr Osteoporos Rep*. 2018 Dec;16(6):724-729. doi: 10.1007/s11914-018-0492-2.
67. Babitt JL, Sitara D. Crosstalk between fibroblast growth factor 23, iron, erythropoietin, and inflammation in kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2019 Jul;28(4):304-310. doi: 10.1097/MNH.0000000000000514.
68. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Scialla J, Xie H, et al.. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011 Jun;79(12):1370-8. doi: 10.1038/ki.2011.47.
69. Diniz H, Frazão JM. The role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *Nefrologia*. 2013 Nov 13;33(6):835-44. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2013.Jul.12091.

70. Graciolli FG, Neves KR, Barreto F, Barreto DV, Dos Reis LM, Canziani ME, et al. The complexity of chronic kidney disease-mineral and bone disorder across stages of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2017 Jun;91(6):1436-1446. doi: 10.1016/j.kint.2016.12.029.
71. Sharma S, Katz R, Ginsberg C, Bullen A, Vallon V, Thomson S, et al. Renal Clearance of Fibroblast Growth Factor-23 (FGF23) and its Fragments in Humans. *J Bone Miner Res.* 2022 Jun;37(6):1170-1178. doi: 10.1002/jbmr.4553.
72. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Juppner H, Jonsson KB, et al. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int* 2003; 64: 2272–2279.
73. Gutiérrez OM, Shlipak MG, Katz R, Waikar SS, Greenberg JH, Schrauben SJ, et al. Associations of Plasma Biomarkers of Inflammation, Fibrosis, and Kidney Tubular Injury With Progression of Diabetic Kidney Disease: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis.* 2022 Jun;79(6):849-857.e1. doi: 10.1053/j.ajkd.2021.09.018. E
74. Isakova T, Xie H, Yang W, Xie D, Anderson AH, Scialla J, et al. Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study Group. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA.* 2011 Jun 15;305(23):2432-9. doi: 10.1001/jama.2011.826.
75. Isakova T, Xie H, Yang W, Anderson AH, Scialla J et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Risks of Mortality and End-Stage Renal Disease in Patients With Chronic Kidney Disease. *JAMA.* 2011;305(23):2432–2439. doi:10.1001/jama.2011.826
76. Xue C, Yang B, Zhou C, Dai B, Liu Y, Mao Z, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Predicts All-Cause Mortality in a Dose-Response Fashion in Pre-Dialysis Patients with Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol.* 2017;45(2):149-159. doi: 10.1159/000454959.
77. Wolf M. Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012 Oct;82(7):737-47. doi: 10.1038/ki.2012.176.
78. Mirza MA, Larsson A, Lind L, Larsson TE. Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis.* 2009 Aug;205(2):385-90. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.001.
79. Batra J, Buttar RS, Kaur P, Kreimerman J, Melamed ML. FGF-23 and cardiovascular disease: review of literature. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2016 Dec;23(6):423-429. doi: 10.1097/MED.0000000000000294.
80. Yadav R, et al. Exploring the interplay between kidney dysfunction and cardiovascular disease: mechanisms of vascular calcification and mineral metabolism dysregulation. *Diseases (Basel).* 2025;13(2):80. doi:10.3390/diseases13020080

81. van der Vaart A, Yeung SMH, van Dijk PR, Bakker SJL, de Borst MH. Phosphate and fibroblast growth factor 23 in diabetes. *Clin Sci (Lond)*. 2021 Jul 30;135(14):1669-1687. doi: 10.1042/CS20201290.
82. Tanaka H, Hamano T, Fujii N, Tomida K, Matsui I, Mikami S, et al. The impact of diabetes mellitus on vitamin D metabolism in predialysis patients. *Bone*. 2009; 45:949–55.
83. Natsuki Y, Morioka T, Kakutani Y, Yamazaki Y, Ochi A, Kurajoh M, et al. Serum Fibroblast Growth Factor 23 Levels are Associated with Vascular Smooth Muscle Dysfunction in Type 2 Diabetes. *J Atheroscler Thromb*. 2023 Dec 1;30(12):1838-1848. doi: 10.5551/jat.64000.
84. Ursem SR, Vervloet MG, Büttler RM, Ackermans MT, Oosterwerff MM, Eekhoff EMV, et al. The interrelation between FGF23 and glucose metabolism in humans. *J Diabetes Complicat*. 2018; 32:845–50
85. Gateva A, Assyov Y, Tsakova A, Kamenov Z. Prediabetes is Characterized by Higher FGF23 Levels and Higher Prevalence of Vitamin D Deficiency Compared to Normal Glucose Tolerance Subjects. *Horm Metab Res*. 2019 Feb;51(2):106-111. doi: 10.1055/a-0813-3164. E
86. Izaguirre M, Gil MJ, Monreal I, Montecucco F, Frühbeck G, Catalán V. The Role and Potential Therapeutic Implications of the Fibroblast Growth Factors in Energy Balance and Type 2 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2017 Jun;17(6):43. doi: 10.1007/s11892-017-0866-3.
87. Ferro, E, Michos, E, Bhatt DL, Cannon CP, Creager MA, Leiter LA, et al. New Decade, New FDA Guidance for Diabetes Drug Development: Lessons Learned and Future Directions. *JACC*. 2020 Nov, 76 (21) 2522–2526.
88. Lutsey PL, Alonso A, Selvin E, Pankow JS, Michos ED, Agarwal SK, et al. Fibroblast growth factor-23 and incident coronary heart disease, heart failure, and cardiovascular mortality: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *J Am Heart Assoc*. 2014 Jun 10;3(3):e000936. doi: 10.1161/JAHA.114.000936.
89. Lutsey PL, Selvin E, Michos ED, Rebholz CM, Pankow JS, Hoogeveen RC, et al. Fibroblast growth factor-23 and incident coronary heart disease, heart failure, and cardiovascular mortality: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *ARIC J Am Heart Assoc*. 2014;3(5):e000936. doi:10.1161/JAHA.114.000936.
90. Lekawanvijit S. Cardiotoxicity of Uremic Toxins: A Driver of Cardiorenal Syndrome. *Toxins (Basel)*. 2018 Sep 1;10(9):352. doi: 10.3390/toxins10090352.
91. Maarten A De Jong, Michele F Eisenga, Adriana J van Ballegooijen, Joline W J Beulens, Marc G Vervloet, Gerjan Navis, et al. Fibroblast growth factor 23 and new-onset chronic kidney disease in the general population: the Prevention of Renal and Vascular Endstage Disease (PREVEND) study, *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 36, Issue 1, January 2021, Pages 121–128, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfz266>

92. Stanley M.H. Yeung, S. Heleen Binnenmars, Christina M. Gant, Gerjan Navis, Ron T. Gansevoort, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Mortality in Patients With Type 2 Diabetes and Normal or Mildly Impaired Kidney Function. *Diabetes Care* 1 November 2019; 42 (11): 2151–2153.
93. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977-86.
94. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, et al. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*. 2000 Aug 12;321(7258):405-12. doi: 10.1136/bmj.321.7258.405.
95. Torguet-Escuder P, Guasch-Aragay B, Calabia-Martínez J, Martín-Alemany N, García-Méndez I, Maté-Benito G, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF 23) and phosphocalcic metabolism in chronic kidney disease. *Nefrologia*. 2012;32(5):647-54. English, Spanish. doi: 10.3265/Nefrologia.pre2012.May.11180.
96. Afkarian M, Sachs MC, Kestenbaum B, Hirsch IB, Tuttle KR, Himmelfarb J, et al. Kidney disease and increased mortality risk in type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Feb;24(2):302-8. doi: 10.1681/ASN.2012070718.
97. Writing Group for the CKD Prognosis Consortium. Estimated Glomerular Filtration Rate, Albuminuria, and Adverse Outcomes: An Individual-Participant Data Meta-Analysis. *JAMA*. 2023;330(13):1266–1277. doi:10.1001/jama.2023.17002
98. Liu H, Feng J, Tang L. Early renal structural changes and potential biomarkers in diabetic nephropathy. *Front Physiol*. 2022 Nov 8;13:1020443. doi: 10.3389/fphys.2022.1020443.
99. Marthi A, Donovan K, Haynes R, Wheeler DC, Baigent C, Rooney CM, et al. Fibroblast Growth Factor-23 and Risks of Cardiovascular and Noncardiovascular Diseases: A Meta-Analysis. *J Am Soc Nephrol*. 2018 Jul;29(7):2015-2027. doi: 10.1681/ASN.2017121334.
100. Ix JH, Katz R, Kestenbaum BR, de Boer IH, Chonchol M, Mukamal KJ, et al. Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol*. 2012 Jul 17;60(3):200-7. doi: 10.1016/j.jacc.2012.03.040.
101. Dohuim, A.H.E., Ghazy, M.A.E.M., Nosair, N.A.A. Abdelhamid RS, El-Sayed AM, Mahnoud HA et al. Correlation linking fibroblast growth factor 23 in circulation (FGF-23) and serum aldosterone levels in different stages of chronic kidney disease. *Egypt J Intern Med* 37, 46 (2025). <https://doi.org/10.1186/s43162-025-00435-8>
102. Rout P, Jialal I. Diabetic Nephropathy. 2025 Jan 9. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan–.

103. Grunwald JE, Ying GS, Maguire M, Pistilli M, Daniel E, Alexander J, et al. Association between retinopathy and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease (from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study) *Am J Cardiol.* 2012;110(2):246–253.
104. Courbon G, Thomas JJ, Martinez-Calle M, Wang X, Spindler J, Von Drasek J, et al. Bone-derived C-terminal FGF23 cleaved peptides increase iron availability in acute inflammation. *Blood.* 2023 Jul 6;142(1):106-118. doi: 10.1182/blood.2022018475.
105. van Vuren AJ, Gaillard CAJM, Eisenga MF, van Wijk R, van Beers EJ. The EPO-FGF23 Signaling Pathway in Erythroid Progenitor Cells: Opening a New Area of Research. *Front Physiol.* 2019 Mar 26;10:304. doi: 10.3389/fphys.2019.00304.
106. Rask-Madsen C, King GL. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors. *Cell Metab.* 2013 Jan 8;17(1):20-33.doi:10.1016/j.cmet.2012.11.012.
107. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. *Lancet.* 2010 Jul 10;376(9735):124-36. doi: 10.1016/S0140-6736(09)62124-3.
108. Vithian K, Hurel S. Microvascular complications: pathophysiology and management. *Clin Med (Lond).* 2010 Oct;10(5):505-9. doi: 10.7861/clinmedicine.10-5-505.
109. Liu D, Yu S, Zhang Y, Li Q, Kang P, Wang L, et al. Fibroblast growth factor 23 predicts incident diabetic kidney disease: A 4.6-year prospective study. *Diabetes Obes Metab.* 2025 Apr;27(4):2232-2241. doi: 10.1111/dom.16224.
110. Zhao X, Huo L, Yu X, Zhang X. Association of Bone Metabolism Indices and Bone Mineral Density with Diabetic Retinopathy in Elderly Patients with Type 2 Diabetes Mellitus: A Cross-Sectional Inpatient Study in China. *J Diabetes Res.* 2021 Jan 12;2021:8853622. doi: 10.1155/2021/8853622.
111. Mehta R, Ying GS, Houston S, Isakova T, Nessel L, Ojo A, et al. Phosphate, fibroblast growth factor 23 and retinopathy in chronic kidney disease: the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *Nephrol Dial Transplant.* 2015 Sep;30(9):1534-41. doi: 10.1093/ndt/gfv123.
112. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015;3(7):514–525.
113. Peige Song, Diana Rudan, Yajie Zhu, Freya J I Fowkes, Kazem Rahimi, F Gerald R Fowkes, et al. Global, regional, and national prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2015: an updated systematic review and analysis. *Lancet Glob Health* 2019;7:a 1020-30.

114. Bronner F, Canfield A. Calcium and Phosphate Homeostasis. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, eds. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. 2016 Aug 21 [cited 2025 Nov 03]
115. Levi M, O'Neill WC. Kidney and calcium homeostasis. *Kidney Int Suppl.* 2014;4(1):14-20. doi:10.1038/kisup.2014.8.
117. Calcium and Phosphate Disorders: Core Curriculum 2024. *Am J Kidney Dis.* 2024;84(2):289-305. doi:10.1053/j.ajkd.2023.11.011.
118. Kuro-o M. Klotho and phosphate homeostasis in chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2013;22(4):345-51. doi:10.1097/MNH.0b013e328361c9a0.
- 119 - Jain, D.; Prasad, A.; Shahi, H.; Wadhera, N.; Goel, A.; Sethi, Y. Et al. The HEART-FGF Study: Cardiovascular Remodeling and Risk Stratification by FGF-23 in Patients with CKD: An Integrative Cross-Sectional Study of Cardiac, Renal, and Mineral Parameters. *J. Vasc. Dis.* 2025, 4, 39. <https://doi.org/10.3390/jvd4040039>
120. Dhingra R, Sullivan LM, Fox CS, Wang TJ, D'Agostino RB, Sr., Gaziano JM, Vasan RS: Relations of serum phosphorus and calcium levels to the incidence of cardiovascular disease in the community. *Arch Intern Med* 167: 879–885, 2007
121. Kestenbaum B, Sachs MC, Hoofnagle AN, Siscovick DS, Ix JH, Robinson-Cohen C, et al. Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular disease in the general population: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circ Heart Fail.* 2014 May;7(3):409-17. doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.113.000952.
122. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Sattar N, Eliasson B, Svensson AM, et al. Risk Factors, Mortality, and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2018 Aug 16;379(7):633-644. doi: 10.1056/NEJMoa1800256.
123. Cardoso CRL, Marques CEC, Leite NC, Salles GF. Prognostic impact of carotid intima-media thickness and carotid plaques on cardiovascular and renal outcomes in type 2 diabetic patients: a longitudinal cohort study. *Cardiovasc Diabetol.* 2019;18:52. DOI: 10.1186/s12933-019-0809-1
124. Santoro, L., Ferraro, P., Flex, A. Di Giorgio A, Morosetti R. et al. New semiquantitative ultrasonographic score for peripheral arterial disease assessment and its association with cardiovascular risk factors. *Hypertens Res* 39, 868–873 (2016)
125. Nicolaides, AN. Griffin, MB. The contribution of arterial ultrasound scanning to atherosclerotic cardiovascular risk stratification: Short review. *Vascular Investigation and Therapy* 6(2):p 25-29, Apr–Jun 2023. | DOI: 10.4103/2589-9686.379842
126. Garimella PS, Ix JH, Katz R, Chonchol MB, Kestenbaum BR, de Boer IH, et al. Fibroblast growth factor 23, the ankle-brachial index, and incident peripheral artery disease in the

Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis*. 2014 Mar;233(1):91-6. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.015.

127. Kaya B, Seyrek N, Paydas S, Karayaylali İ, Balal M, Aikimbaev K. Serum fibroblast growth factor 23 levels do not correlate with carotid intima-media thickness in patients with chronic kidney disease. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2019 Sep-Oct;30(5):1010-1021. doi: 10.4103/1319-2442.270255.

128. Sirikul W, Siri-Angkul N, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Fibroblast Growth Factor 23 and Osteoporosis: Evidence from Bench to Bedside. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 24;23(5):2500. doi: 10.3390/ijms23052500.

129. Isakova T, Cai X, Lee J, Katz R, Cauley JA, Fried LF, et al. Health ABC Study. Associations of FGF23 With Change in Bone Mineral Density and Fracture Risk in Older Individuals. *J Bone Miner Res*. 2016 Apr;31(4):742-8. doi: 10.1002/jbmr.2750.

130. Kužmová Z, Kužma M, Gažová A, Kovářová M, Jackuliak P, Killinger Z, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Klotho Are Associated With Trabecular Bone Score but Not Bone Mineral Density in the Early Stages of Chronic Kidney Disease: Results of the Cross-Sectional Study. *Physiol Res*. 2021 Nov 30;70(Suppl 1):S43-S51.

131. Ribeiro AL, Mendes F, Carias E, Rato F, Santos N, Neves PL, et al. FGF23-klotho axis as predictive factors of fractures in type 2 diabetics with early chronic kidney disease. *J Diabetes Complications*. 2020 Jan;34(1):107476. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2019.107476.

132. Lee, W.-T.; Fang, Y.-W.; Chen, M.; Liou, H.-H.; Lee, C.-J.; Tsai, M.-H. Serum Intact Fibroblast Growth Factor 23 Levels Are Negatively Associated with Bone Mineral Density in Chronic Hemodialysis Patients. *J. Clin. Med*. 2023, 12, 1550. <https://doi.org/10.3390/jcm12041550>

133. Bouksila M, Mrad M, Kaabachi W, Kalai E, Smaoui W, Rekik S, et al. Correlation of Fgf23 and Balp with Bone Mineral Density in Hemodialysis Patients. *J Med Biochem*. 2019 Jul 30;38(4):418-426. doi: 10.2478/jomb-2019-0002.

134. Hussain I, Tandi R, Singh G, Kaur G, Abhishek, Dodda S, et al. Correlation of FGF-23 With Biochemical Markers and Bone Density in Chronic Kidney Disease-Bone Mineral Density Disorder. *Cureus*. 2023 Jan 17;15(1):e33879. doi: 10.7759/cureus.33879.

135. Manrique C, DeMarco VG, Aroor AR, Hydra A, Mugerfeld I, Jia G, et al. DPP-4 inhibition reduces western diet-induced vascular FGF23 and improves vasculopathy. *Circulation Research*. 2016;118(9):1345–1354.

136. Hasegawa S, Yamashita T, Inoue K, Takahashi M, Nakamura K, Shimizu Y et al. Effects of DPP-4 inhibition on Klotho deficiency-associated phenotypes in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2017;482(4):1280–1286.

137. Neven E, Vervaet B, Brand K, Gottwald-Hostalek U, Opdebeeck B, De Maré A, et al. Metformin prevents the development of severe chronic kidney disease and its associated mineral and bone disorder. *Kidney Int.* 2018 Jul;94(1):102-113. doi: 10.1016/j.kint.2018.01.027.

138. Glosse P, Feger M, Mutig K, Chen H, Hirche F, Hasan AA, et al. AMP-activated kinase is a regulator of fibroblast growth factor 23 production. *Kidney Int.* 2018 Sep;94(3):491-501. doi: 10.1016/j.kint.2018.03.006.

139. van der Kloet FM, Tempels FWA, Ismail N, van den Broek TJ, Bobeldijk I, Vreeken RJ, et al. Discovery of early-stage biomarkers for diabetic kidney disease using ms-based metabolomics (FinnDiane study) *Metabolomics.* 2012; 8:109– 119

.....