

## PTM FETUIN-A И SGLT2 БЛОКАДАТА: КЛИНИЧНА ПЕРСПЕКТИВА ЗА НЕФРОПРОТЕКЦИЯ – ОПИТЪТ НА ЕДИН ЦЕНТЪР

М. Бенкова-Петрова<sup>1</sup>, А. Петров<sup>1</sup>, П. Петров<sup>1</sup>, Р. Шалева<sup>1</sup>, С. Стайкова<sup>1</sup>, Е. Златанова<sup>2</sup>, Е. Маджарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиника по нефрология, УМБАЛ „Св. Марина“ – Варна

<sup>2</sup>Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов“ – Варна

## PTM FETUIN-A AND SGLT2 INHIBITION: A CLINICAL PERSPECTIVE ON NEPHROPROTECTION – EXPERIENCE FROM A SINGLE CENTER

M. Benkova-Petrova<sup>1</sup>, A. Petrov<sup>1</sup>, P. Petrov<sup>1</sup>, R. Shaleva<sup>1</sup>, S. Staykova<sup>1</sup>, E. Zlatanova<sup>2</sup>, E. Madzharova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Nephrology, Sv. Marina University Hospital – Varna

<sup>2</sup>Medical University “Prof. Dr. Paraskev Stoyanov” – Varna

**Резюме. Въведение:** Фетуин-А е гликопротеин с произход от хепатоцитите, който изпълнява ключова роля в метаболизма, инсулиновата сигнализация и инхибирането на ектопичната калцификация. Ниските му нива са асоциирани с повишен сърдечносъдов риск и неблагоприятна прогноза при пациенти с хронично бъбречно заболяване (ХБЗ). Данни от литературата предполагат, че SGLT2 инхибиторите могат индиректно да повлияят фетуин-А чрез противовъзпалителни и метаболитни механизми. **Целта** на представения материал е да се оцени динамиката на уринния PTM фетуин-А (uPTM-FA) при пациенти с диабет, лекувани с dapagliflozin, в сравнение с инсулинова и друга антидиабетна терапия, както и да се изследва потенциалът му като биомаркер за нефропротекция при хронично бъбречно заболяване. **Материал и методи:** Проследени бяха 70 възрастни пациенти със захарен диабет тип 1 и тип 2, разделени в три терапевтични групи: dapagliflozin (n = 23), инсулин (n = 24) и друга терапия (n = 23). Биомаркерите бяха измерени в три времеви точки – изходно (V0), на 3-ти месец (V3) и на 6-и месец (V6). Групите бяха съпоставими по възраст, пол, фенотип и давност на диабета, бъбречна функция, степен на албуминурия и изходни стойности на фетуин-А. **Резултати:** При пациентите, лекувани с dapagliflozin, се наблюдава най-ясно и последователно понижение на медианните стойности на уринния PTM фетуин-А, с по-голям дял клинично значими респондери спрямо контролните групи. Dapagliflozin води до благоприятна модулация на uPTM фетуин-А в рамките на шест-месечното проследяване, като ефектът е най-изразен при пациентите с по-висок риск (A2 албуминурия, високи изходни нива на фетуин-А, ХБЗ G2-G3b). **Заключение:** uPTM фетуин-А се очертава като клинично интерпретируем биомаркер, който допълва информацията от eGFR и албуминурията и може да подпомогне персонализирания мониторинг и терапия при пациенти с диабет и хронично бъбречно заболяване.

**Ключови думи:** фетуин-А, SGLT2-инхибитори, dapagliflozin, хронично бъбречно заболяване, захарен диабет

**Abstract. Introduction:** Fetuin-A is a hepatocyte-derived glycoprotein that plays a key role in metabolic regulation, insulin signaling, and inhibition of ectopic calcification. Reduced fetuin-A levels are associated with increased cardiovascular risk and an unfavorable prognosis in patients with chronic kidney disease (CKD). Evidence from the literature suggests that sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitors may indirectly influence fetuin-A through anti-inflammatory and metabolic mechanisms. The aim of the present study was to assess the dynamics of urinary post-translationally modified fetuin-A (uPTM-FA) in patients with diabetes treated with dapagliflozin, compared with insulin therapy and other antidiabetic treatments, and to explore its potential as a biomarker of nephroprotection in chronic kidney disease. **Materials and Methods:** Seventy adult patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus were followed and stratified into three therapeutic groups: dapagliflozin (n = 23), insulin (n = 24), and other antidiabetic therapy (n = 23). Biomarkers were measured at three time points: baseline (V0), month 3 (V3), and month 6 (V6). The groups were comparable in terms of age, sex, phenotype, diabetes duration, renal function, degree of albuminuria, and baseline fetuin-A levels. **Results:** Patients treated with dapagliflozin demonstrated the most pronounced and consistent reduction in median urinary PTM fetuin-A levels, with a higher proportion of clinically significant responders compared with the control groups. Dapagliflozin resulted in favorable modulation of uPTM-FA over the six-month follow-up period, with the effect being most pronounced in high-risk patients (A2 albuminuria, elevated baseline fetuin-A levels, and CKD stages G2–G3b). **Conclusion:** Urinary PTM fetuin-A emerges as a clinically interpretable biomarker that complements information obtained from estimated glomerular filtration rate and albuminuria and may support personalized monitoring and therapeutic decision-making in patients with diabetes and chronic kidney disease.

**Key words:** fetuin-A; SGLT2 inhibitors; dapagliflozin; chronic kidney disease; diabetes mellitus

### ВЪВЕДЕНИЕ

Фетуин-А принадлежи към суперфамилията на цистатините и представлява протеазен инхибитор, синтезиран от хепатоцитите в черния дроб [6]. Той е силно експресиран плазмен протеин, съставен от две полипептидни вериги, свързани чрез дисулфидни връзки. Активната му форма се образува след протеолитична обработка на препротеин [7,

14] и последващи посттранслационни модификации, които вероятно регулират нивата на експресия, биологичната стабилност и функционалната активност на фетуин-А [1]. Особено важно е фосфорилирането, което позволява взаимодействието на фетуин-А с инсулиновия рецептор [9].

Фетуин-А играе съществена роля в редица физиологични процеси, включително метаболизма на мастни киселини, регулацията на въз-

палителния отговор, костната минерализация, дегранулацията на неутрофили, активирането на лимфоцити, както и хомеостазата на тиреоидните хормони и калциевите йони [6, 8]. Той инхибира тирозинкиназната активност на инсулиновия рецептор и така възпрепятства неговото автофосфорилиране, което води до инсулинова резистентност и свързаните с нея метаболитни нарушения. Освен това фетуин-А действа като мощен инхибитор на ектопичната калцификация в меките тъкани [17] и се определя като отрицателен острофазов протеин.

Нивата на фетуин-А в плазмата показват корелация с концентрациите на възпалителни цитокини, биомаркери на активация и хемокини при пациенти със захарен диабет тип 2. Повишените му стойности са асоциирани с развитие на метаболитен синдром, затлъстяване и сърдечносъдови заболявания. Освен това той функционира като широкоспектърен протеазен модулатор [19], който блокира свързването на трансформиращия растежен фактор-бета 1 (TGF- $\beta$ ) с клетъчните рецептори чрез директно взаимодействие с TGF- $\beta$  [16].

Фетуин-А е хепатокин, който играе ключова роля в развитието и прогресията на метаболитни нарушения при захарен диабет тип 2. Данните от редица проучвания документират връзката между повишените нива на фетуин-А, инсулиновата резистентност и затлъстяването. Тъй като и двете състояния са водещи рискови фактори за развитието на захарен диабет тип 2, все по-голям брой изследвания се фокусират върху ролята на фетуин-А като прогностичен фактор за риска от диабет тип 2 [4, 12, 18].

Повишените нива на фетуин-А са тясно свързани с инсулиновата резистентност, като той инхибира тирозинкиназната активност на инсулиновия рецептор и блокира транслокацията на GLUT-4, което води до нарушена глюкозна хомеостаза и повишена продукция на пикочна киселина [2, 3].

Освен това фетуин-А активира Toll-like гесептор 4 (TLR-4) и индуцира нискостепенно възпаление, което допълнително влошава инсулиновата резистентност и метаболитния статус. При пациенти с диабет и неалкохолна мастна чернодробна болест се наблюдават още по-високи нива на фетуин-А, което корелира с по-изразена инсулинова резистентност и метаболитни нарушения [3, 13].

## **ВРЪЗКА НА ФЕТУИН-А И ЛЕЧЕНИЕТО С SGLT2 ИНХИБИТОРИ**

Доказано е, че SGLT2 инхибиторите, включително dapagliflozin, забавят прогресията на хроничното бъбречно заболяване (ХБЗ) и намаляват

сърдечносъдовата смъртност както при пациенти със, така и при такива без диабет [10]. Механизмът им на действие включва намаляване на глюкозната реабсорбция в проксималния тубул, понижаване на интратубулното налягане, редуция на протеинурията и изразени противовъзпалителни ефекти. Въпреки че директната връзка между SGLT2 инхибиторите и серумните нива на фетуин-А все още се проучва, хипотезата се базира на тяхното въздействие върху възпалението, оксидативния стрес и метаболитните процеси. Намаленото системно възпаление и подобрената инсулинова чувствителност биха могли да окажат влияние върху нивата на фетуин-А и да редуцират риска от съдова калцификация. Първоначални предклинични и клинични наблюдения сочат, че dapagliflozin намалява калцификационния стрес върху съдовете и сърдечните клапи, частично чрез подобряване на метаболитния профил и намаляване на възпалителните маркери. Това поражда хипотезата, че фетуин-А може да се използва като потенциален биомаркер за проследяване на терапевтичния отговор [20].

## **Цел**

Да се изследва динамиката на уринния РТМ фетуин-А (uPTM-FA) при пациенти със захарен диабет, лекувани с dapagliflozin, в сравнение с инсулинова и друга антидиабетна терапия, и да се оцени неговият потенциал като допълнителен биомаркер за персонализиран мониторинг и нефропротекция при хронично бъбречно заболяване.

## **МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ**

Анализирахме общо 70 възрастни пациенти със захарен диабет тип 1 и тип 2, при които беше осигурено проследяване на биомаркерите в три времеви точки – изходно (V0), на третия месец (V3) и на шестия месец (V6). Пациентите бяха разпределени в три терапевтични групи: лечение с dapagliflozin – 23 души, лечение с инсулин – 24 души, и група на друга антидиабетна терапия – 23-ма души.

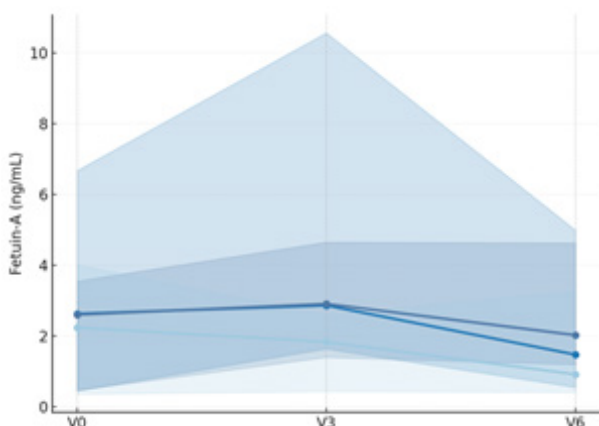
Критериите за включване обхващаха: възраст над 18 години, доказан захарен диабет тип 1 или тип 2, стабилна антидиабетна терапия през последните три месеца, както и възможност за последващо проследяване в рамките на 6 месеца. Пациенти с остри възпалителни заболявания, активни неоплазми или напреднало хронично бъбречно заболяване (eGFR < 30 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>) бяха изключени. Всички изследвани групи бяха съпоставими по възраст, пол, фенотип и давност на диабета, индекс на телесна маса (BMI), бъбречна функция, степен на албуминурия и изходни стойности на уринния РТМ фетуин-А.

Уринните проби бяха събирани като сутрешна порция урина и анализирани за РТМ фетуин-А чрез имуноензимен метод (ELISA), като резултатите бяха коригирани спрямо концентрацията на уринния креатинин (uPTM-FA/Ucr). Допълнително беше оценена и албуминурията (UACR), за да се сравнят класическите нефропротективни биомаркери с динамиката на uPTM-FA. Всички участници са подписали информирано съгласие.

## РЕЗУЛТАТИ

В рамките на изследваната група се наблюдава понижение на медианните стойности на фетуин-А към шестия месец от проследяването. Най-ясно изразена низходяща тенденция се отчита при пациентите, лекувани с dapagliflozin, при които промяната е по-устойчива и последователна. Медианните стойности намаляват най-ясно в групата, лекувана с dapagliflozin ( $\approx 2.63 \rightarrow 1.47$  ng/mL), с по-голям дял клинично значими респондери в сравнение с контролните групи.

На третия месец (V3) се регистрира известна вариабилност в стойностите, изразена чрез отделни епизоди на по-високи нива при част от пациентите. Тези колебания обаче не се запазват на шестия месец (V6). Изчезването им в края на периода подсилва впечатлението за цялостно подобрение и стабилизиране на показателя в дългосрочен план. Така динамиката на уринния РТМ фетуин-А потвърждава тенденция към благоприятно повлияване на биомаркера при терапия с dapagliflozin.



Фиг. 1. Медианни стойности на фетуин-А (ng/mL) на V0, V3 и V6 според терапията

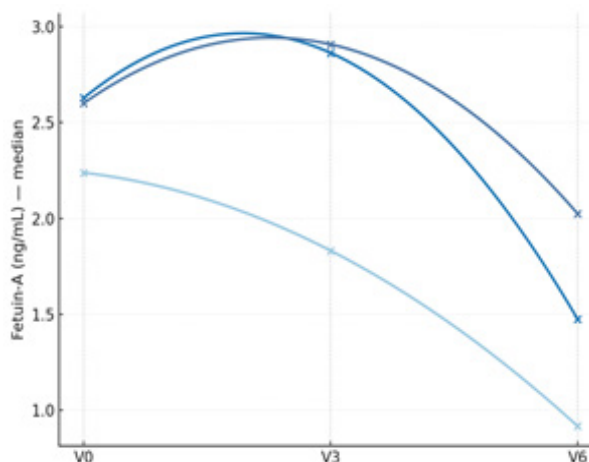
Подложихме на „стрес тест“ предимството на dapagliflozin по отношение на подобрението във фетуин-А, като приложихме различни аналитични подходи. Това включваше промяна на логаритмичната константа  $\epsilon$  (0.01/0.05/0.10), използване на процентна промяна вместо логаритмична, изключване на най-горните 2% от

случаите с екстремни стойности на  $|\Delta \log|$ , както и ограничаване на анализа само до пациенти с диабет тип 2. Във всички проведени анализи посоката на ефекта от dapagliflozin остана положителна, което потвърждава устойчивостта на наблюдаваното положително въздействие върху нивата на фетуин-А.

Analysis	Rank-biserial r	p-value
Log-scale with $\epsilon = 0.01$	0.116	0.438
Log-scale with $\epsilon = 0.05$	0.114	0.446
Log-scale with $\epsilon = 0.1$	0.110	0.461
Percent change (V6 vs V0)	0.132	0.385
Exclude top 2% $ \Delta \log $	0.220	0.152
T2D only	0.063	0.725

Фиг. 2. Надеждност на ефекта на dapagliflozin върху понижението във фетуин-А

Използвахме прости квадратични медианни криви за отделните терапевтични групи, като при лекуваните с dapagliflozin се отчете пик на V3 и спад на V6 – т.е. траекторията при dapagliflozin показва низходящо развитие, което се стабилизира до шестия месец.



Фиг. 3. Нелинейни (квадратични) медианни криви на фетуин-А във времето според терапията

## ОБСЪЖДАНЕ

Нашите резултати потвърждават, че dapagliflozin е свързан с благоприятна динамика на uPTM фетуин-А, особено изразена на шестия месец. Това наблюдение е в съответствие с по-ранни проучвания, които демонстрират връзка между ниски нива на фетуин-А, съдова калцификация и повишена артериална ригидност при пациенти на диализа [5]. Фетуин-А е признат ендегенен инхибитор на калцификацията, чиято редукция води до по-висок риск от сърдечносъ-

дови събития при пациенти с хронично бъбречно заболяване. Данни от големи кохортни проучвания показват, че хипофетуинемията е независим предиктор за повишена смъртност [22].

В нашето изследване наблюдавахме характерен нелинеен модел на промяната — преходно покачване на третия месец, последвано от спад на шестия, което съответства на хипотезата, че динамичният мониторинг и анализите, базирани на промяната във времето, са по-информативни от еднократните измервания [21].

Субгруповите анализи демонстрират, че пациентите със степен на албуминурия A2 по KDIGO, високи изходни нива на фетуин-А и лека до умерена ХБЗ (G2-G3b по KDIGO) са най-вероятните бенефициенти от терапията с dapagliflozin. Това подкрепя концепцията за персонализирана медицина в нефрологията [11].

Чувствителните анализи показаха стабилност на резултатите, което потвърждава, че благоприятният ефект на dapagliflozin върху фетуин-А е устойчив и клинично релевантен [15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Бъдещи проучвания трябва да оценят динамиката на серумните и уринните нива на фетуин-А при пациенти, лекувани със SGLT2 инхибитори, както и връзката между тези промени и редукцията на сърдечносъдовите и бъбречните усложнения. Подобна информация би могла да подпомогне персонализирания подход и оптимизацията на терапията при ХБЗ. Фетуин-А има потенциал не само като биомаркер за калцификация и сърдечносъдов риск, но и като индикатор за ефективността на съвременните нефропротективни терапии, включително SGLT2 инхибитори като dapagliflozin. Комбинирането на класически биохимични маркери с нови терапевтични стратегии може да подобри прогнозата на пациентите с ХБЗ и да открие нови възможности за персонализирано лечение.

### Библиография

1. Auburger P, Falquerho L, Contreres JO et al. Le Characterization of a natural inhibitor of the insulin receptor tyrosine kinase: cDNA cloning, purification, and anti-mitogenic activity. *Cell*. 1989; 58, 631-640.
2. Bourebaba L, Marycz K. Pathophysiological Implication of Fetuin-A Glycoprotein in the Development of Metabolic Disorders: A Concise Review. *J Clin Med*. 2019 Nov 21;8(12):2033. doi: 10.3390/jcm8122033.
3. Icer MA, Yildiran H. Effects of fetuin-A with diverse functions and multiple mechanisms on human health. *Clin Biochem*. 2021 Feb;88:1-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2020.11.004. Epub 2020 Nov 25.
4. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2003, 46, 3-19.

5. Ketteler M, Brandenburg V, Westenfeld R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(7):1207-1213. doi:10.1093/ndt/gfg107

6. Komsa-Penkova RS, Golemanov GM, Radionova ZV et al. Fetuin-A-Alpha2-Heremans-Schmid Glycoprotein: From Structure to a Novel Marker of Chronic Diseases Part 1. Fetuin-A as a Calcium Chaperone and Inflammatory Marker. *J Biomed Clin Res*. 2018, 10, 90-97.

7. Kübler D, Gosenca D, Wind M et al. Proteolytic processing by matrix metalloproteinases and phosphorylation by protein kinase CK2 of fetuin-A, the major globulin of fetal calf serum. *Biochimie*. 2007;89:410-8.

8. Lee CC, Bowman BH, Yang FM. Human a2-HS-glycoprotein: the A and B chains with a connecting sequence are encoded by a single mRNA transcript. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4403-4407.

9. Mathews ST, Chellam N, Srinivas PR et al. Alpha2-HSG, a specific inhibitor of insulin receptor autophosphorylation, interacts with the insulin receptor. *Mol Cell Endocrinol*. 2000;164:87-98.

10. Mende CW, Heerspink HJL, Chertow GM, et al. Chronic Kidney Disease and SGLT2 Inhibitors: A Review of the Evidence. *Advances in Therapy*. 2022;39(4):1495-1510. doi:10.1007/s12325-021-01994-2.

11. Mohamed ON, et al. The relationship of fetuin-A with coronary calcification, carotid atherosclerosis, and mortality risk in non-dialysis chronic kidney disease. *J Lab Clin Med*. 2024;13(2):194-202.

12. Mori K, Emoto M, Yokoyama H et al. Association of Serum Fetuin-A with Insulin Resistance in Type 2 Diabetic and Nondiabetic Subjects. *Diabetes Care* 2006, 29, 468.

13. Mukhopadhyay S, Mondal SA, Kumar M, Dutta D. Proinflammatory and antiinflammatory attributes of fetuin-a: a novel hepatokine modulating cardiovascular and glycemic outcomes in metabolic syndrome. *Endocr Pract*. 2014 Dec;20(12):1345-51. doi: 10.4158/EP14421.RA.

14. Nawratil P, Lenzen S, Kellermann J et al. Limited proteolysis of human alpha2-HS glycoprotein/ fetuin. Evidence that a chymotryptic activity can release the connecting peptide. *J Biol Chem*. 1996;271:31735-41.

15. Protas N, Kostitska I, et al. Effect of gliflozins on serum fetuin-A in patients with type 2 diabetes and nonalcoholic steatohepatitis. *Endocrine Abstracts*. 2025;110:EP864.

16. Robinson KN, Teran-Garcia M. From infancy to aging: Biological and behavioral modifiers of Fetuin-A. *Biochimie*. 2016;124:141-49.

17. Schäfer C, Heiss A, Schwarz A et al. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/ fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest*. 2003;112:357-66.

18. Stefan N, Hennige AM, Staiger H et al. Alpha2-Heremans-Schmid Glycoprotein/Fetuin-A Is Associated with Insulin Resistance and Fat Accumulation in the Liver in Humans. *Diabetes Care*. 2006, 29, 853-857.

19. Tajirian T, Dennis JW, Swallow CJ. Regulation of human monocyte proMMP-9 production by fetuin, an endogenous TGF-beta antagonist. *J Cell Physiol*. 2000;185:174-83.

20. Welliam Y, Witarto BS, Visuddho V et al. Osteopontin, kidney injury molecule-1, and fetuin-A as prognostic markers of end-stage renal disease: A systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*. 2025;20(4):e0320804. doi:10.1371/journal.pone.0320804.

21. Westenfeld R, Schäfer C, Smeets R, et al. Fetuin-A (AHSG) prevents extraosseous calcification induced by uraemia and phosphate challenge in mice. *Circulation*. 2007;115(2):199-206.

22. Zhou Z, et al. Circulating fetuin-A and risk of all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. *Clin Sci (Lond)*. 2019;133(3):325-334.

✉ Адрес за кореспонденция:  
Д-р Мирослава Бенкова  
e-mail: benkova\_miroslava@yahoo.com