

REVIEWS

Adv Clin Exp Med 2006, 15, 6, 1129–1138
ISSN 1230-025X

© Copyright by Silesian Piasts
University of Medicine in Wrocław

ZOFIA MARCHEWKA

Low Molecular Weight Biomarkers in the Nephrotoxicity

Niskocząsteczkowe wskaźniki biochemiczne w diagnostyce nefrotoksyczności

Chair and Department of Toxicology, Laboratory of Environmental Nephrotoxicity Markers,
Silesian Piasts University of Medicine, Wrocław, Poland

Streszczenie

W pracy przedstawiono funkcję i wartość diagnostyczną białek i enzymów niskocząsteczkowych w ocenie czynności nerek. Wybrano wskaźniki pozwalające ocenić stan i funkcję cewek nerkowych najbardziej wrażliwych na działanie ksenobiotyków. Do wskaźników tych należą: aneksyna V, α_1 -mikroglobulina (α_1 M), białko komórek Clara (CC16), białko wiążące retinol (RBP), β_2 -mikroglobulina (β_2 M), cystatyna C, lizozym, ludzka obojętnochna lipokalina (HNL) (*Adv Clin Exp Med* 2006, 15, 6, 1129–1138).

Słowa kluczowe: nefrotoksyczność, wczesne markery, analiza moczu.

Abstract

The autor presents function and the diagnostics significance of urinary low molecular weight proteins and enzymes to evaluate kidney function. The markers, which allow to evaluate the function of the most sensitive renal tubules on the xenobiotics action, were chosen. They are: annexin V, α_1 -microglobulin (α_1 M), Clara cell protein (CC16), retinol binding protein (RBP), β_2 -microglobulin (β_2 M), cystatin C, lysozyme, lipocalin (*Adv Clin Exp Med* 2006, 15, 6, 1129–1138).

Key words: nephrotoxicity, early markers, urine analysis.

Nerki są narządem bardzo podatnym na toksyczne uszkodzenia. Potencjalnie nefrotoksyczne substancje w krążeniu układowym są dostarczane do nerek w relatywnie dużych stężeniach z powodu dużego przepływu krwi przez ten narząd. Ksenobiotyki mogą uszkadzać poszczególne segmenty lub obszary nefronu w zależności od miejsca ich bezpośredniego lub pośredniego działania. Wielkość tych zmian zależy zwykle od dawki lub stężenia ksenobiotyku. Większość substancji wykazuje przewidywalne, zależne od dawki, działanie nefrotoksyczne przejawiające się jako pogorszenie wcześniej występującego zaburzenia czynności nerek. W niektórych przypadkach jednak nefrotoksyczność jest skutkiem nieprzewidywalnego, niezależnego od dawki, zjawiska idiosynkrazji. Toksyczne uszkodzenie nerek może przebiegać pod postacią trzech głównych zespołów klinicznych: ostrej niewydolności nerek, zespołu nerczycowego i przewlekłej niewydolności nerek. Ostra nie-

wydolność nerek może być spowodowana zarówno bezpośrednim działaniem ksenobiotyków, jak i zaburzeniem ukrwienia nerek czy niedrożnością dróg moczowych (krystaluria). Działanie ksenobiotyków, przejawiające się w postaci zespołu nerczycowego, jest związane z naruszeniem równowagi immunoregulatorowej. Przewlekła niewydolność nerek jest najczęściej spowodowana długotrwałym działaniem ksenobiotyków prowadzącym do włóknienia i zaniku cewek nerkowych. Nie wszystkie części nefronu są w równym stopniu podatne na działanie substancji toksycznych. Najbardziej wrażliwe na ksenobiotyki są komórki kanalikula proksymalnego, charakteryzujące się największą aktywnością metaboliczną, bardzo dużym gradientem osmotycznym oraz obecnością cewkowych mechanizmów transportowych. Segment S3 cewek zawiera zarówno mikrosomalne monooksygenazy, jak i monoaminooksydazy, hydroksylazy molibdenowe oraz syntetazy prostaglandyny H,

które aktywują metabolicznie niektóre ksenobiotyki, wytwarzając reaktywne i potencjalnie nefrotoksyczne metabolity pośrednie [1]. W przeciwieństwie do cewek dystalnych o stosunkowo grubej warstwie nabłonka z wysokim oporem elektrycznym, cewka proksymalna ma „nieszczelny” nabłonek. Transport takich cząsteczek jak: aniony organiczne i kationy, białka, konjugaty z glutationem i metale ciężkie odbywa się głównie w cewkach proksymalnych [2]. Dlatego istotny jest dobór odpowiednich wskaźników pozwalających ujawnić zaburzenia funkcji tej części nefronu. Funkcją taką spełniają białka i enzymy niskocząsteczkowe. Należą do nich: aneksyna V, α_1 -mikroglobulina (α_1M), białko komórek Clara (CC16), białko wiążące retinol (RBP), β_2 -mikroglobulina (β_2M), cystatyna C, lizozym, inaczej N-acetylo-muramidoglikozhydro-laza, ludzka obojętnochłonna lipokalina (HNL).

Aneksyna V

Aneksyna V należy do cytoplazmatycznej rodziny białek, do której zalicza się jeszcze około 12 innych protein. Ma masę cząsteczkową 32-35 kDa i punkt izoelektryczny w pH równy 4,8–5,0. Cząsteczka białka składa się z C-końcowego rdzenia i N-końcowego „ogona”. Rdzeń jest zbudowany z 4 powtórzeń sekwencji homologicznych 70–80 reszt aminokwasowych. W obrębie rejonu rdzeniowego znajdują się miejsca wiązania Ca^{2+} i fosfolipidów. Ogon aneksyny jest obszarem determinującym oddziaływanie tego białka z innymi białkami. Badania krystalograficzne wykazały, że aneksyny tworzą cząsteczki ściśle upakowane o kształcie dysku z nieznacznym wgłębieniem w środku. Umieszczenie białka w komórce zależy od stężenia wapnia: gdy jest małe, występuje głównie w cytozolu, a gdy jest duże, przemieszcza się do błony komórkowej. Obecność aneksyny V wykryto w komórkach śródbłonka i mięśni gładkich naczyń krwionośnych, w płytkach krwi, limfocytach, makrofagach i na powierzchni krwinek czerwonych. Aneksyna V, tak jak i inne białka z tej rodziny, bierze udział w przekazywaniu sygnałów i proliferacji komórki, regulacji transportu pęcherzykowego, w oddziaływaniu z błoną komórkową oraz w homeostazie wapnia. Białko silnie hamuje krzepnięcie krwi, fosfolipazę A_2 oraz białkową kinazę C [3, 4].

Funkcja i rola w diagnostyce

Aneksyna występuje w dużych ilościach w komórkach kanalików dystalnych oraz nabłonka kłębuszkowego. Matsuda et al. [5] stwierdzili duże wydalanie tego białka w doświadczalnym za-

paleniu kłębuszkowym nerek u szczurów. Dużemu wydalaniu aneksyny towarzyszyło zwiększone wydalanie izoenzymu N-acetyl- β -D-glukozaminidazy (NAG-B). Ci sami autorzy zaproponowali użycie tego białka jako markera uszkodzenia kłębuszków nerkowych oraz kanalików dystalnych. Oznaczali wydzielenie aneksyny u chorych z zespołem nerczycowym, zapaleniem nerek towarzyszącym układowemu toczniowi rumieniowatemu oraz w nefropatii IgA. We wszystkich jednostkach chorobowych zanotowano zwiększone wydzielenie aneksyny do moczu w porównaniu z badaniem kontrolnym. Prawidłowe stężenie w moczu wynosi $1,5 \pm 1,5$ ng/ml. Szczególnie duże stężenie aneksyny w moczu występuje u pacjentów z zespołem nerczycowym ($9,3 \pm 9,1$ ng/ml). Stężenie to koreluje z wydzieleniem innych białek w moczu, nie koreluje natomiast z mocznikiem, stężeniem surowiczej kreatyniny oraz z klirensem kreatyniny. Wynika z tego, że moczowe wydalanie aneksyny V nie przedstawia bezpośrednio czynności nerek, ale może wskazywać ostre patofizjologiczne zmiany w nerkach [6]. U pacjentów z nawracającym zespołem nerczycowym zarówno stężenie moczowe aneksyny V, jak i aktywność NAG-B były zwiększone podczas ostrego stanu choroby. Z czasem oba wskaźniki normalizowały się. Stężenie aneksyny V zmniejszało się wcześniej niż aktywność NAG-B i pozostawało na niższym poziomie. Biorąc pod uwagę to, że pacjenci z tą chorobą wymagali później hemodializy, ich tkanka nerkowa mogła być uszkodzona w okresie, kiedy występowało duże stężenie aneksyny V. Obecny stan wiedzy nie pozwala na jednoznaczną interpretację obserwowanych zmian wydalania aneksyny V. Podstawowa, dotychczas poznana rola biologiczna tego białka w procesach patofizjologicznych jest związana z apoptozą komórkową. Stwierdzenie wydalania dużej ilości aneksyny V do moczu chorych z aktywnym toczniem układowym, chorobą, której aktywność pozostaje w ścisłym związku z apoptozą komórkową, może wskazywać na przydatność oznaczania tego białka w różnicowaniu etiologicznie różnych nefropatii [7]. Badania dotyczące diagnostycznego zastosowania aneksyny V w ocenie zaburzeń czynnościowych nerek należy traktować jako wstępne i przyszłościowe.

α_1 -mikroglobulina

α_1 -mikroglobulina (α_1M) jest glikoproteina z rodziny lipokalin, podobnie jak RBP. Glikoproteina ta jest obecna we krwi, a największą jej ilość zawiera wątroba, osocze i nerki. Ma masę cząsteczkową 26 kDa i składa się z 160–190 reszt aminokwasowych. W swojej cząsteczce zawiera żół-

to-brązową chromoforową grupę prostetyczną kowalencyjnie związaną z łańcuchem aminokwasów. Jest heterogenna pod względem ładunku. Zawiera wolną resztę cysteinową, która może reagować z innymi resztami cysteinowymi na powierzchni innych białek. We krwi występuje związana z wieloma białkami w postaci wysokocząsteczkowych kompleksów. Stwierdza się, że w osoczu 50% α_1M jest związane z immunoglobuliną A (IgA), 7% z albuminą i 1% przez mostki disiarczkowe z protrombiną. Wolna postać białka jest swobodnie filtrowana przez kłębuszki nerkowe do moczu pierwotnego, z którego jest następnie reabsorbowana do kanalików proksymalnych i tam katabolizowana. α_1M jest syntezowana w wątrobie razem z bikuniną (inhibitor proteaz serynowych) [8, 9].

Stężenie α_1M , tak samo jak i β_2M , zależy od wieku i płci. Zwiększone wydalanie białka występuje u noworodków do 14. dnia, a następnie zmniejsza się. Stosunek α_1M /kreatynina (kr) nie zależy od płci, zależy jedynie od wieku. Zaobserwowano wzrost wartości α_1M u ludzi powyżej 40. r.ż.

Funkcja i rola w diagnostyce

Znaczące ilości niezwiązanej α_1M wykrywa się w moczu. Przyjmuje się, że fizjologiczne stężenie tego białka wynosi $9,0 \pm 2,43$ mg/l. α_1M ma właściwości immunosupresyjne: u myszy hamuje wytwarzanie interleukiny-2, u ludzi dowiedziono, że hamuje także migrację leukocytów i chemotaksję. Ostatnio zaobserwowano, że hamuje również wytwarzanie wolnych rodników i interleukiny-1 β przez obwodowe limfocyty. Wykazano, że może wiązać się z ludzkimi obwodowymi limfocytami B i T. Jest zatem białkiem zaangażowanym w immunoregulację. Przypuszcza się, że α_1M pełni także rolę w katabolizmie hemu [8].

Stężenie w moczu wolnej α_1M jest czułym wskaźnikiem uszkodzenia kanalików. Zwiększenie ilości wydalania α_1M jest spowodowane niedostateczną reabsorpcją i lizosomalną degradacją uszkodzonych komórek kanalików proksymalnych. Duża stabilność białka w moczu sprawia, że jest idealnym biomarkerem do wykrywania zaburzeń czynności nerek. Zwiększenie stężenia w surowicy i moczu obserwuje się w chorobach cewek nerkowych i u chorych na przewlekłą niewydolność nerek [9].

Stężenie α_1M /kr jest użytecznym markerem uszkodzenia kanalikowo-śródmiąższowego w nefropatiach o etiologii infekcyjnej. Pozwala na różnicowanie zajęcia nerek w zakażeniach układu moczowego [10].

Białko to jest dobrym wskaźnikiem wczesnego wykrywania nefropatii cukrzycowej. Ilość wydalanej globuliny jest związana z czasem trwania,

ciężkością i stopniem kontroli cukrzycy [11]. Podobnie zwiększone stężenie α_1M w moczu może służyć diagnostyce wtórnych zmian śródmiąższowych w pierwotnych i wtórnych glomerulopatiach. Jego wydalanie wzrasta równoległe z innymi biomarkerami tego uszkodzenia, takimi jak NAG i alanyloaminopeptydaza (AAP) [12].

α_1M , oprócz takich wskaźników jak: β_2M , RBP i NAG, jest dobrym biomarkerem uszkodzenia kanalików u ludzi narażonych zawodowo na toksyczne działanie (np. kadmu) lub wskutek stosowanych leków nefrotoksycznych [13]. Zwiększone stężenie α_1M stwierdzono np. w moczu osób mających kontakt z rozpuszczalnikiem trichloroetylenem. Ponieważ trichloroetylen jest środkiem o dużej toksyczności, a następstwem długotrwałej ekspozycji na jego działanie może być rak nerki, oznaczanie α_1M może mieć również znaczenie w profilaktyce, zapobieganiu rozwojowi tego nowotworu [14].

Białko komórek Clara

Białko komórek Clara (CC16) należy do rodziny sekretoglobulin. Jest białkiem nieglikozylovanym o masie cząsteczkowej 16 kDa. Ma budowę homodimeru składającego się z 2 podjednostek połączonych ze sobą wiązaniami disiarczkowymi. Każda z podjednostek zawiera 70 reszt aminokwasowych. Punkt izoelektryczny białka występuje w pH równym 4,7. CC16 jest syntetyzowane przez nieurzęsione komórki nabłonka tchawiczo-oskrzelowego, przez komórki układu moczowo-płciowego u mężczyzn oraz prostatę. Obecność białka została wykryta w surowicy, nasieniu, moczu, ślinie, płynie owodniowym. Jego stężenie w surowicy jest 50 razy mniejsze niż β_2M i 100 razy mniejsze niż RBP i α_1M [15, 16].

Funkcja i rola w diagnostyce

Dokładna funkcja nie została jeszcze całkowicie poznana, istnieją jednak dowody, że proteina ta jest naturalnym immunosupresorem oraz czynnikiem przeciwzapalnym w układzie oddechowym oraz moczowo-płciowym. Białko komórek Clara hamuje ekspresję interferonu γ , aktywność fosfolipazy A_2 oraz chemotaksję neutrofilów i monocytów. Przypuszcza się, że CC16 ma związek z niektórymi chorobami, takimi jak zespół zaburzeń oddechowych i schizofrenia.

Wydaje się, że oznaczanie CC16 jest bardzo dobrym markerem uszkodzenia płuc przez niektóre ksenobiotyki. Komórki Clara występujące w płucach są ważnym pośrednikiem w rozwoju uszkodzenia płuc oraz zawierają układ cytochro-

mu P450, który uczestniczy w aktywacji wielu toksyn i karcynogenów. Ostre narażenie na chemikalia powoduje szybką destrukcję komórek Clara, która prowadzi do zmniejszenia wytwarzania i wydzielania CC16. Badania wskazują, że surowicze stężenie CC16 może być obwodowym biomarkerem uszkodzenia nabłonka oddechowego spowodowanego przez dym tytoniowy [15, 16].

Białko CC16, tak jak inne białka niskocząsteczkowe, jest wydzielane do moczu przez filtrację kłębuszkową, a następnie reabsorbowane na drodze endocytozy przez kanaliki proksymalne i tam katabolizowane. Stężenie CC16 zwiększa się w surowicy w przypadku zmniejszenia GFR (*glomerular filtration rate*). Białko jest wydzielane do moczu w dużo większych ilościach u pacjentów z zaburzeniami funkcji kanalików proksymalnych. Oznaczanie stężenia białka komórek Clara w moczu jest dobrym wskaźnikiem tych zaburzeń. CC16 jest białkiem stabilnym w moczu, jest bardziej odporne na hydrolizę przez kwaśne proteazy niż RBP. Bernard et al. [15] porównywali wydalanie CC16 i innych kanalikowych białek (β_2M , α_1M , RBP) do moczu u ciężarnych pacjentek w wczesnym stadium cukrzycy, podczas przewlekłego narażenia na kadm oraz u kobiet zażywających preparaty odchudzające z ziół chińskich zawierające nefrotoksyczny kwas aristolochiowy. Uzyskane wyniki wskazują, że stężenie CC16 w moczu jest bardzo czułym wskaźnikiem zaburzenia czynności nerek pozwalającym na wykrycie nieznacznego uszkodzenia w zdolności reabsorpcyjnej kanalików nerkowych, niewykrywalnego przy oznaczaniu innych kanalikowych białek, takich jak: β_2M , α_1M i RBP. Oznaczanie białka CC16 było lepszym markerem w porównaniu z innymi białkami, zwłaszcza u kobiet chorych na cukrzycę i narażonych na kadm oraz zażywających chińskie zioła. U mężczyzn istnieje ograniczenie w oznaczaniu białka komórek Clara jako markera uszkodzenia funkcji kanalików proksymalnych, ponieważ jego większa ilość w moczu pochodzi z układu moczowo-płciowego [16, 17].

Białko wiążące retinol

Białko wiążące retinol (RBP) należy do rodziny lipokalin. Wspólną cechą tych białek jest ich struktura. Składają się z ośmiu β -łańcuchów (A-H). Ludzkie RBP jest białkiem kwaśnym, monomerycznym, o masie cząsteczkowej 21 kDa, nie zawiera węglowodanów oraz ma 3 wewnątrzcząsteczkowe mostki disiarczkowe. RBP wiąże z dużym powinowactwem retinol oraz kwas retinowy. Okres biologicznego półtrwania wynosi 4 godz., zwiększa się 10–15 razy u pacjentów chorych na mocznicę [18].

RBP jest obecne w znaczących ilościach w wątrobie, nerkach i surowicy. W znacznie mniejszych ilościach występuje także w innych tkankach, takich jak: mięśnie, mózg, jelito, śledziona. Prekursorowe pRBP jest syntezowane w komórkach parenchymalnych wątroby i po odszczepieniu sekwencji sygnałowej jako apoproteina łączy się z retinolem i jest wydzielane do krążenia ogólnego. Ponieważ mRNA dla tego białka jest obecne także w innych narządach niż wątroba, np. w nerkach, płucach, przypuszcza się, że w tych organach również zachodzi jego synteza [19].

W osoczu RBP tworzy kompleks z transtyretyną (TTR) w stosunku molowym 1 : 1. Tylko 4% RBP pozostaje niezwiązane. RBP ma postać beczułki z jednej strony zamkniętej, a z drugiej otwartej, która w środku zawiera hydrofobową „kieszonkę” wiążącą retinol [20]. Po dostarczeniu retinolu do tkanek obwodowych RBP traci powinowactwo do TTR i jest usuwane z osocza za pomocą filtracji kłębuszkowej, a następnie zwrotnie wchłaniane w kanalikach nerkowych proksymalnych i tu katabolizowane. Tylko bardzo niewielka część jest wydalana z moczem. Wartość prawidłowa w moczu wynosi poniżej 200 $\mu\text{g/l}$ RBP.

Dotychczas rozpoznano 2 formy RBP różniące się zawartością argininy: frakcję A1 oraz B1 [18].

Funkcja i rola w diagnostyce

RBP spełnia w organizmie wiele fizjologicznych funkcji. Po pierwsze, umożliwia przepływ nierozpuszczalnego retinolu między tkankami, przede wszystkim z miejsc jego nagromadzenia do tkanek obwodowych. Białko to chroni witaminę A przed utlenieniem i masowym rozproszaniem tej aktywnej cząsteczki. Za pomocą syntezy RBP jest regulowane uwalnianie retinolu z wątroby. RBP spełnia także ważną rolę w przenoszeniu witaminy A z krążenia matki do krążenia płodu.

Zwiększenie stężenia RBP w moczu i wydalania jest następstwem albo jego dużego stężenia w surowicy, związanego z zaburzeniem funkcji filtracyjnej, albo zmniejszonej reabsorpcji kanalikowej wynikającej z uszkodzenia komórek kanalików proksymalnych [21].

Wydaje się, że oznaczenie RBP w moczu jest lepszym biomarkerem uszkodzenia kanalików proksymalnych w porównaniu z β_2M i NAG. Przewaga RBP nad β_2M w diagnostyce uszkodzenia kanalików wynika z jego większej stabilności w kwaśnym moczu oraz z tego, że jedyną sytuacją kliniczną wpływającą na zwiększenie stężenia tego białka w surowicy jest niewydolność nerek [22]. Jego wydalanie w moczu może też służyć ocenie wpływu endogennych czynników uszkodzających. Przykładem może być monitorowanie stężenia RBP w moczu w przy-

padku rhabdomyolizy w celu określenia ryzyka wystąpienia martwicy kanalikowej. Jest również przydatnym klinicznie wskaźnikiem uszkodzenia kanalikowo-śródmiąższowego w chorobach ogólnoustrojowych, np. w nadciśnieniu tętniczym [23].

Oznaczenie RBP w przypadku narażenia na toksyczne działanie arsenu, kadmu, ołowiu, rtęci, oprócz β_2M , pozwala wykryć nieodwracalne uszkodzenie nerek [13, 24–26]. Dużą wartość diagnostyczną ma przy narażeniu na rozpuszczalniki organiczne (toluen, styren, mieszaniny alifatycznych i aromatycznych wodorowęglanów [27].

β_2 -mikroglobulina

β_2 -mikroglobulina należy do białek błonowych o ujemnym ładunku elektrycznym i masie cząsteczkowej 11,8 kDa. Jest zbudowana ze 100 reszt aminokwasowych połączonych mostkiem disiarczkowym między dwiema cząsteczkami cysteiny w pozycjach 25 i 81. Wchodzi w skład głównego układu zgodności tkankowej HLA (*human leukocyte antigens*) i jest jego łańcuchem lekkim. W wyniku rozpadu cząsteczki HLA białko w postaci monomeru przechodzi do płynu pozakomórkowego. Znaczenie diagnostyczne ma wolna frakcja białka występująca w surowicy, moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym, ślinie, siarce [28].

β_2 -mikroglobulina prawie w całości ulega filtracji w kłębuszkach nerkowych, a następnie w 99,9% jest reabsorbowana przez cewki bliższe. Przy prawidłowym oczyszczaniu okres połowicznego zaniku wynosi 2,1 godz. Przefiltrowane białko wiąże się swoiście, z uwzględnieniem ładunku elektrycznego, z rąbkami szczoteczkowym komórek kanalików proksymalnych. Następnie za pomocą pinocytozy jest wchłaniane zwrótnie do komórek cewkowych, gdzie dochodzi do rozbicia łańcucha polipeptydowego, z wytworzeniem wolnych aminokwasów.

Wytwarzanie β_2 -mikroglobuliny u osób zdrowych utrzymuje się na stałym poziomie, a usuwanie odbywa się głównie przez nerki. U osób młodych jest wydalane z moczem 100–150 $\mu\text{g}/24$ godz., u osób starszych około 250 $\mu\text{g}/24$ godz. β_2 -mikroglobuliny. Zdrowe nerki nie wydają w ciągu doby więcej niż 370 μg tego białka. Niewielkie różnice w dobowym wydalaniu są związane z enzymatyczną degradacją w pH moczu niższym niż 5,5. Stężenie we krwi ludzi zdrowych wynosi 1,6–2,3 mg/l i zwiększa się z wiekiem do 3 mg/l po 60 r.ż. [29].

Funkcja i rola w diagnostyce

β_2 -mikroglobulina ma duże znaczenie kliniczne w ocenie czynności nerek. Wykorzystuje się zarówno jej oznaczenie w surowicy, jak i w moczu.

β_2 -mikroglobulina jest wykorzystywana do oceny wielkości przesączania kłębuszkowego (GFR). Decydują o tym takie cechy jak: względnie stałe wytwarzanie, mała masa cząsteczkowa oraz to, że jest prawie całkowicie filtrowana przez kłębuszki nerkowe. W wyniku przewlekłej niewydolności nerek obserwuje się zmniejszenie filtracji kłębuszkowej i zwiększenie stężenia β_2M w surowicy. Korzystną cechą oznaczenia GFR za pomocą β_2 -mikroglobuliny jest to, że na stężenie białka w surowicy nie wpływa ani płeć ani masa mięśniowa, co ma miejsce w przypadku oznaczania klirensu kreatyniny. Zwiększenie stężenia β_2 -mikroglobuliny w surowicy może 4–5 dni poprzedzać zwiększenie stężenia kreatyniny, co wskazuje na to, że β_2 -mikroglobulina jest bardziej czułym wskaźnikiem oceny uszkodzenia nerek.

β_2M jest filtrowana do moczu i resorbowana zwrótnie w kanaliku proksymalnym. Przy prawidłowej funkcji filtracyjnej kłębuszków nerkowych wielkość wydalania tego białka w moczu zależy od wielkości syntezy i wynikającego z niej stężenia w surowicy oraz od sprawności resorpcyjnej kanalika proksymalnego. Interpretacja wyniku wydalania tego białka musi więc uwzględniać zarówno wydolność filtracyjną, jak i wielkość syntezy, która w pewnych stanach chorobowych (choroby limfoproliferacyjne, immunopatie) może przekraczać próg nerkowej reabsorpcji [30, 31].

Oznaczenie wydalania β_2M służy do oceny czynności cewek nerkowych po narażeniu organizmu na leki i inne związki chemiczne o działaniu nefrotoksycznym. Zwiększenie stężenia β_2M jest głównym biomarkerem uszkodzenia nerek przez aminoglikozydy, rozpuszczalniki oraz metale ciężkie, takie jak kadm czy ołów [32, 33]. W badaniach populacyjnych przeprowadzonych na terenie Szwecji, Japonii i Wielkiej Brytanii stwierdzono, że zawartość β_2M w moczu jest wprost proporcjonalna do czasu trwania ekspozycji na kadm.

Tak jak w przypadku innych białek niskocząsteczkowych, oznaczanie wydalania β_2M , gdy funkcja filtracyjna kłębuszków jest prawidłowa, może być pomocne w diagnostyce zakażeń układu moczowego – ustaleniu jego umiejscowienia. Stężenie tego białka w moczu znacznie zwiększa się w przypadku zakażenia nerek w odróżnieniu od zakażenia jedynie dolnego odcinka układu moczowego. Podobnie jak w przypadku innych białek niskocząsteczkowych, wydalanie β_2M wraz z równoległą oceną albuminurii może być pomocne w różnicowaniu białkomoczu kłębuszkowego i kanalikowego. Białkomocz pochodzenia kanalikowego charakteryzuje się prawidłowym lub zwiększonym wydalaniem albuminy i zwiększonym wydalaniem β_2 -mikroglobuliny, w kłębuszkowym białko-

moczu natomiast wydalanie albuminy zwiększa się powyżej wartości prawidłowych, wydalanie zaś β_2 -mikroglobuliny nie przekracza normy [28].

Oznaczenie β_2 M może być pomocnym wskaźnikiem oceny przeszczepionej nerki. Ze względu jednak na wielość czynników wpływających zarówno na jej stężenie w surowicy, jak i czynniki wpływające na funkcję filtracyjną i kanalikową (reakcja odrzucania, uszkodzenie niedokrwienno-reperfuzyjne, toksyczne działanie leków, itp.) interpretacja wyników nie zawsze może być jednoznaczna.

Oznaczenie β_2 -mikroglobuliny stosuje się także do oceny procesu nefrogenyzy jako wskaźnika stopnia dojrzałości nerek u noworodków.

Cystatyna C

Cystatyna jest drobnocząsteczkowym białkiem, o masie 13,3 kDa. Cystatyna C jest wytwarzana przede wszystkim przez komórki jądrzaste. Należy do białek sekrecyjnych występujących w płynach ustrojowych. Stężenie tego białka w osoczu jest takie samo jak w surowicy i nie zależy od masy ciała czy płci. Jest zbudowana ze 120 reszt aminokwasowych tworzących pojedynczy łańcuch polipeptydowy, który dzięki obecności 4 reszt cysteinowych tworzy 2 pętle w pobliżu C-końca.

Duże ilości tego białka znajdują się w płynie mózgowo-rdzeniowym. Postać natywna lub jego mutanty wchodzi w skład złogów amyloidowych. Cystatyna C odgrywa prawdopodobnie rolę w regulacji procesów apoptozy, wywołanych stresem oksydacyjnym w neuronach [34].

Niewiele czynników ma wpływ na syntezę tego białka. Bardzo duże dawki glukokortykoidów przyczyniają się do zwiększonego wytwarzania cystatyny C. Choroby tarczycy dyskwalifikują użycie cystatyny C jako biomarkera oceny stopnia przesączania kłębuszkowego (GFR). W przeciwieństwie do stężenia kreatyniny stężenie cystatyny C jest mniejsze w niedoczynności tarczycy i większe w nadczynności tarczycy [35].

Funkcja i rola w diagnostyce

Kliniczne użycie surowiczej cystatyny C jako wskaźnika GFR zostało zaproponowane w 1985 r. przez Grubba [36]. W prawidłowo funkcjonującej nerce białko jest całkowicie reabsorbowane i degradowane w 99% przez komórki kanalików proksymalnych. Stężenie cystatyny C w przeciwieństwie do kreatyniny nie zależy od płci i prawie nie zależy także od wieku. Stężenie jest większe u noworodków, zwłaszcza urodzonych przedwcześnie, w stosunku do dzieci w wieku 1–3 lat i dorosłych.

Wynika to ze zmniejszonego przesączania kłębuszkowego w tej grupie wiekowej. W przeciwieństwie do surowiczej kreatyniny cystatynę C można użyć do określenia GFR noworodków, a nawet płodów. U dorosłych większe stężenie cystatyny C występuje u osób powyżej 50. r.ż. i zwiększa się powyżej 80. r.ż. Jest to związane ze zmniejszeniem GFR w starzejącej się nerce i łączy się ze wzrostem nefrotoksyczności przyjmowanych leków. Masa mięśniowa nie ma wpływu na stężenie [37].

Stężenie cystatyny C zwiększa się w osoczu już przy wartości przesączania kłębuszkowego oznaczonego za pomocą ^{125}I -jodtalamatu, obniżonej do 88 ml/min/1,73 m², kreatyniny natomiast dopiero przy zmniejszeniu do 75 ml/min/1,73 m² [13]. Surowicze stężenie cystatyny C jest zatem lepszym markerem GFR niż stężenie w surowicy innych białek, takich jak: β_2 -mikroglobuliny, białka wiążącego retinol (RBP) czy składnika dopełniacza D. Cystatynę C uważa się za przydatny biomarker GFR także z wielu praktycznych względów: łatwość wykonania oznaczenia i możliwość pominięcia dobowej zbiórki moczu.

Oznaczenie endogennej cystatyny C może być pomocne w diagnostyce zaburzenia funkcji filtracyjnej w przebiegu nefropatii o różnej etiologii. Cystatyna C może zastąpić oznaczenie klirensu kreatyniny w monitorowaniu terapii lekami nefrotoksycznymi, np. przy podawaniu leków przeciwnowotworowych [38].

Cystatyna C jest łatwo filtrowana przez błonę kłębuszkową, a następnie prawie całkowicie reabsorbowana i degradowana przez komórki kanalików proksymalnych. Z tego powodu stężenie fizjologiczne cystatyny C w moczu u dorosłych wynosi zaledwie 0,095 mg/l. U osób z zaburzeniem funkcji kanalików nerkowych stężenie to może zwiększyć się 200 razy. Zaburzenie funkcji kanalików proksymalnych zaburza reabsorpcję niskocząsteczkowych białek i zwiększa wydzielanie cystatyny C. Dlatego białko to może być użyte jako czuły marker uszkodzenia kanalików proksymalnych. U pacjentów z różnymi zaburzeniami nefrologicznymi istnieją dwie formy cystatyny C o punkcie izoelektrycznym w pH równym 9,2 i 7,8. Wykorzystanie stężenia cystatyny C w moczu jako markera zaburzenia funkcji kanalików jest trudne ze względu na małe stężenie białka w moczu oraz na to, że jest proteolitycznie degradowane w próbach moczu [39, 40].

Lizozym

Lizozym, inaczej N-acetylmuramidoglikozohydrolaza [EC 3.2.1.17], jest enzymem o małej masie cząsteczkowej 15 kDa. Składa się ze 130 reszt aminokwasowych i ma punkt izoelektryczny

w pH równy 10,5. Enzym ten ma zdolność hamowania wzrostu niektórych komórek bakteryjnych i przypisuje mu się także rolę czynnika pobudzającego wydzielanie gammaglobulin, wzmagającego skuteczność działania układu dopełniacza oraz nasilającego zarówno skuteczność granulopoezy, jak i aktywność fagocytarną granulocytów obojętnochłonnych. Lizozym katalizuje hydrolizę warstwy peptydoglikanu ściany bakteryjnej do kwasu N-acetylmuraminowego oraz do N-acetylo-D-glukozyminy. Oligosacharydy składające się z N-acetylo-D-glukozyminy są również hydrolizowane przez lizozym, ale z dużo mniejszą wydajnością. W uformowaniu kompleksu enzym–substrat uczestniczy 6 miejsc aktywnych enzymu [41].

Funkcja i rola w diagnostyce

Lizozym występuje w obojętnochłonnych granulocytach, monocytach i makrofagach. W znacznej ilości znajduje się w wielu organach, takich jak: nerki, płuca, śledziona, jelita. Jest uwalniany z leukocytów do surowicy, a następnie swobodnie filtrowany przez ścianę kłębuszków do ultrafiltratu. Podczas przepływu przez nefron lizozym jest absorbowany przez komórki kanalików proksymalnych i katabolizowany przez lizosomy. Ponieważ proces ten jest bardzo wydajny, tylko niewielkie ilości enzymu znajduje się w moczu zdrowych osobników. Kiedy dochodzi do uszkodzenia kanalików proksymalnych, w moczu pojawia się zwiększona ilość enzymu (lizozymuria). Normalnie w moczu znajduje się $0,23 \pm 0,004$ mg/l lizozymu [41].

Zwiększenie aktywności lizozymu w surowicy i moczu obserwuje się u ludzi w różnych chorobach nerek. Aktywność tego enzymu w osoczu zwiększa się wraz ze stopniem uszkodzenia funkcji filtracyjnej nerek i wykazuje znamiennej, dodatnią korelację ze stężeniem kreatyniny w surowicy krwi. Aktywność lizozymu w moczu u chorych z zaburzoną czynnością nerek może jednak zwiększać się nawet w okresie, gdy stężenie kreatyniny jest jeszcze prawidłowe [42].

Wydalanie lizozymu z moczem może być wskaźnikiem czynności przeszczepionej nerki. W surowicy osób po przeszczepie nerki stwierdza się zwiększenie aktywności tego enzymu. U chorych z prawidłową czynnością nerki przeszczepionej obserwuje się początkowo zwiększone wydalenie do moczu enzymów oraz białek o małej masie cząsteczkowej, w tym lizozymu. Można to tłumaczyć uwalnianiem enzymów z uszkodzonych i nieprawidłowo funkcjonujących komórek nerkowych, zaburzonym przesączaniem kłębuszkowym oraz niewystarczającymi zdolnościami reabsorpcyjno-katabolicznymi cewek nerkowych.

Po 5–10 dniach po transplantacji nerki aktywność lizozymu w moczu zmniejsza się, osiągając stały poziom. Zmniejszenie wydalenia lizozymu do moczu jest bardzo czułym wskaźnikiem prawidłowej czynności cewek proksymalnych, które sprawnie usuwają z krwi jego nadmiar [43].

Ludzka obojętnochłonna lipokalina

Ludzka obojętnochłonna lipokalina (HNL) lub inaczej lipokalina obojętnochłonna związana z żelatynazą (NGAL) jest białkiem należącym do rodziny lipokalin. Ma masę cząsteczkową 25 kDa i punkt izoelektryczny w pH równy 8,4. Zawiera 178 reszt aminokwasowych. Występuje w ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych. Jest białkiem sekrecyjnym. Tak jak i inne białka ze swojej rodziny, ma strukturę β -beczułki z hydrofobowym wnętrzem, przez które transportuje różne ligandy. HNL występuje w płucach, jelitach, tchawicy, żołądku, także w nerkach w kanaliku proksymalnym. W surowicy jej stężenie wynosi 78,4 μ g/l. Ma zdolność wiązania małych formylowych peptydów pochodzenia bakteryjnego, które zachowują się jak czynniki chemotaktyczne i powodują uwolnienie ziarnistości z leukocytów. HNL jest w związku z tym zaangażowana w procesy zapalne w komórkach. Ekspresja HNL jest pobudzana przez uszkodzone nabłonki. Zwiększone stężenie białka w surowicy występuje u pacjentów z ostrą infekcją bakteryjną, w ślinie chorych na astmę. W nerkach po ischemii synteza NGAL w kanalikach proksymalnych jest zwiększona, co sugeruje, że jej wytwarzanie przez uszkodzone kanaliki proksymalne ma pobudzić powstanie nowego nabłonka. HNL wzmacnia dostarczanie żelaza do kanalików proksymalnych, a żelazo pobudza syntezę oksygenazy – enzymu ochraniającego komórki kanalika. Przypuszcza się więc, że ludzka obojętnochłonna lipokalina może wzmacniać naprawę uszkodzonych kanalików po ostrej niewydolności nerek [44–47].

Funkcja i rola w diagnostyce

HNL jest nowo odkrytym biomarkerem uszkodzenia nerek. Jego funkcja biologiczna nie jest w pełni poznana. Mishra et al. [48] zaproponowali użycie HNL jako biomarkera w celu wczesnego wykrycia ostrej niewydolności nerek u chorych po operacji serca, ponieważ niewydolność nerek rozwija się u 40% pacjentów po tym zabiegu. Uzyskane wyniki potwierdziły użyteczność tego białka jako wczesnego wskaźnika ostrej niewydolności nerek. U wszystkich dzieci, u których na-

stąpiła ostra niewydolność nerek po operacji serca, zaobserwowano bardzo duży wzrost moczowego stężenia HNL po 2 godz. od zabiegu. Dla porównania, stężenie surowiczej kreatyniny zwiększyło się po 1–3 dniach od chwili zastosowania krążenia pozaustrojowego. U dzieci, u których nie nastąpił rozwój niewydolności nerek, zaobserwowano bardzo małe zwiększenie stężenia HNL w moczu.

Badano także HNL jako wskaźnik nefrotoksyczności wywołanej przez cisplatynę w modelu doświadczalnym u szczurów. Zaobserwowano zwiększenie wydalania HNL do moczu po 3 godzinach od podania leku. Dla porównania, zwiększenie aktywności NAG następowało dopiero po 96 godzinach. Wykazano, że stężenie HNL w moczu koreluje z dawką nefrotoksyny. Nawet w przypadku subklinicznych dawek cisplatyny następowało zwiększenie wydalania HNL do moczu, podczas gdy surowicze stężenie kreatyniny było niezmienione [49]. Przedstawione przykłady zastosowania HNL w diagnostyce uszkodzenia nerek sygnalizują możliwą przydatność tego białka w praktyce klinicznej jako wczesnego wskaźnika uszkodzenia w odpowiedzi na ischemię lub czynnik toksyczny, wykrywanego jeszcze przed rozwinięciem się pełnoobjawowej niewydolności nerek.

Podsumowanie

Przegląd najnowszej literatury pozwolił przedstawić możliwości wykorzystania niskocząsteczkowych wskaźników do oceny czynności nerek. Dotychczasowe badania kliniczne, biorące pod uwagę makroproteinurię, klirens kreatyniny, badania histologiczne (biopsja) są niewystarczające z powodu małej dokładności lub dużej inwazyjności. Pojawienie się najbardziej charakterystycznych objawów klinicznych uszkodzenia nerek następuje zwykle zbyt późno, aby podjęcie właściwej terapii było możliwe jeszcze w fazie odwracalnej, co mogłoby spowodować cofnięcie się zmian patologicznych w obrębie nefronu. Istnieje zatem potrzeba poszukiwania nowych biomarkerów, które odznaczałyby się większą czułością i selektywnością, które rozpoznawałyby miejsce uszkodzenia nefronu i jego rozległość. Powinny one wykrywać wczesne zaburzenia funkcjonalne i metaboliczne w nerkach, a także przedstawiać dynamikę procesu chorobowego. Niniejszy przegląd może być pomocnym opracowaniem dla toksykologów doświadczalnych i klinicznych. Wydaje się, że wartość przedstawionych wskaźników niskocząsteczkowych nie jest jeszcze w pełni doceniana przez klinicystów.

Piśmiennictwo

- [1] **Sancewicz-Pach K, Ogarek I:** Leki i substancje potencjalnie nefrotoksyczne. *Przegl Lek* 2001, 58, 4, 186–190.
- [2] **Klaassen CD:** Casarett & Doull's toxicology, The Basic Science of Poisons. International Edition, New York 1996, 14, 426–432.
- [3] **Kopeć M:** Udział aneksyn w regulacji krzepnięcia krwi i fibrynolizy. *Acta Haematol Pol* 1998, 29, 2, 147–155.
- [4] **Ząbek J, Wojciechowska B, Alekberova Z, Reshetniak T, Biernacka E, Nasonova V, Karlik W:** Przeciwciała dla aneksyny V jako nowy wskaźnik ryzyka zakrzepic i poronień w toczeniu rumieniowatym układowym (SLE) oraz w zespole antyfosfolipidowym pierwotnym (PAPS) i wtórnym (SAPS). *Reumatologia* 2003, 41, 1, 12–24.
- [5] **Matsuda R, Kaneko N, Horikawa Y, Chiwaki F, Shinozaki M, Ieiri T, Suzuki T, Ogawa N:** Localization of annexin V in rat normal kidney and experimental glomerulonephritis. *Res Exp Med* 2001, 200, 2, 77–92.
- [6] **Matsuda R, Kaneko N, Horikawa Y, Chiwaki F, Shinozaki M, Abe S, Yumura W, Nihei H, Ieiri T:** Measurement of urinary annexin V by ELISA and its significance as a new urinary-marker of kidney disease. *Clin Chim Acta* 2000, 298, 29–43.
- [7] **Bengtsson AA, Sturfelt G, Gullstrand B, Truedsson L:** Induction of apoptosis in monocytes and lymphocytes by serum from patients with systemic lupus erythematosus – an additional mechanism to increased autoantigen load? *Clin Exp Immunol* 2004, 135, 535–543.
- [8] **Allhorn M, Berggard T, Nordberg J, Asson ML, Akerstrom B:** Processing of the lipocalin α_1 -microglobulin by hemoglobin induces heme-binding and heme-degradation properties. *Blood* 2002, 99, 6, 1894–1901.
- [9] **Akerstrom B, Logdberg L, Berggard T, Osmark P, Lindgvista A:** α_1 -microglobulin: a yellow-brown lipocalin. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1482, 172–174.
- [10] **Mantur M, Kemona H, Dąbrowska M, Dąbrowska J, Sobolewski S, Prokopowicz J:** Alpha1-microglobulin as a marker of proximal tubular damage in urinary tract infection in children. *Clin Nephrol* 2000, 53, 4, 283–287.
- [11] **Hong CY, Hughes K, Chia KS, Ng V, Ling SL:** Urinary alpha1-microglobulin as a marker of nephropathy in type 2 diabetic Asian subjects in Singapore. *Diabetes Care* 2003, 26, 338–341.
- [12] **Holdt-Lehmann B, Lehmann A, Korten G, Nagel HR, Nizze H, Schuff-Werner P:** Diagnostic value of urinary alanine aminopeptidase and N-acetyl- β -D-glucosaminidase in comparison to α_1 -microglobulin as a marker in evaluating tubular dysfunction in glomerulonephritis patients. *Clin Chim Acta* 2000, 297, 93–102.
- [13] **Moriguchi J, Ezaki T, Tsukahara T, Furuki K, Fukui Y, Okamoto S, Ukai H, Sakurai H, Stumbo S, Ikeda M:** Comparative evaluation of four urinary tubular dysfunction markers with special references of aging and correction for creatinine concentration. *Toxicol Lett* 2003, 143, 279–290.
- [14] **Herman MB, Lammert M, Selinski S, Brüning T:** Urinary α_1 -microglobulin excretion as biomarker of renal toxicity in trichloroethylene-exposed persons. *Int Arch Occup Environ Health* 2004, 77, 186–190.

- [15] **Bernard A, Lauwerys R:** Low-molecular-weight proteins as markers of organ toxicity with special reference to Clara cell protein. *Toxicol Lett* 1995, 77, 145–151.
- [16] **Bernard AM, Thielemans NO, Lauwerys RR:** Urinary protein 1 or Clara cell protein: a new sensitive marker of proximal tubular dysfunction. *Kidney Int* 1994, 47, 34–37.
- [17] **Shijubo N, Kawabata I, Sato N, Itoh Y:** Clinical Aspects of Clara Cell 10-kDa Protein/Uteroglobulin (Secretoglobulin 1A1). *Curr Pharm Des* 2003, 9, 14, 1139–1149.
- [18] **Raghu P, Ravinder P, Sivakumar B:** A new method for purification of human plasma retinol-binding protein and transthyretin. *Biotechnol Appl Biochem* 2003, 38, 19–24.
- [19] **Yamada K, Matsuoka Y, Yamamoto A, Kawana T, Ishii K, Ishimi Y, Ikegami S:** Elevation of plasma retinol binding protein concentration in experimental acute renal failure. *Nutr Res* 1997, 17, 10, 1555–1567.
- [20] **Sundaram M, Aalten D, Findlay J, Sivaprasadarao A:** The transfer of transthyretin and receptor-binding properties from the plasma retinol-binding protein to the epididymal retinoic acid-binding protein. *Biochem J* 2002, 362, 265–269.
- [21] **Camara NO, Silva MS, Nishida S, Pereira AB, Pacheco-Silva A:** Proximal tubular dysfunction is associated with chronic allograft nephropathy and decreased long-term renalgraft survival. *Transplantation* 2004, 78, 269–275.
- [22] **Kirsztajn GM, Nishida SK, Silva MS, Azjen H, Pereira AB:** Urinary retinol binding protein as a prognostic marker in the treatment of nephrotic syndrome. *Nephron* 2000, 86, 109–114.
- [23] **Bang LE, Holm J, Svendsen T:** Retinol-Binding Protein and Transferrin in Urine. New Marker of Renal Function in Essential Hypertension and White Coat Hypertension? *Am J Hypertens* 1996, 9, 1024–1028.
- [24] **Buchet JP, Heilier JF, Bernard A, Lison D, Jin T, Wu X, Kong Q, Nordberg G:** Urinary protein excretion in humans exposed to arsenic and cadmium. *Int Arch Occup Environ Health* 2003, 76(2), 111–120.
- [25] **de Burbure C, Buchet JP, Bernard A, Leroyer A, Nisse C, Haguenoer JM, Bergamaschi E, Mutti A:** Biomarkers of renal effects in children and adults with low environmental exposure to heavy metals. *J Toxicol Environ Health A* 2003, 66, 783–798.
- [26] **Weaver VM, Lee BK, Todd AC, Jaar BG, Ahn KD, Wen J, Shi W, Parsons PJ, Schwartz BS:** Associations of patella lead and other lead biomarkers with renal function in lead workers. *J Occup Environ Med* 2005, 47, 235–243.
- [27] **Voss JU, Roller M, Brinkmann E, Mangelsdorf I:** Nephrotoxicity of organic solvents: biomarkers for early detection. *Int Arch Occup Environ Health* 2005, 78, 475–485.
- [28] **Kamińska A, Jung A, Olszewski S:** β_2 -mikroglobulinuria u dzieci z odplywami pęcherzowo-moczowymi i nawracającymi zakażeniami układu moczowego. *Pol Merk Lek* 2000, 8, 240–241.
- [29] **Wiela-Hojeńska A, Hurkacz M:** Znaczenie β_2 -mikroglobuliny w diagnostyce i terapii. *Postepy Hig Med Dośw* 1998, 52, 507–514.
- [30] **Kuźniar J, Marchewka Z, Krasnowski R, Długosz A, Klinger M:** Wykorzystanie wydalania w moczu białek drobnocząsteczkowych oraz enzymów jako wskaźników uszkodzenia śródmiąższowego w glomerulopatiach. *Adv Clin Exp Med* 2003, 12, 305–313.
- [31] **Marchewka Z, Kuźniar J, Długosz A:** Enzymuria and β_2 -mikroglobulinuria in the assessment of the influence of proteinuria on the progression of glomerulopathies. *Int Urol Nephrol* 2001, 33, 673–676.
- [32] **Marchewka Z:** Wartość diagnostyczna transferaz glutationowych i innych parametrów biochemicznych w moczu jako wczesnych wskaźników uszkodzenia nerek. *Diagn Lab* 2004, 40, 567–572.
- [33] **Marchewka Z, Długosz A:** Wybrane wskaźniki biochemiczne w moczu w ocenie funkcji nerki pracowników narażonych na benzynę. *Bromat Chem Toksykol* 2003, 36, 155–159.
- [34] **Warwas M, Murawska E:** Ludzka cystatyna C. *Diagn Lab* 1991, 27, 71–73.
- [35] **Filler G, Bokenkamp A, Hofman W, Le Bricon T, Martinez-Bru C, Grubb A:** Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research. *Clin Biochem* 2005, 38, 1–8.
- [36] **Grubb A:** Cystatin C-Properties and use as diagnostic marker. *Adv Clin Chem* 2001, 35, 64–91.
- [37] **Mussap M, Plebani M:** Biochemistry and Clinical Role of Human Cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2004, 41, 467–550.
- [38] **Bardi E, Bobok I, Olah VA, Olah E, Kappelmayer J, Kiss C:** Cystatin C is a suitable marker of glomerular function in children with cancer. *Pediatr Nephrol* 2004, 19, 1145–1147.
- [39] **Piowar A, Warwas M:** Cystatyna C jako wskaźnik przesączania kłębuszkowego nerek. *Postepy Hig Med Dosw* 2001, 55, 687–695.
- [40] **Uchida K, Gotoh A:** Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002, 103, 121–128.
- [41] **Jung K, Mattenheimer H, Burchardt U:** Urinary enzymes in clinical and experimental medicine. Springer-Verlag, Berlin 1992.
- [42] **Hrycek A, Szoltyś I, Grzeszczak W:** Aktywność lizozymu w surowicy krwi nierozcieńczonej i rozcieńczonej u chorych po przeszczepie nerki leczonych cyklosporyną A z prednizonem lub azatiopryną z prednizonem. *Pol Arch Med Wewn* 1992, 88, 12–17.
- [43] **Price RG:** Early markers of nephrotoxicity. *Comp Clin Path* 2002, 11, 1–7.
- [44] **Coles M, Diercks T, Muehlenweg B, Bartsch S, Zölzer V, Tschesche H, Kessler H:** The Solution Structure and Dynamics of Human Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin. *J Mol Biol* 1999, 289, 139–140.
- [45] **Flower D:** The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 1996, 318, 1–14.
- [46] **Mishra J, Qing MA, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P:** Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003, 14, 2534–2539.

- [47] **Xu S, Venge P:** Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochim Biophys Acta* 2000, 1482, 303–304.
- [48] **Mishra J, Dent K, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Sheo M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P:** Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005, 365, 1231–1238.
- [49] **Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Barasch J:** Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin: A Novel Early Urinary Biomarker for Cisplatin Nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 2004, 24, 307–315.

Adres do korespondencji:

Zofia Marchewka
Chair and Department of Toxicology
Silesian Piasts University of Medicine
ul. Traugutta 57/59
50-417 Wrocław
Poland
tel.: +48 71 344 43 75
e-mail: zomar@tox.am.wroc.pl

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 8.08.2006 r.
Po recenzji: 29.09.2006 r.
Zaakceptowano do druku: 27.10.2006 r.

Received: 8.08.2006
Revised: 29.09.2006
Accepted: 27.10.2006