

Łukasz Dobrek^{1,✉}

Piotr J. Thor^{1,2}

¹Katedra Patofizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, Kraków

²Zakład Fizjologii Człowieka Wydziału Medycznego Uniwersytetu Rzeszowskiego, Rzeszów

✉Katedra Patofizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, ul. Czysa 18, 31-121 Kraków; tel.: (12) 633 39 47, e-mail: lukasz.d@mp.pl

Słowa kluczowe: ostre uszkodzenie nerek, przewlekła choroba nerek, cystatyna C, lipokalina związana z żelatyną neutrofilii (NGAL), cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), białko α Klotho

Artykuł otrzymano 11 lipca 2016 r.

Artykuł zaakceptowano 15 września 2016 r.

Wykaz skrótów: AKI (ang. *acute kidney injury*) – ostre uszkodzenie nerek; ATN (ang. *acute tubular necrosis*) – ostra martwica kanalikowa; CKD (ang. *chronic kidney disease*) – przewlekła choroba nerek; CysC (ang. *cystatin C*) – cystatyna C; GFR (ang. *glomerular filtration rate*) – szybkość przesączania kłębuszkowego; KIM-1 (ang. *kidney injury molecule-1*) – cząsteczka-1 uszkodzenia nerek; NGAL-1 (ang. *neutrophil gelatinase associated lipocalin-1*) – lipokalina-1 związana z żelatyną neutrofilii; P_i – fosforany

STRESZCZENIE

Ostre uszkodzenie nerek (AKI) jest istotnym problemem klinicznym, rozwijającym się u hospitalizowanych pacjentów w wyniku nagłego pogorszenia funkcji nerek. Natomiast w następstwie przewlekłych glomerulopatii, cewkowo-śródmiąższowych chorób nerek, nawracających odmiedniczkowych zapaleń nerek, kamicy lub chorób systemowych uszkadzających nerki (nadciśnienie tętnicze, cukrzyca) rozwija się przewlekła choroba nerek (CKD). Wczesne rozpoznanie AKI pozwala na wdrożenie odpowiedniej terapii, co w części przypadków zabezpiecza przed nieodwracalnymi powikłaniami prowadzącymi do zgonu chorego. Analogicznie, właściwa ocena biochemiczna pozwala na monitorowanie przebiegu CKD, co zmniejsza ryzyko powstania przewlekłych powikłań i rozwoju pełnoobjawowej, przewlekłej niewydolności nerek. Stąd, wciąż są poszukiwane nowe parametry laboratoryjne, obdarzone wysoką czułością i specyficznością, umożliwiające wiarygodne rozpoznanie AKI lub zaawansowanie CKD. Niniejsza praca koncentruje się na omówieniu roli czterech białek: cystatyny C, lipokaliny 1 związanej z żelatyną neutrofilii (NGAL-1), cząsteczki uszkodzenia nerek (KIM-1) oraz białka α Klotho jako nowych biomarkerów w diagnostyce AKI/CKD.

WPROWADZENIE – OSTRE USZKODZENIE NEREK I PRZEWLEKŁA CHOROBA NEREK

Laboratoryjna ocena funkcji nerek jest istotnym elementem diagnostyki schorzeń tego narządu z uwagi na fakt, iż postępujące uszkodzenie nerek klinicznie przebiega długo bez- lub skąpoobjawowo. Nerki są narządem spełniającym funkcję wydalniczą, ale i szeroko rozumianą funkcję metaboliczną i endokrynną. Najistotniejsza, wydalnicza funkcja nerek obejmuje trzy zasadnicze procesy: filtrację kłębuszkową oraz sekrecję i resorpcję kanalikową.

Procesem o największym znaczeniu umożliwiającym nerkową eliminację (klirens) endo- i egzogennych substancji z moczem jest filtracja kłębuszkowa, w związku z tym głównym parametrem odzwierciedlającym funkcję nerek jest szybkość przesączania kłębuszkowego, najczęściej wyrażana w [ml/min/1,73m² powierzchni ciała], GFR (ang. *glomerular filtration rate*, współczynnik przesączania kłębuszkowego, wskaźnik filtracji kłębuszkowej). Obliczenie GFR, jako laboratoryjnej metody szacowania klirensu nerkowego, wymaga podania pacjentowi znakowanej (np. radioizotopowo) substancji ulegającej selektywnej filtracji i przechodzących do moczu, jak znakowany chromem kwas etylenodiaminotetraoctowy (Cr-EDTA) lub znakowany technetem dietylenotriaminopentaocetan (Tc-DTPA) [1]. Z uwagi na kosztowność i niepraktyczność (wymaga to dokonania dobowej zbiórki moczu), metody te są rzadko stosowane w powszechnej praktyce klinicznej. Stąd, laboratoryjnym surogatem oceny klirensu nerkowego jest pomiar osoczkowego stężenia kreatyniny. Jest to endogenne związku będący bezwodnikiem kreatyny, produktu przemian metabolicznych białek. Kreatyna występuje w mięśniach szkieletowych (w zdecydowanie mniejszych ilościach również w mózgu i wątrobie), gdzie ulegając fosforylacji przechodzi w fosfokreatynę, podstawowy związek energetyczny tkanki mięśniowej. Rozpad fosforanu kreatyny prowadzi do powstania kreatyniny, która ulega w przeważającej mierze filtracji kłębuszkowej, zatem podwyższone osoczkowe stężenie tego związku ujemnie koreluje z wielkością GFR [2]. Ponadto, dysponując oznaczeniem osoczkowego stężenia kreatyniny, istnieje możliwość obliczenia wartości GFR (eGFR, ang. *estimated GFR*), korzystając z empirycznych wzorów (np. Cockcrofta-Gaulta lub MDRD opracowanego w badaniu *Modification of Diet in Renal Disease*), opartych na stwierdzonym osoczkowym stężeniu kreatyniny oraz danych antropometrycznych pacjenta (rasa, wiek, płeć, masa ciała), uniezależniając się tym samym od konieczności pomiaru dobowej diurezy [1].

Kreatynina nie jest jednak idealnym biomarkerem nieprawidłowego funkcjonowania nerek. Na jej stężenie wpływa szereg czynników, jak wiek (wzrost stężenia u młodych osób), płeć (wyższe wartości stwierdzane u mężczyzn), kon-

stytucja ciała (wzrost stężenia u osób z dużą masą mięśniową) oraz dieta (spożywanie pokarmów bogatych w białka powoduje do około 10% wzrostu stężenia) [3]. Ponadto, dodatkowym elementem wpływającym na osoczowe stężenie kreatyniny jest fakt, iż związek ten jest również w niewielkim w porównaniu do filtracji stopniu wydalaný do pramoczu przez kanalikę proksymalne [3,4]. Sekrecja ta jest tym większa, im większe jest wyjściowe stężenie kreatyniny w osoczu, co może przyczyniać się do błędnego zawyżania szacunku filtracji kłębuszkowej.

Postępujące upośledzenie wydalniczej funkcji nerek może być ujawnione w rutynowych badaniach laboratoryjnych, oceniających przede wszystkim GFR. Jednakże zaburzenia laboratoryjne ujawniają się stosunkowo późno, równolegle towarzysząc podmiotowym i przedmiotowym objawom uszkodzenia nerek. Wczesna, inicjacyjna faza wielu chorób nerek jest klinicznie i laboratoryjnie utajona.

Uwaga ta odnosi się szczególnie do ostrego uszkodzenia nerek (AKI, ang. *acute kidney injury*). Pojęcie to obecnie zastąpiło dawniej stosowany termin „ostrej niewydolności nerek”. AKI jest definiowane jako szybkie upośledzenie funkcji nerek skutkujące azotemią (retencją związków azotowych fizjologicznie wydalaných przez nerki, jak mocznik i kreatynina) [5]. Patofizjologicznie, AKI jest konsekwencją oddziaływania na nerki czynników toksycznych lub powo-

dujących ischamię tego narządu, bądź rozwija się w wyniku zaburzeń przednerkowych lub zanerkowych. Przednerkowe czynniki etiologiczne AKI, jak hipowolemia, uogólniona wazodylatacja z hipotensją lub gwałtowne zmniejszenie pojemności minutowej serca, doprowadzają w finale do zmniejszenia nerkowego przepływu krwi i w konsekwencji do zmniejszenia efektywnego ciśnienia filtracji kłębuszkowej. Podobnie, czynniki zanerkowe, powodujące ucisk na wewnątrz- lub zewnątrznerkowe drogi wyprowadzające mocz, skutkują wzrostem ciśnienia hydrostatycznego w drogach moczowych, przekraczającego ciśnienie kłębuszkowe, co również hamuje efektywne ciśnienie filtracyjne. Wspólną drogą patofizjologiczną AKI, niezależną od natury czynnika etiologicznego, jest rozwój ostrej martwicy kanalikowej (ATN, ang. *acute tubular necrosis*), czyli nieodwracalnej, morfologicznej destrukcji cewek nerkowych, powodującej niewydolność nerek [5].

Klasyfikacja AKI oparta jest na wytycznych *Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group* (2004) [6], *Acute Kidney Injury Network* (2007) [7] oraz ostatnio opublikowanego opracowania *Kidney Disease Improving Global Guidelines (KDIGO) Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury* (2012) [8]. Wytyczne te bazują na ocenie osoczowego stężenia kreatyniny, godzinowej diurezy oraz estymowanej wartości szybkości filtracji kłębuszkowej eGFR. Są one przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Porównanie kryteriów diagnostycznych ostrego uszkodzenia nerek (AKI, ang. *acute kidney injury*);

Klasyfikacja	Opis	osoczowe stężenie kreatyniny	GFR	diureza	kryteria czasowe
RIFLE [6]	ryzyko (ang. <i>risk</i>)	≥ 1,5-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej	zmniejszenie GFR o ≥ 25%	< 0,5 ml/kg/h od 6 h	zmiany kreatyniny obserwowane w ciągu 7 dni; utrzymują się dłużej niż 24h
	uszkodzenie (ang. <i>injury</i>)	≥ 2-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej	zmniejszenie GFR o ≥ 50%	< 0,5 ml/kg/h od 12 h	
	niewydolność (ang. <i>failure</i>)	≥ 3-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej	zmniejszenie GFR o ≥ 75%	< 0,3 ml/kg/h od 24 h lub utrzymująca się anuria od 24 h	
	utrata funkcji (ang. <i>loss of kidney function</i>)				przetrwiała niewydolność nerek przez > 4 tygodnie
	schyłkowa niewydolność nerek (ang. <i>end stage kidney disease</i>)				utrwalona niewydolność nerek przez > 3 miesiące
AKIN [7]	stopień 1	wzrost stężenia > 26,2 μmol/l lub wzrost ≥ 150–199% od wartości wyjściowej	zmniejszenie GFR o ≥ 25%	< 0,5 ml/kg/h od 6 h	zmiany stężenia kreatyniny oceniane podczas 48 h
	stopień 2	wzrost ≥ 200–299% od wartości wyjściowej	zmniejszenie GFR o ≥ 50%	< 0,5 ml/kg/h od 12 h	
	stopień 3	wzrost 300% od wartości wyjściowej lub stężenie > 354 μmol/l z nagłym wzrostem o co najmniej 44 μmol/l	zmniejszenie GFR o ≥ 75%	< 0,3 ml/kg/h od 24 h lub utrzymująca się anuria od 24 h	
KDIGO [8]	stopień 1	≥ 1,5–1,9-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej * lub wzrost o 0,3 mg/dl **		< 0,5 ml/kg/h przez 6–12h	*zmiana stężenia kreatyniny w ciągu 7 dni; **obserwowany wzrost w ciągu 48 h
	stopień 2	≥ 2–2,9-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej		< 0,5 ml/kg/h przez 12–24 h	
	stopień 3	≥ 3-krotny wzrost w stosunku do wartości wyjściowej lub kreatynina > 4 mg/dl (354 μmol/l) lub rozpoczęcie leczenia nerkozastępczego		< 0,3 ml/kg/h przez > 24 h lub utrzymująca się anuria przez > 24 h	

Klasyfikacja przedstawiona powyżej wskazuje, iż przedłużające się AKI może przechodzić w fazę przewlekłej choroby nerek (CKD, ang. *chronic kidney disease*), w finale manifestującej się przewlekłą niewydolnością nerek (ang. *kidney failure*). CKD może być również następstwem wszystkich pierwotnych, przewlekłych schorzeń nerek, jak i obecnie często występujących chorób cywilizacyjnych: otyłości, cukrzycy oraz nadciśnienia tętniczego [9]. W myśl obecnie obowiązujących wytycznych, przewlekła choroba nerek jest wieloobjawowym zespołem chorobowym powstałym w wyniku trwałego uszkodzenia i zmniejszenia liczby czynnych nefronów niszczonych przez różnorodne procesy chorobowe toczące się w mięszu nerek [9]. Definicja ta została ustalona przez zespół ekspertów wchodzących w skład *Kidney Disease Outcome Quality Initiative* (KDOQI) w 2002 roku [10], a następnie potwierdzona przez *Kidney Disease Improving Global Outcome* (KDIGO) [11]. CKD jest zaburzeniem nerek, trwającym co najmniej 3 miesiące, manifestującym się markerami uszkodzenia (jak: albuminuria 30mg/24h, zaburzenia elektrolitowe, patologiczne wyniki oceny histologicznej tkanki nerki, nieprawidłowości ujawniane w badaniach obrazowych) lub zmniejszeniem wartości GFR < 60 ml/min/1,73 m² przebiegającym z w/w markerami lub bez, mające negatywny wpływ na stan zdrowia [12]. W zależności od wartości GFR, określany jest stopień zaawansowania CKD na kilka etapów wymienionych w tabeli 2.

Obecne dane wskazują, iż na CKD choruje w Polsce około 4 miliony osób, a wydaje się, iż choroba ta występuje znacznie częściej niż dotychczas sądzono, będąc długo nierozpoznaną z uwagi na jej długo utajony przebieg w fazie G1 i G2 [9]. Stąd, istotną rolę pełni wnikliwa i dokładna diagnostyka dysfunkcji nerek, umożliwiająca wiarygodną detekcję wczesnych, klinicznie niemych zaburzeń.

Jakkolwiek obecnie pomiar osoczowego stężenia kreatyniny (wraz z oceną stężenia mocznika oraz elektrolitów) wciąż pozostaje najprostszą i najbardziej wykorzystywaną w praktyce klinicznej metodą oceny funkcji nerek, z uwagi na ograniczenia wspomniane powyżej dotyczące szczególnie kreatyniny, trwają poszukiwania nowych biomarkerów nieprawidłowego funkcjonowania nerek.

Laboratoryjnie, „biomarker” może być zdefiniowany jako związek, który jest obiektywnie mierzalny i stosowany jako wskaźnik korelujący z odpowiedzią fizjologiczną bądź procesem patologicznym, bądź odpowiedzią na zastosowany środek farmakologiczny lub inną interwencję

terapeutyczną [13]. Idealny biomarker nerkowy powinien spełniać szereg kryteriów: być powtarzalnie mierzony standardyzowanymi, zwalidowanymi, powszechnie dostępnymi metodami, łatwy do interpretacji, obdarzony odpowiednią czułością i swoistością, być związany z określonym czynnikiem etiologicznym powodującym dysfunkcję nerek, korelować z obrazem histopatologicznym, być wykrywanym już we wczesnej fazie uszkodzenia nerek [14,15].

W aktualnej diagnostyce laboratoryjnej zarówno AKI, jak i CKD, brak jest markera odzwierciedlającego zwłaszcza wczesną fazę uszkodzenia nerek. Niemniej jednak, obecnie proponuje się kilka związków jako biomarkerów (troponiny nerkowe) odzwierciedlających czynność nerek w lepszy sposób niż dotychczas wykorzystywana kreatynina. Niniejsza praca omawia część z nich. Są to: cystatyna C, lipokalina 1 związana z żelatynazą neutrofilii (NGAL-1), cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (KIM-1) oraz białko α Klotho. Pozostałymi są między innymi: interleukina-18, wątrobowe białko wiążące kwasy tłuszczowe L-FABP, α -1 mikroglobulina lub N-acetylo- β -D-glukozaminidaza (NAG).

CYSTATYNA C

STRUKTURA CYSTATYNY C I JEJ ZNACZENIE BIOLOGICZNE

Cystatyna C (CysC) to nieglikozylowane białko o charakterze zasadowym, kodowane przez gen zlokalizowany na chromosomie 20, wytwarzane przez wszystkie ludzkie komórki. Nazwa „cystatyna” została wprowadzona przez Alana J. Barretta w 1981 roku, który wyizolował z jajka kurzego związek posiadający zdolność do hamowania lizosomalnych proteinaz cysteinowych takich jak ficyna lub papaína [16]. Białko to zbudowane jest z 120 reszt aminokwasowych o masie około 13,3-13,6 kDa (w zależności od stopnia hydroksylacji reszty proliny) i posiada dwa wiązania disiarczkowe (73-83 oraz 97-117). Związek ten ma charakter dimeru i zawiera domeny składające się z pięcioniciowej beta-harmonijki owiniętej wokół alfa-helisy drugiego łańcucha. Białko to syntetyzowane jest z propeptydu dodatkowo zawierającego 26-aminokwasowy fragment ulegający N-proteolitycznej degradacji [17].

Cystatyna C należy do nadrodziny cystatyn, dzielonych pod względem struktury i lokalizacji na trzy główne podgrupy. Wyróżnia się cystatyny klasy 1, tak zwane stefiny, obejmujące zbudowane z 98 reszt aminokwasowych peptydy (cystatyna A i B), 100-150 reszt aminokwasowych cystatyny klasy 2 (klasy C, D, E, M, F, SA, SN) oraz około 430 reszt aminokwaso-

Tabela 2. Klasyfikacja przewlekłej choroby nerek (CKD, ang. *chronic kidney disease*)

Stadium	GFR [ml/min/1,73 m ²]	Komentarz wartości GFR	Określenie stadium CKD	
G1	≥ 90	normalna lub zwiększona	CKD z prawidłowym lub zwiększonym GFR	CKD z zachowaną funkcją nerek
G2	60–89	nieznacznie obniżona	łagodna CKD	utajona CKD
G3a	45–59	nieznacznie / umiarkowanie obniżona	umiarkowana CDK	jawna wyrównana CKD
G3b	30–44	umiarkowanie / znacznie obniżona		
G4	15–29	znacznie obniżona	ciężka CKD	jawna niewyrównana CKD
G5	< 15	niewydolność	schyłkowa CKD	

wych cystatyny klasy 3 będące kininogenami [18]. Cystatyny klasy 1 są zlokalizowane wewnątrzkomórkowo, choć mogą być też wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Przypisuje się im zasadniczą rolę w komórkowej odpowiedzi na zakażenie wirusowe (hamowanie apoptozy). Cystatyny klasy 3, kininogeny, są głównie osoczowymi białkami ssaków, które oprócz hamowania peptydaz cysteinyłowych pełnią rolę jednego z osoczowych mediatorów zapalenia, jak i regulują przepływ krwi. Najobszerniejszą grupę stanowią cystatyny klasy 2, do której należy CysC. Początkowo, badaniami immunohistochemicznymi potwierdzono obecność tego białka w części gruczołowej przysadki mózgowej, tarczycy, rdzeniu nadnerczy oraz trzustce. Jednak dalsze badania wykazały, że cystatyna C nie jest białkiem tkankowo-specyficznym i powszechnie występuje w organizmie człowieka; jest wydzielana przez makrofagi, neurony i astrocyty ośrodkowego układu nerwowego, fibroblasty i komórki śródbłonna [19,20]. Zasadniczym miejscem katabolizmu cystatyny C są nerki. Białko to łatwo przekracza błonę filtracyjną nerek, nie podlegając czynnej sekrecji kanalikowej. Natomiast w obrębie cewek proksymalnych część białka podlega reabsorpcji i enzymatycznej degradacji w lizosomach [20].

Fizjologicznie, cystatyna C jak i pozostałe cystatyny klasy 2, pełni 4 zasadnicze funkcje: 1. bezpośrednio hamuje endogenne lub egzogenne cysteinyłowe peptydazy białkowe; 2. moduluje funkcje układu immunologicznego; 3. wykazuje właściwości przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne; 4. pełni funkcje w neuroprotekcji po uszkodzeniu mózgu. Rola cystatyny C jako inhibitora proteolizy macierzy zewnątrzkomórkowej. W ścianach naczyń krwionośnych objętych procesem miażdżycowym, synteza cystatyny C jest niska, w przeciwieństwie do normalnych naczyń, co świadczy o zaburzeniu równowagi pomiędzy cystatyną C a proteazami z grupy katepsyn K i S, co przyczynia się do remodellingu ściany naczyniowej [20]. Ponadto, wysoki poziom cystatyny C został wykryty w osteoklastach, hamując aktywność lokalnie syntetyzowanej katepsyny K [19,20]. Zaburzenie równowagi pomiędzy cystatynami klasy 2, a proteinazami cysteinyłowymi zostało opisane w przewlekłych stanach zapalnych tkanki płucnej, co przyczynia się do uszkodzenia tkanki łącznej [20]. Wpływ cystatyny C na funkcje układu immunologicznego polega na regulacji funkcji komórkowych neutrofilii. Białko to hamuje chemotaksję, jak i fagocytozę oraz zmniejsza wewnątrzkomórkową produkcję wolnych rodników tlenowych. W komórkach tkanek obwodowych (np. komórkach dendrytycznych) CysC wpływa na prezentowanie kompleksów MHC II oraz stymuluje syntezę tlenu azotu, cytokiny TNF-alfa oraz interleukiny 10 w makrofagach [16,17]. Przeciwwirusowe właściwości cystatyny C są związane z hamowaniem wewnątrzkomórkowych proteinaz cysteinyłowych w komórkach zakażonych wirusem (np. *Herpes simplex*). Po wnikięciu do komórki białko uniemożliwia replikację wirusa hamując proces dojrzewania i składania kapsydu wirusowego [20].

Opisano również protekcyjne funkcje cystatyny C w mózgowiu. Białko to najprawdopodobniej będąc inhibitorem ośrodkowych katepsyn w ischemicznie uszkodzonych komórkach, umożliwia dokonanie wewnątrzkomórkowych procesów naprawczych, odraczając czas nieodwracanej degeneracji komórki. W mózgowiu pacjentów z chorobą

Alzheimera wykazano dużą obecność cystatyny C w endosomach i lizosomach neuronów, co potwierdza znaczenie cystatyny C w procesach neurodegeneracyjnych [21].

ZNACZENIE CYSTATYNY C W DIAGNOSTYCE NEFROLOGICZNEJ

Jak wspomniano powyżej, CysC, z uwagi na mały ciężar cząsteczkowy, posiadanie dodatniego ładunku elektrycznego w fizjologicznym pH krwi oraz brak glikozylacji, podlega filtracji w kłębuszkach, a następnie częściowej reabsorpcji i degradacji przez lizosomy komórki kanalików proksymalnych [22]. Białko to jest transportowane do komórek cewek proksymalnych poprzez multiligandowy receptor odpowiedzialny również za wchłanianie innych drobnocząsteczkowych białek z moczu pierwotnego, megalinę. Pozanerkowa degradacja cystatyny C (np. poprzez elastazę neutrofilową) ma marginalne znaczenie. Zatem, po etapie filtracji związek ten nie wraca w swej natywnej postaci do osocza.

Stężenie cystatyny C we krwi jest zależne zatem od wielkości przesączania, stąd białko to jest alternatywą dla kreatyniny w ocenie frakcji filtracyjnej, natomiast stężenie cystatyny C w moczu jest wypadkową filtracji kłębuszkowej oraz zdolności resorpcyjnej kanalików proksymalnych. Warto podkreślić, iż stężenie to rośnie, odzwierciedlając zmniejszenie klirensu cystatyny, już przy GFR rzędu 90 ml/min/1,73m², a zatem przy wartości, dla której rozpoznaje się etap G1/G2 przewlekłej choroby nerek (faza „przewlekłej, utajonej niewydolności nerek”). Natomiast wzrost stężenia parametrów przemiany azotowej zaznacza się dopiero przy znacznej, około 50% utracie ilości czynnych nefronów [23], czemu w przybliżeniu odpowiada zmniejszenie GFR poniżej 75 ml/min/1,73 m². Istotnym było również wykazanie, iż u pacjentów przyjmowanych na oddział intensywnej opieki medycznej, zaburzenie osoczowego stężenia cystatyny C średnio 1,5 dnia wcześniej poprzedzało zmiany stężenia kreatyniny [24]. Ponadto, w kolejnym badaniu przeprowadzonym u pacjentów po jednostronnej nefrektomii, dramatycznie zmniejszającej funkcję nerek, wykazano, iż osoczowe stężenie CysC wzrosło już 1 dnia po zabiegu chirurgicznym, podczas gdy analogiczna zmiana kreatyniny była obserwowana dopiero po 2 dniach [25]. Zatem, analiza osoczowego stężenia cystatyny C cechuje się większą czułością w ocenie funkcji filtracyjnej nerek w porównaniu z osoczowym stężeniem kreatyniny, co ma istotne znaczenie przy podejmowaniu decyzji terapeutycznych. Niemniej jednak, w interpretacji wyniku oznaczenia tego parametru należy brać pod uwagę podobne ograniczenia jak te wspomniane w przypadku kreatyniny: wiek (po ukończeniu 1 roku życia stężenie tego białka osiąga wartość obserwowaną u dorosłych; wraz z wiekiem od około 50 roku życia obserwuje się wzrost osoczowego stężenia CysC), płeć (widoczny jest trend zmniejszenia poziomu cystatyny C u kobiet w porównaniu z mężczyznami), dieta, masa mięśniowa czy schorzenia wątroby. Ponadto, spożywanie alkoholu i palenie papierosów, przewlekła glikokortykoterapia oraz hipertyreoz zwiększają syntezę tego związku [22,26,27]. Szczególną ostrożność należy zachować przy interpretacji wyniku CysC u pacjentów w wieku podeszłym. Stwierdzenie wzrostu osoczowego stężenia CysC może odzwierciedlać zmniejszenie sprawności nerek zachodzące wraz z wiekiem, jednak wciąż

utrzymujące się w granicach fizjologicznych przyjętych dla osób w podeszłym wieku [26].

W przebiegu AKI, jak postępującego CKD, w związku z postępującym zmniejszeniem wartości GFR, ale i równoległym upośledzeniem katabolizmu tego białka w kanalikach proksymalnych (z uwagi na konkurencję ze strony innych drobnocząsteczkowych białek o miejsca wiążące na funkcjonujących jeszcze cewkach nerkowych), rośnie wydalanie cystatyny C z moczem. Zatem, cystatyna C może być traktowana jako biomarker uszkodzenia kanalików proksymalnych oraz zmniejszenia funkcji filtracyjnej nerek. W badaniach przedklinicznych związek ten był markerem nefrotoksyczności nowych leków i prognostykiem wystąpienia ATN. Stąd, oznaczanie cystatyny C powinno stać się rutynowym postępowaniem laboratoryjnym izby przyjęć oddziałów intensywnej opieki medycznej oraz chirurgii [17].

NGAL-1 - LIPOKALINA-1 ZWIĄZANA Z ŻELATYNAZĄ NEUTROFIŁI

STRUKTURA NGAL-1 I JEJ ZNACZENIE BIOLOGICZNE

NGAL-1, podobnie jak CysC, jest również niewielkim białkiem o masie cząsteczkowej około 25 kDa (forma glikolowana) należącym do rodziny lipokalin, pierwotnie wykrytym w aktywowanych neutrofilach jako białko związane z żelatynazą (kolagenazą typu IV), stąd jego nazwa (występuje również w literaturze jako ludzka lipokalina neutrofilowa, uterokalina lub syderokalina) [28,29]. NGAL-1 składa się z 178 reszt aminokwasowych, ułożonych w 8 β -łańcuchów tworzących cylindryczną strukturę kielicha, będącą miejscem wiązania endogennych ligandów [29-31].

Białko NGAL-1 jest syntetyzowane i uwalniane do osocza w: nerkach, prostaty, tchawicy, płucach, żołądka, jelicie grubym, macicy oraz szpiku kostnym. Ponadto, będąc białkiem ostrej fazy, jest uwalniane w większych ilościach z neutrofilów i makrofagów w stanach zapalnych i uszkodzeniu śródbłonna. Jego źródłem są także adypocyty [29-31]. Rodzina lipokalin obejmuje oprócz NGAL-1 również ponad 20 drobnocząsteczkowych białek o funkcji transportującej małe, hydrofobowe cząsteczki, w tym białko wiążące retinol, białko wiążące kwas retinowy, α -2 globulinę wiążącą feromony, β -laktoglobulinę wiążącą kwasy tłuszczowe, α -1 mikroglobulinę wychytującą hem oraz apolipoproteinę D i syntazę prostaglandyn D, dla których ligandami są odpowiednio progesteron/pregnenolon oraz prostaglandyna H₂ [30].

Najważniejszymi ligandami dla neutrofilowej lipokainy-1 są syderofory oraz matrixmetaloproteinazy typu 9 (MMP-9). Syderofory są cząsteczkami wiążącymi i transportującymi dokomórkowo żelazo wydzielanymi przez większość organizmów, w tym bakterie. NGAL-1, wiążąc zewnątrzkomórkowo bakteryjne syderofory skompleksowane z żelazem, wykazuje zatem działanie bakteriostatyczne, uniemożliwiając bakteryjne przyswajanie żelaza (stąd, synteza tego białka jest obserwowana w tkankach narażonych na ekspozycję bakteriyną, jak układ pokarmowy, oddechowy czy drogi moczowe [28,29]. U ludzi NGAL-1 podlega wychytowi przez błonowe receptory: transporter kationów organicznych typu mózgowego 24p3R oraz wielofunkcyjny receptor megalinowy, obecny między innymi na powierzchni cewek nerkowych.

Po połączeniu z receptorem, NGAL-1 ulega internalizacji w postaci wolnego białka (Apo-NGAL) lub w postaci związanej z kompleksem syderofor-żelazo (Holo-NGAL). Wewnątrzkomórkowo, Apo-NGAL może łączyć się z żelazem, transportując go do przestrzeni pozakomórkowej. Natomiast Holo-NGAL uwalnia wewnątrzkomórkowo kompleks syderofor-żelazo, gdzie pierwiastek ten jest wykorzystywany w różnych szlakach biochemicznych. NGAL-1 zatem jest białkiem regulującym komórkową homeostazę żelaza, umożliwiającym transport tego pierwiastka do i z komórki.

Mechanizm oparty na wpływie NGAL-1 na kompleks syderofor-żelazo jest również istotny w regulacji procesów różnicowania komórkowego i proliferacji ponieważ procesy te wymagają obecności żelaza. Badania wykazały, iż lipokalina-1 uwalniana lokalnie w nerkach podczas rozwoju embrionalnego, stymuluje różnicowanie komórek mezenchymalnych do epitelialnych, formujących kłębuszki oraz kanaliki nerkowe [32]. Ponadto, NGAL-1 w podobnym mechanizmie zmniejsza apoptozę i wzmacnia procesy odnowy komórkowej w dojrzałych nerkach [33].

Oprócz efektu bakteriostatycznego wynikającego z upośledzenia bakteryjnego przyswajania żelaza, lipokalina-1 nasila proteolityczne działanie metaloproteinaz MMP-9, uniemożliwiając degradację tego związku przez tkankowy inhibitor MMP-9 (TIMP-1). Zjawisko to ma szczególne znaczenie w procesie kancerogenezy. Nasilenie aktywności enzymatycznej MMP-9 manifestuje się wzmożoną degradacją kolagenu, co ułatwia miejscową ekspansję, jak i odległe przerzuty komórek nowotworowych [29,34]. Stąd, wykazanie obecności tego białka u pacjenta z chorobą nowotworową musi być traktowane jako prognostycznie negatywny czynnik [35]. Nadekspresję genu kodującego NGAL-1 stwierdzono w wielu nowotworach: piersi, jajnika, trzustki, jelita grubego czy pęcherza moczowego [29,34].

Nasilenie aktywności MMP-9 przez lipokalinę-1 jest również istotne w rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych (np. ostrych zespołów wieńcowych), wynikających z destabilizacji blaszki miażdżycowej. Podwyższone osoczowe stężenie NGAL-1 jest związane z rozwojem miażdżycy. MMP-9 jest wydzielana przez lokalne makrofagi, naciekające zmianę miażdżycową i fagocytyzując oksydacyjnie zmodyfikowane LDL. Nadmierna aktywność MMP-9 uwarunkowana kompleksowaniem z NGAL-1 powoduje niestabilność blaszki miażdżycowej, zwiększa prawdopodobieństwo jej pęknięcia i powstania zmiany zakrzepowej [29,36]. Ponadto, proangiogenne właściwości MMP-9 i wpływ tego związku na przebudowę (ang. *remodelling*) ściany naczyniowej zwiększa ryzyko rozwoju malformacji naczyniowych, takich jak tętniaki [29]. Doniesienia kliniczne wskazują także, iż lipokalina-1 jest syntetyzowana przez adypocyty tkanki tłuszczowej w odpowiedzi na wiele prozapalnych mediatorów. Stężenie tego białka jest podwyższone u pacjentów z cukrzycą typu 2, co wskazuje na potencjalną rolę NGAL-1 w patogenezie insulinooporności [37].

ZNACZENIE NGAL-1 W DIAGNOSTYCE NEFROLOGICZNEJ

Lipokalina 1, podobnie jak cystatyna C, ulega w nerkach swobodnej filtracji kłębuszkowej oraz reabsorpcji w kanalikach

proksymalnych. Zatem, wzrost stężenia NGAL-1 w moczu może być konsekwencją uszkodzenia kanalików proksymalnych i zmniejszenia nerkowego klirensu tego białka (zmniejszonej filtracji kłębuszkowej). Jednak komórki dalszych części nefronów: pętli Henlego oraz kanalików dystalnych, również mają zdolność do wzmożonej syntezy NGAL-1 w wyniku zadziałania czynnika uszkadzającego te struktury. Zatem, wzrost NGAL-1 w moczu jest głównie wynikiem wzrostu nerkowej syntezy tego białka, co jest również związane z jego antybakteryjnymi właściwościami. Kanalikowa frakcja wydzielnicza lipokaliny-1 nie wpływa natomiast na jej osoczowe stężenie ponieważ po etapie sekrecji, lipokalina-1 nie podlega wchłanianiu z dróg moczowych do krwi. W przeciwieństwie zatem do stężenia NGAL-1 w moczu, osoczowe stężenie tego białka nie zależy od ilości wydzielanej w drogach moczowych, a jest determinowana przez ilość uwalnianą w tkankach. W przebiegu AKI, zwłaszcza związanego z ostrą niewydolnością wątroby oraz ostrym uszkodzeniem płuc („przeciekowy obrzęk płuc”), znacznie wzrasta tkankowa synteza NGAL-1, jest dodatkowo podwyższany wskutek jego uwalniania przez aktywowane w przebiegu AKI immunokompetentne komórki, zarówno rozsiane w tkankach, obecne we krwi obwodowej. Dodatkowo, AKI skutkuje postępującym zmniejszeniem GFR, co również podwyższa osoczowe stężenie NGAL-1, nie ulegającej filtracji kłębuszkowej [31,38].

NGAL-1 wydaje się być dobrym biomarkerem uszkodzenia nerek, z uwagi na fakt, iż wzrost stężenia tego białka zarówno w osoczu, jak i moczu, obserwuje się już po 2 godzinach po zadziałaniu czynnika uszkadzającego nerki, co znacznie poprzedza hiperkreatyninemię, występującą po około 12–24 godzinach.

Rosnąca liczba badań eksperymentalnych i klinicznych potwierdza użyteczność NGAL-1 w diagnostyce AKI. W ischemicznym oraz toksycznym modelu AKI wykazano, iż gen NGAL-1 ulegał zwiększonej ekspresji, a kodowane przez niego białko było jednym z biomarkerów uszkodzenia nerek syntetyzowanych w największych ilościach [39,40]. Użyteczność NGAL-1 jako „troponiny nerkowej” została także potwierdzona w badaniach klinicznych. Pacjenci hospitalizowani na oddziale intensywnej opieki medycznej z objawami gwałtownie postępującej niewydolności nerek charakteryzowani byli przez znamienny wzrost stężenia NGAL-1, zarówno w moczu, jak i osoczu [41]. U dorosłych pacjentów poddawanych operacjom kardiochirurgicznym, u których doszło do rozwoju pooperacyjnego AKI, rozpoznanego trzeciego dnia po operacji poprzez 50% stężenia kreatyniny w stosunku do jej wartości wyjściowej, obserwowano wzrost osoczowego stężenia lipokaliny-1 już 1–3 godzin po zabiegu [42]. Analogiczną obserwację dokonano u dzieci operowanych z powodu wrodzonych wad serca, u których doszło również do rozwoju AKI w wyniku zaburzeń ukrwienia nerek wskutek krążenia pozaustrojowego [43]. Zaburzenia NGAL-1 obserwowano również u pacjentów z ostrą nefropatią po podaniu radiologicznych środków kontrastowych [44]. Podsumowując, lipokalina-1 jest jednym z najbardziej obiecujących markerów ostrego uszkodzenia nerek, poprzedzającym wystąpienie hiperkreatyninemii oraz, w myśl większości doniesień, dodatnio korelującym z nasileniem AKI (choć istnieją również raporty podważające ostatnią przesłankę [45,46].

NGAL-1 jest również biomarkerem wykorzystywanym w ocenie CKD. Analizując zmiany tego białka u pacjentów z multietiologiczną CKD wykazano, iż stężenie NGAL-1 w moczu, jak i osoczu, ujemnie korelowało z wartością GFR oraz było niezależnym od innych parametrów czynnikiem predykcyjnym progresji choroby [47]. Interesującą hipotezę „pożaru lasu” (ang. „forest fire”) wyjaśniającą zależność między wzrostem NGAL-1 i redukcją GFR u pacjentów z CKD podali Mori i Nakao [48], w myśl której wzrost NGAL-1 (w przeciwieństwie do hiperkreatyninemii) nie wynika jedynie z postępującego zmniejszenia filtracji kłębuszkowej. Teoria ta obrazowo zakłada, iż nerki („forest” – „las”) są zbudowane z nefronów („trees” – „drzew”). W przebiegu CKD dochodzi do postępującej, trwałej utraty funkcji nefronów („obumarłe drzewa”), czego wyrazem jest redukcja GFR i wzrost osoczowego stężenia kreatyniny. Jednak część nefronów, nie uczestniczących już w funkcji filtracyjnej, może być wciąż objęta aktywnym uszkodzeniem („pożar”), wyrażającym się zwiększeniem syntezy NGAL-1. Zatem, nefrony znajdujące się we wczesnej fazie uszkodzenia, objęte „pożarem”, których funkcja filtracyjna już ulega upośledzeniu, są źródłem NGAL-1, w związku z czym można uznać, iż NGAL-1 jest biomarkerem odzwierciedlającym aktywne uszkodzenie nerek „w czasie rzeczywistym”, a oznaczanie tego białka pozwala na ocenę dynamiki przewlekłego uszkodzenia nerek.

KIM-1 – CZĄSTECZKA-1 USZKODZENIA NEREK

STRUKTURA KIM-1 I JEJ ZNACZENIE BIOLOGICZNE

Cząsteczka-1 uszkodzenia nerek jest białkiem kodowanym przez gen zlokalizowany na chromosomie 5. Jest to glikoproteina zlokalizowana na błonie apikalnej komórek kanalików proksymalnych o ciężarze cząsteczkowym około 104 kDa. Nie stwierdza się go w kłębuszkach ani śródmiaższu rdzenia nerek [49]. Związkiem analogicznym, należącym wraz z KIM-1 do wspólnej rodziny, jest wątrobowy, cytoplazmatyczny receptor dla hepatocytotropowego wirusa typu A (HAVCR, ang. *Hepatitis A virus cellular receptor*) oraz TIM-1 (ang. *T-cell immunoglobulin mucin domains-1*), białko regulujące funkcje limfocytów T [49,50]. HAVCR, TIM-1, jak i KIM-1 cechuje podobna struktura, z N-kończową, zewnątrzkomórkową, immunoglobulinową domeną, środkową domeną mucynową, która ulega w różnym stopniu glikozylacji, pojedynczą domeną przezbłonową oraz C-kończową cytoplazmatyczną domeną (w przypadku KIM-1 zawierającą element kinazy tyrozynowej). Ponadto, fragment immunoglobulinowy cząsteczki KIM-1 posiada część receptorową dla fosfatydyloseryny [49,50]. Ektodomena KIM-1, o ciężarze cząsteczkowym około 90 kDa, jest odłączana od pozostałej części cząsteczki przez metaloproteinazy w obrębie peptydu sygnalizującego (zlokalizowanego poniżej domeny mucynowej) w odpowiedzi na ischemię, hipoksję, septyczne lub toksyczne uszkodzenie kanalików i rozwój lokalnego stanu zapalnego [49–51]. Proces ten jest hamowany przez inhibitory metaloproteinaz, jak batimastat lub ilomastat, co pośrednio potwierdza zależność uwalniania zewnątrzkomórkowego fragmentu KIM-1 od aktywności enzymatycznej metaloproteinaz [52].

W warunkach fizjologicznych w moczu nie stwierdza się KIM-1, zatem obecność ektodomeny tego białka w moczu stanowi ilościowy biomarker uszkodzenia nerek, który pojawia

się szybko w moczu w odpowiedzi na uszkodzenie cewek proksymalnych, utrzymując się do czasu regeneracji nerki. Zdaniem części autorów, ocena ilości KIM-1 w moczu wraz z równoległą analizą zmian stężenia NGAL (oraz N-acetylo- β -glukozaminidazą) pozwala na szybkie i wiarygodne rozpoznanie AKI [53-55]. Zwłaszcza, biorąc pod uwagę wspomnianą powyżej przesłankę, iż NGAL zmniejszając degradację metaloproteinaz przez TIMP-1, wzmacnia proteolityczne działanie MMP-9, a w konsekwencji proteolityczne wycięcie zewnątrzkomórkowej części KIM-1. Istotne znaczenie tego biomarkera w diagnostyce AKI zostało także potwierdzone przez dwie międzynarodowe agendy lekowe, FDI i EMA, które zalecają oznaczenie KIM-1 jako laboratoryjnego parametru nefrotoksyczności w badaniach nad nowymi lekami [56].

Komórki kanalików proksymalnych są zasadniczym źródłem KIM-1 z uwagi na fakt, iż na tym odcinku nefronu zachodzą intensywne procesy wchłaniania substancji przesączonych w kłębuszkach. Cewki proksymalne są więc ekspozowane również na duże ilości związków nefrotoksycznych oraz bardzo wrażliwe na ischemię. W wyniku toksycznego lub hipoksemicznego uszkodzenia dochodzi do uszkodzenia ich cytoskieletu i utraty polarności, w konsekwencji do nekrozy lub apoptozy uszkodzonych komórek, czemu towarzyszą procesy naprawcze: proliferacja przetrwałych komórek, migracja słabo zróżnicowanych komórek śródmiąższowych i ich różnicowanie do postaci cewkowej. Zaburzeniom strukturalnym towarzyszy zmiana aktywności parakrynej cewek proksymalnych, wydzielają one mediatory prozapalne, inicjujące lokalny napływ limfocytów T, neutrofilów oraz makrofagów [51]. Znaczenie fizjologiczne rozpuszczalnej w moczu KIM-1 w wyżej wspomnianych procesach jest przedmiotem debaty. Część immunoglobulinowa ektodomeny posiada powinowactwo do integryn błony apikalnej powstrzymując ich dezorganizację. Proces ten zmniejsza odrywanie komórek nabłonka cewek i agregację złuszczonych komórek w świetle kanalików oraz ich wbudowywanie w białko wałeczków szklitych. Zmniejszone formowanie konglomeratów białkowo-komórkowych w świetle kanalików zabezpiecza przed nadmiernym wzrostem kanalikowego ciśnienia hydrostatycznego, dodatkowo uszkadzającego komórki cewek, i utrzymuje efektywne ciśnienie filtracji kłębuszkowej [57].

Letalnie uszkodzone komórki cewek ulegają apoptozie lub nekrozie oraz fagocytozie przez makrofagi, rozpoznające sekwencję fosfatydyloseryny. Komórki cewek proksymalnych, cechujące się wysokim poziomem KIM-1, wykazują aktywność fagocytarną podobną do makrofagów [58]. Ponadto, badania *in vitro* na komórkach kanalików zawierających KIM-1 ujawniły, iż białko to nasila syntezę czynników modulujących proliferację i różnicowanie komórkowe, jak czynniki wzrostowe. Zatem, KIM-1 reguluje nie tylko fagocytozę, ale i procesy regeneracyjne [58,59]. Istnieją także doniesienia o roli KIM-1 w procesie włóknienia śródmiąższowego nerek. Teza ta znajduje potwierdzenie w ocenie histopatologicznej; wykazano, iż cewki cechujące się wysoką zawartością KIM-1 są otoczone zmianami zapalnymi z cechami włóknienia [60,61]. Związek pomiędzy KIM-1 a uszkodzeniem tkanek również potwierdzają badania oceniające zmiany w kłębuszkach, zachodzące wtórnie wskutek indukcji zmian w śródmiąższu. Wraz ze wzrostem poziomu KIM-1, dochodzi do rozrostu matrix mezangium

oraz ogniskowego i segmentalnego stwardnienia kłębuszków [61].

Interpretacja zwiększonej syntezy KIM-1 w błonach cewek proksymalnych, jak i obecności ektodomeny KIM-1 w moczu jest zatem niejednoznaczna. Biorąc pod uwagę wspomniane powyżej przesłanki można uznać, iż zwiększona obecność KIM-1 w odpowiedzi na uszkodzenie nerek ma charakter ochronny, jednak dowody świadczące o roli KIM-1 w śródmiąższowym włóknieniu sugerują, iż związek ten nie ma jedynie ochronnych właściwości w procesie uszkodzenia nerek i jego nadprodukcja nie ma wyłącznie charakteru kompensacyjnego.

ZNACZENIE KIM-1 W DIAGNOSTYCE NEFROLOGICZNEJ

Każdy wzrost stężenia KIM-1 w moczu świadczy o uszkodzeniu nerek, ponieważ białko to nie występuje poza nerkowo w ilości mogącej zmieniać jego poziom w moczu. Badania zarówno eksperymentalne [62,63], jak i kliniczne [64-67] wskazują, iż KIM-1 jest biomarkerem uszkodzenia kanalików, pojawiającym się już, podobnie jak w przypadku NGAL-1, pierwszego dnia po toksycznym lub ischemicznym uszkodzeniu cewek.

Oznaczanie tego białka, jako laboratoryjnego wskaźnika AKI, ma również znaczenie w ocenie stopnia zaawansowania i ciężkości przebiegu tego schorzenia. W badaniu obejmującym 201 hospitalizowanych pacjentów z AKI stwierdzono, iż osoby z najwyższym poziomem KIM-1 w moczu miały statystycznie 3,2 większy iloraz szans na konieczność wdrożenia dializy [68]. Podobną zależność odkryto w kolejnym badaniu szacującym konieczności wdrożenia leczenia nerkozastępczego oraz zgonu w przebiegu AKI [69].

Wzrost KIM-1 obserwowano również u pacjentów z ostrym uszkodzeniem kanalików rozwijającym się wskutek przebytego zabiegu kardiochirurgicznego [70] lub z objawami ostrej niewydolności nerek w przebiegu sepsy [71]. Ponadto zaobserwowano, iż wraz ze wzrostem stężenia KIM-1 w moczu rośnie ryzyko odrzucenia allogenicznego przeszczepu nerki [72,73]. Zwiększone wydzielanie KIM-1 do moczu ujawniono także u pacjentów z rakiem jasnokomórkowym nerki [74]. W jednym z badań wykryto także, iż KIM-1 był wczesnym i czułym indykátorem uszkodzenia nerek u donorów tego narządu ze stwierdzoną śmiercią mózgową [75].

KIM-1 może być też markerem przewlekłego uszkodzenia nerek. Analiza zmian stężenia tego markera w moczu może świadczyć o przejściu AKI w fazę przewlekłej niewydolności nerek [76]. Pacjenci z przewlekłą niewydolnością serca i zespołem nerkowo-sercowym charakteryzowali się wyższym stężeniem KIM-1 w moczu [77]. U chorych z białkomoczem w przebiegu nie cukrzycowego przewlekłego uszkodzenia nerek również obserwowano podwyższone stężenie KIM-1 w moczu [78]. Natomiast postępujący spadek wydzielania KIM-1 u chorych z mikroalbuminurią, u pacjentów z cukrzycą typu 1 był związany z regresją białkomoczu [79]. Uogólniając, można stwierdzić, iż cewki proksymalne produkują KIM-1 nie tylko w odpowiedzi na ostre uszkodzenie, ale białko to podlega zwiększonej syntezie w przewlekłych cewkowo-śródmiąższowych schorzeniach nerek [80].

Znaczenie diagnostyczne KIM-1 jako wskaźnika CKD zostało również potwierdzone w badaniach eksperymentalnych. W modelu CKD wywołanym przez wytworzenie jednostronnej uropatii zaporowej u myszy, 7 dnia po zabiegu poziom KIM-1 w moczu był znacząco wyższy w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi [81]. W eksperymentalnym modelu CKD wywołanym przewlekłym podawaniem gentamycyny u szczurów wykazano, iż KIM-1 był markerem dobrze odwzorowującym dynamikę zmian w przebiegu CKD [81,82]. Zatem, zgodnie z doniesieniami literaturowymi, KIM-1 wraz z NGAL, może być wykorzystywany jako biomarker zarówno ostrego, jak i przewlekłego uszkodzenia nerek [83].

BIAŁKO α Klotho

STRUKTURA BIAŁKA α Klotho I JEGO ZNACZENIE BIOLOGICZNE

Białko α Klotho jest kolejnym, jednym z najnowszych biomarkerów, badanych w ostatnich latach w kontekście jego przydatności w diagnostyce nefrologicznej. Białko to jest kodowane przez gen α KL, zlokalizowany w 1997 roku u myszy na chromosomie 5, natomiast u ludzi został później odkryty na chromosomie 13 [84]. Odkrycie genu α KL, jak i znaczenie kodowanego przez niego białka było pośrednie; myszy transgeniczne z przypadkowo inaktywowanym genem α KL po około 3–4 tygodniach życia rozwijały przyspieszone, zaawansowane zmiany charakterystyczne dla procesu starzenia się (uogólniona miażdżycza i zwężenie naczyń, rozedma, dysplazja gonad i niepłodność, osteopenia, zaburzenia słuchu). Osobniki te umierały przedwcześnie po około 8–9 tygodniach życia. Obserwowane zaburzenia u myszy pozbawionych białka Klotho stały się powodem szczególnego zainteresowania genem α KL i jego białkowym produktem, któremu zatem przypisano właściwości opóźniania procesu starzenia się, a zarazem stały się powodem wyboru nazwy „Klotho”. W mitologii greckiej, istniały trzy boginie losu: Klotho, Lachesis i Atropos. Pierwsza z nich Klotho, była utożsamiana z „przędką” nici ludzkiego losu, determinując długość życia, Lachesis była strażniczką owej nici, którą w momencie śmierci człowieka przecinała ostatnia i zarazem najstarsza z Mojr, Atropos [85,86].

Białko α Klotho występuje w dwóch postaciach: jako białko transbłonowe oraz w formie rozpuszczalnej, jako postać „sekrecyjna” [85]. Wyjściowa, transbłonowa forma α Klotho składa się u człowieka z 1012 reszt aminokwasowych i osiąga masę cząsteczkową około 130 kDa (w zależności od stopnia glikozylacji). Forma nieglikozylowana ma niższy ciężar cząsteczkowy, około 110 kDa. W strukturze białka α Klotho, podobnie jak w transmembranowej postaci KIM-1, wyróżnić można trzy części: zewnątrzkomórkową domenę N-kończową (z charakterystycznymi powtórzeniami określanymi jako KLI1 i KLI2 oraz znajdującym się między nimi krótkim odcinkiem łącznikowym), domenę transbłonową jednokrotnie przebijającą błonę komórkową oraz krótką, C-kończową domenę wewnątrzkomórkową [85].

Obecność białka α Klotho stwierdzono w splocie naczyniówkowym mózgu, przysadce mózgowej, uchu wewnętrznym, trzustce, jelicie grubym, pęcherzu moczowym, jajnikach, jądrach oraz komórkach nabłonkowych gruczołu piersiowego, jednak największą ilość tego białka stwierdzono w cew-

kach dystalnych nerek oraz przytarczycach [85,86]. Forma sekrecyjna Klotho powstaje w wyniku proteolitycznego cięcia dokonywanego przez metaloproteinazy rodziny ADAM (ang. *A Disintegrin And Metalloproteinase Domain-containing Protein*). Istnieją dwa alternatywne miejsca cięcia formy transbłonowej: w miejscu α (tuż nad domeną transbłonową; produktem jest fragment zawierający oba odcinki KL1 i KL2) oraz w miejscu β (w obrębie odcinka łącznikowego, co uwalnia fragment KL1). Dominującym procesem jest proteoliza w miejscu α realizowana przez ADAM10 i ADAM17, stąd ten produkt obróbki transmembranowej formy Klotho stanowi główną postać sekrecyjną tego białka, stwierdzaną przede wszystkim w moczu, we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym [85–87].

Białko α Klotho spełnia pleiotropowe funkcje: forma transbłonowa spełnia rolę obligatoryjnego koreceptora dla fibroblastycznego czynnika wzrostu 23 (FGF23), tym samym biorąc udział w homeostazie nieorganicznych fosforanów (P_i) w ustroju. Sam fosfor spełnia wiele istotnych funkcji: jest mineralnym składnikiem kości, wchodzi w skład enzymów, nukleotydów, fosfolipidów, śródkomórkowych wtórnych przekazników (jak 2,3-difosfoglicerol) oraz zasobów energetycznych (ATP) [86]. FGF23 jest wydzielany przez kości jako hormon o działaniu fosfaturycznym, czyli nasilającym wydalanie fosforanów z moczem (hamującym resorpcję zwrotną fosforanów). Osoczowe stężenie P_i zależy od ich ilości wchłoniętej w przewodzie pokarmowym, od obrotu kostnego, dynamiki wbudowania i uwalniania tych związków z kości oraz przede wszystkim od ilości zwrotnie wchłoniętej w kanalikach nerkowych oraz wydalanej z moczem. Fosforany, swobodnie przesączone w kłębuszkach, są wchłaniane z moczu pierwotnego z udziałem kotransportera sodowo-fosforanowego $Na-P_i-2a$, zlokalizowanego w błonach apikalnych komórek cewek proksymalnych. Funkcje wspomnianego kotransportera hamuje FGF23, którego powinowactwo do receptorów FGFRs jest niewielkie i znacznie się poprawia w obecności α Klotho. Białko to tworzy kompleks z receptorem FGFRs co ułatwia związanie jego agonisty (FGF23) [86,88].

Wciąż kwestią otwartą pozostaje pytanie, w jakim mechanizmie FGF23 hamuje wchłanianie zwrotne P_i w kanalikach proksymalnych, do czego wymaga obecności białka α Klotho syntetyzowanego przede wszystkim w cewkach dystalnych. Obecnie rozpatrywane są co najmniej dwie hipotezy wyjaśniające to zjawisko. Zgodnie z jedną z nich, α Klotho jest syntetyzowane również w części komórek kanalików proksymalnych, a te komórki, w których zachodzi synteza tego białka biorą udział w regulacji wchłaniania P_i w mechanizmie zależnym od FGF23. Druga z hipotez koncentruje się na możliwości formowania kompleksu FGF23-Klotho-FGFR w obrębie kanalików dystalnych, czyli zasadniczego miejsca syntezy α Klotho, a skutkiem pobudzenia kompleksu receptorowego miałyby być wydzielanie, jak dotąd niezidentyfikowanego, czynnika parakrynnego, który regulowałby funkcje kotransportera $Na-P_i-2a$ kanalików proksymalnych [89]. Ponadto, FGF23 reguluje także procesy przemian witaminy D, która przyczynia się do wzrostu wchłaniania wapnia i fosforanów z jelit. Aktywna postać witaminy D jest syntetyzowana w nerkach z wątrobowego prekursora hydroksylowanego w pozycji 25. W nerkach, w obrębie kanalików proksymalnych, zachodzi hydroksylacja w pozycji 1 z wytworzeniem hormonalnie czynnej postaci witaminy D, kalcytriolu. FGF23 skompleksowany z FGFR-

α Klotho hamuje gen Cyp27b1, który koduje 1- α -hydroksylazę oraz nasila ekspresję genu Cyp24, który koduje 24-hydroksylazę, przekształcającą prekursor witaminy D do nieaktywnej 24,25 dihydroksypochodnej. Zatem, oprócz wpływu na funkcję kotransportera sodowo-fosforanowego, α Klotho, poprzez wpływ na FGF23, hamuje także syntezę hormonalnej postaci witaminy D, co wywołuje spotęgowanie ujemnego, fosfatu-rycznego bilansu fosforanowego w wyniku zmniejszenia jelitowego wchłaniania fosforanów [85,88].

Należy wspomnieć, iż transblonowa forma Klotho zlokalizowana pozanerkowo (postacie β i γ) jest także koreceptorem dla innych czynników fibroblastycznych oprócz FGF23. Jednym z nich jest FGF19, wydzielany przez jelita w okresie międzyposiłkowym, który hamuje wątrobowe wydzielanie kwasów żółciowych oraz indukuje wątrobowe przemiany metaboliczne podobne do tych wywoływanych przez insulinę. Natomiast FGF21, wydzielany przez wątrobę w okresie międzyposiłkowym, wzmacnia przemiany naśladujące efekty glukagonu [89].

Postać sekrecyjna białka α Klotho wpływa na przemiany metaboliczne zależne od insuliny / insulinopodobnego czynnika wzrostowego (IGF-1) oraz reguluje funkcje niektórych kanałów błonowych, w tym zwłaszcza kanałów jonowych receptorów waniloidowych TRPV (ang. *transient receptor potential vanilloid*), regulujących zwrotny transport wapnia [86,87]. Białko α Klotho moduluje funkcję kanału wapniowego TRPV5 zlokalizowanego w błonach apikalnych cewek dystalnych oraz zbiorczych, modyfikując jego strukturę poprzez usunięcie z części glikozydowej końcowej „nasadki” kwasu sialowego. Odsłania to obecną poniżej galaktozę, co umożliwia wiązanie tego cukru z lektyną, galektyną-1. W takiej postaci, kanał TRPV5 nie ulega endocytozie i pozostaje wciąż aktywny w błonie komórkowej cewek nerkowych. W analogicznym mechanizmie sekrecyjna postać α Klotho modyfikuje aktywność potasowych kanałów ROMK1 (ang. *renal outer medullary potassium channel*), odpowiedzialnych za wydalanie jonów potasu z moczem. Zatem, sekrecyjna forma Klotho nasila prądy wapniowe i potasowe w nerkach [88,89]. Dodatkowo, modyfikując stopień glikacji, sekrecyjne białko Klotho potęguje fosfatu-ryczny efekt FGF-23 poprzez bezpośrednie inaktywowanie kotransportera sodowo-fosforanowego Na-P_i-2a oraz pobudzenie jego endocytozy i wewnątrzkomórkowej proteolizy. Zatem, sekrecyjna postać α Klotho hamuje nerkowe wchłanianie zwrotne fosforanów w mechanizmie niezależnym od FGF-23 [85,89].

Ponadto, białko α Klotho odgrywa także rolę w kancerogenezie [86,87]. Białko to uczestniczy w szlakach sygnalizacyjnych kancerogenezy opartych na insulinopodobnym czynniku wzrostu oraz czynnikach wzrostowych fibroblastów. Cytokiny te przyczyniają się do transformacji nowotworowej i hamują procesy apoptozy komórek. Dane te zostały potwierdzone w badaniach np. nad rakiem trzustki lub piersi, gdzie udowodniono wzrost aktywności IGF-1 i jego receptora, co korelowało ze wzrostem agresywności guza i szybszym, złe rokującym przebiegiem klinicznym [86]. FGF są zaangażowane z kolei w procesy neoangiogenezy lub różnicowania komórek guza. Białko α Klotho wykazuje charakter supresora karcynogenezy hamując szlaki zależne od IGF-1 oraz FGF [86]. Po-

nadto, α Klotho hamuje funkcję czynnika transformującego- β (TGF- β). Jest to cytokina nasilająca zjawisko przejścia, transformacji nabłonkowej w tkankę mezenchymalną (EMT, ang. *epithelial-to-mesenchymal transition*). EMT odgrywa zasadnicze znaczenie w procesie włóknienia tkankowego, ale także w przerzutach nowotworów, stąd białko α Klotho może przyczyniać się do hamowania rozsiewu nowotworu [89]. Reasumując, α Klotho w przebiegu nowotworów może spełniać rolę prognostycznego markera. Ponadto, samo białko może być obiektem interwencji terapeutycznej, poprzez wzrost jego syntezy i aktywności w tkankach nowotworowych można wpływać na dynamikę procesu kancerogenezy.

ZNACZENIE BIAŁKA α Klotho W DIAGNOSTYCE NEFROLOGICZNEJ

Białko α Klotho jest kolejnym, nowym biomarkerem uszkodzenia nerek. Jednak przeciwnie do wspomnianych powyżej NGAL-1 lub KIM-1, stężenie białka α Klotho w moczu (oraz osoczu) obniża się w następstwie dysfunkcji nerek. W badaniach eksperymentalnych wykazano spadek α Klotho, w tym w przednerkowej AKI: ischemiczno-reperfuzyjnej [90] lub wywołanej lipopolisacharydem indukującym sepsę [91], nerkowej, indukowanej cisplatyną [92] lub doxorubicyną [93] oraz pozanerkowej rozwijającej się w przebiegu zwężenia moczowodu i blokady odpływu moczu [94].

Podobnie, dane kliniczne w większości potwierdzają wyniki badań doświadczalnych. Badania immunohistochemiczne nerek pacjentów z rozpoznanym klinicznie AKI wykazały zmniejszoną syntezę α Klotho w tkance nerek, a stopień jej zmniejszenia korelował ze stopniem zaawansowania AKI [95]. Badania pacjentów z AKI rozwijającym się w wyniku przebiegu operacji kardiochirurgicznej wymiany zastawki ujawniły również znaczny spadek osoczkowego poziomu α Klotho, a efekt ten zniknął wraz z odzyskaniem sprawności nerek w pierwszej dobie po niepowikłanym zabiegu operacyjnym [96]. Zatem, zarówno badania eksperymentalne, jak i obserwacje kliniczne potwierdzają, iż zmniejszenie poziomu α Klotho występuje w przebiegu AKI niezależnie od etiologii uszkodzenia nerek [97]. Na marginesie należy jednak zaznaczyć, iż niektóre badania ujawniły sprzeczne wyniki z tezą postawioną powyżej [98], co uzasadnia dalsze intensywne badania jakie obecnie są prowadzone celem jednoznacznego wyjaśnienia kierunku zmian α Klotho w przebiegu AKI. Istotną zaletą diagnostyczną α Klotho jest czas, w przeciągu którego dochodzi do obniżenia poziomu tego białka w moczu i osoczu. Tendencja taka jest obserwowana już po 3 godzinach od uszkodzenia, co czyni z białka α Klotho najwcześniejszy marker AKI. Ponadto, wykazano protekcyjne działanie egzogenne α Klotho, które było tym bardziej zaznaczone, im wcześniej białko to zostało podane [90]. Mechanizm nefroprotekcji α Klotho najprawdopodobniej jest związany ze zmniejszeniem stresu oksydacyjnego w mitochondriach cewek nerkowych oraz z zahamowaniem ich apoptozy. Wzrost oporności komórek kanalików nerkowych na uszkodzenia wolnorodnikowe wynika z zahamowania przez białko α Klotho wywoływanej przez IGF-1 fosforylacji czynników transkrypcyjnych FOXO (ang. *Forkhead Box-containing*). Defosforylowane czynniki FOXO zwiększają syntezę enzymów antyoksydacyjnych jak katalaza i dysmutaza ponadtlenkowa [87]. Natomiast efekt

antyapoptyczny α Klotho jest wynikiem wzmożonej syntezy białka szoku cieplnego 70 (Hsp70), które stabilizuje antyapoptyczne białka Bcl-2 oraz Bcl-xL [87].

Podobnie jak w przypadku AKI, zmniejszenie zawartości białka α Klotho wykazano również w przebiegu CKD, co jest ściśle związane z zaburzeniami gospodarki wapniowo-fosforanowej w przebiegu przewlekłej niewydolności nerek. Można wręcz postawić stwierdzenie, iż CKD jest stanem przewlekłego niedoboru α Klotho [89,99]. Charakterystyczną cechą laboratoryjną CKD jest hiperfosfatemia, wynikająca ze wzrostu oporności na działanie FGF23, którego stężenie w osoczu rośnie eksponentalnie wraz z postępującym stadiem CKD [100]. Ponadto, hiperfosfatemia jest również czynnikiem, jaki jest coraz częściej brany pod uwagę w kontekście starzenia ustroju. Wysoki osoczowy poziom P_i upośledza metabolizm glukozy oraz nasila stres oksydacyjny, co jest jednym z elementów molekularnego podłoża starzenia się. Przeciwnie, zwierzęta utrzymywane na diecie niskofosforanowej cechowały się opóźnionym starzeniem się i wydłużeniem czasu życia [88]. W przebiegu CKD, retencja fosforanów wynika z zaburzeń endokrynną osi FGF23-Klotho. Wraz z zaawansowaniem CKD i postępującym zmniejszeniem ilości czynnych nefronów, wydalanie P_i musi być zwiększone w jeszcze przetrwałych, sprawnych kłębuszkach. Mechanizmem utrzymującym początkowo wydolne nerkowe wydalanie fosforanów jest wzrost uwalniania z kości FGF23, który dodatkowo wtórnie przyczynia się do uwalniania kolejnego hormonu o działaniu fosfaturycznym, parathormonu (PTH) z przytarczyc. Skutkuje to rozwojem wtórnej, nerkopochodnej nadczynności przytarczyc [101]. Jednak wraz z postępującym uszkodzeniem nerek ujawnia się niedobór białka α Klotho, co jak wspomniano powyżej, znosi kompensacyjne, hamujące działanie FGF23 w zakresie zwrotnego wchłaniania fosforanów. Ostatecznie w konsekwencji oporności na FGF23 i braku efektu fosfaturycznego, rozwija się hiperfosfatemia [89]. Zaburzenie to w istotny sposób wtórnie przyczynia się do zwiększenia stresu oksydacyjnego, jak wspomniano powyżej. Fosforany obecne w zwiększonej ilości w osoczu są transportowane dkomórkowo za pomocą kotransportera sodowo-fosforanowego typu 3 ($Na-P_i-3$). Cytoplazmatyczne stężenie fosforanów dodatnio koreluje z mitochondrialnym potencjałem membranowym oraz z procesem generowania wolnych rodników w mitochondriach [88]. Zwiększony stres oksydacyjny przyczynia się do encefalopatii mocznicowej, opisanej u pacjentów z zaawansowanym CKD. W jednym z badań doświadczalnych wykazano wolnorodnikowe uszkodzenie neuronów hipokampa, zmniejszane przez równoległe podawanie antyoksydantów [102]. Ponadto, hiperfosfatemia i związany z nią stres oksydacyjny jest również elementem patogenetycznym aterogennej dysfunkcji endokrynną śródbłonna oraz zaburzeń sercowo-naczyniowych obserwowanych u pacjentów z mocznicą [88].

Potwierdzeniem teorii zmniejszonej nerkowej produkcji białka α Klotho w CKD są wyniki badań eksperymentalnych, jak i klinicznych. U zwierząt z doświadczalnym modelem CKD wykazano zmniejszenie nerkowej ekspresji mRNA białka α Klotho (wraz ze zmniejszeniem osoczowego stężenia tego białka) [103]. Podobnie, u zwierząt z subtotałną (5/6) nefrektomią, która stanowi model schyłkowej niewydolności nerek [104], w modelu nefrektomii wraz z ischemiczno-re-

perfuzyjnym uszkodzeniem kontralateralnej nerki [99] oraz u zwierząt z doświadczalnym, przewlekłym kłębuszkowym zapaleniem nerek [105], wykazano zmniejszoną zawartość białka α Klotho w nerkach (i w konsekwencji w moczu).

W nerkach dializowanych pacjentów z zaawansowanym CKD wykazano, podobnie jak w badaniach eksperymentalnych, zmniejszoną ekspresję mRNA α Klotho [106]. Osoczowy poziom α Klotho był zmniejszony u pacjentów z CKD [107], a jego poziom zmniejszał się dynamicznie wraz z postępującym CKD [108]. Wykazano także zmniejszenie osoczowego stężenia α Klotho po nefrektomii [109]. Podsumowując, biorąc pod uwagę dane eksperymentalne i kliniczne, należy uznać, iż białko α Klotho jest kolejnym, obok KIM-1 oraz NGAL-1, biomarkerem uszkodzenia nerek, zarówno ostrego, jak i przewlekłego.

PODSUMOWANIE

Biochemiczna ocena ostrego uszkodzenia nerek i przewlekłej choroby nerek, dotychczas głównie oparta na klasycznych parametrach laboratoryjnych (kreatynina, mocznik, elektrolity) jest wciąż niewystarczająca, stąd obecnie jest poszerzana o nowe białkowe biomarkery omówione krótko w niniejszej pracy. Zastosowanie cystatyny C, NGAL-1, KIM-1 oraz białka α Klotho pozwala na wcześniejsze i pewniejsze rozpoznanie AKI/CKD, co umożliwia szybkie wdrożenie odpowiedniego postępowania terapeutycznego. Należy oczekiwać, iż oznaczenie w moczu i osoczu panelu wspomnianych białkowych biomarkerów stanie się z czasem rutynowym postępowaniem diagnostycznym u pacjentów z klinicznym podejrzeniem ostrego uszkodzenia nerek oraz przewlekłej choroby nerek.

PIŚMIENNICTWO

1. Pierre Delanaye (2012) How Measuring Glomerular Filtration Rate? Comparison of Reference Methods. W: Manisha Sahay (red) Basic Nephrology and Acute Kidney Injury. InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/basic-nephrology-and-acute-kidney-injury/how-measuring-glomerular-filtration-rate-comparison-of-reference-methods>
2. Wyss M, Kaddurah-Daouk R (2000) Creatine and creatinine metabolism. *Physiol Rev* 80: 1107-1213
3. Ciach E, Bobilewicz D (2012) Zastosowanie stężenia cystatyny C w ocenie filtracji kłębuszkowej u dzieci i ludzi starszych. *Diagn Lab* 48: 423-431
4. Herrera J, Rodriguez-Iturbe B (1998) Stimulation of tubular secretion of creatinine in health and in conditions associated with reduced nephron mass. Evidence for a tubular functional reserve. *Nephrol Dial Transplant* 13: 623-629
5. Basile DP, Anderson MD, Sutton TA (2012) Pathophysiology of acute kidney injury. *Compr Physiol* 2: 1303-1353
6. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P (2004) Acute Dialysis Quality Initiative workgroup: Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). *Crit Care* 8: R204-R212
7. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A (2007) Acute Kidney Injury Network: Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 11: R31
8. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) (2012) KDIGO clinical practice guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl* 2: S1-S141
9. Król E, Rutkowski B (2008) Przewlekła choroba nerek – klasyfikacja, epidemiologia i diagnostyka. *Forum Nefrol* 1: 1-6

10. The National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes *Quality Initiative* (2002) Clinical Practice Guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39 (2, suppl. 1): S1-S266
11. Levey AS, Eckardt KU, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G (2005) Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 67: 2089-2100
12. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) (2012) KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3:S1-S163
13. Biomarkers Definitions Working Group (2001) Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 69: 89-95
14. Wasung ME, Chawla LS, Madero M (2015) Biomarkers of renal function, which and when? *Clin Chem Acta* 438: 350-357
15. Lisowska-Myjak B (2010) Laboratoryjne wskaźniki ostrego uszkodzenia nerek oznaczane w moczu i w surowicy. *Forum Nefrol* 3: 71-81
16. Barrett AJ (1981) Cystatin, the egg white inhibitor of cysteine proteinases. *Methods Enzymol* 80: 771-780
17. Warwas M, Piwowar A (2011) Moczowa cystatyna C jako biomarker uszkodzenia kanalików nerkowych. *Postepy Hig Med Dosw* 65: 562-568
18. Imiela J, Lewandowicz A (2007) Cystatyna C w diagnostyce przewlekłej choroby nerek. *Nefrol Dial Pol* 11: 126-132
19. Newman DJ (2002) Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 39: 89-104
20. Mussap M, Plebani M (2004) Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci* 41: 467-550
21. Deng A, Irizarry MC, Nitsch RM, Growdon JH, Rebeck GW (2001) Elevation of cystatin C in susceptible neurons in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 159: 1061-1068
22. Sodolska M, Walczak K, Krysicka A, Moczulski D (2010) Użyteczność cystatyny C w ocenie funkcji nerek u osób po 65 roku życia bez cukrzycy. *Gerontol Pol* 18: 120-127
23. Wasilewska K, Jakubowska I, Czyżewska J, Kamińska J, Kemona H (2011) Cystatyna C jako wczesny wskaźnik utraty czynności filtracyjnej nerek u chorych na cukrzycę typu 2 ze współistniejącą albuminurią. *Diabetol Prakt* 12: 103-112
24. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A (2004) Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 66: 1115-1122
25. Herget-Rosenthal S, Pietruck F, Volbracht L, Philipp T, Kribben A (2005) Serum cystatin C - a superior marker of rapidly reduced glomerular filtration after uninephrectomy in kidney donors compared to creatinine. *Clin Nephrol* 64: 41-46
26. Westhuyzen J (2006) Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function. *Ann Clin Lab Sci* 36: 387-394
27. Taglieri N, Koenig W, Kaski JC (2009) Cystatin C and cardiovascular risk. *Clin Chem* 55: 1932-1943
28. Gala-Błądzińska A, Kuźniewski M (2013) Oznaczenie lipokaliny związanej z żelatyną neutrofilii (NGAL) w praktyce klinicznej. *Przegl Lek* 70: 400-403
29. Makris K, Rizos D, Kafkas N, Haliassos A (2012) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a new biomarker in laboratory medicine. *Clin Chem* 50: 1519-1532
30. Bolignano D, Donato V, Coppolino G, Campo S, Buemi A, Lacquaniti A, Buemi M (2008) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. *Am J Kidney Dis* 52: 595-605
31. Clerico A, Galli C, Fortunato A, Ronco C (2012) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clin Chem Lab Med* 50: 1505-1517
32. Yang J, Goetz D, Li JY, Wang W, Mori K, Setlik D, Du T, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Strong R, Barasch J (2002) An iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol Cell* 10: 1045-1056
33. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, Barasch J, Devarajan P (2004) Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol* 15: 3073-3082
34. Lim R, Ahmed N, Borregaard N, Riley C, Wafai R, Thompson EW, Quinn MA, Rice GE (2007) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) an early-screening biomarker for ovarian cancer: NGAL is associated with epidermal growth factor-induced epithelial-mesenchymal transition. *Int J Cancer* 120: 2426-2434
35. Devarajan P (2010) The promise of biomarkers for personalized renal cancer care. *Kidney Int* 77: 75-757
36. Cruz DN, Gaiao S, Maisel A, Roneo C, Devarajan P (2012) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review. *Clin Chem Lab Med* 50: 1533-1545
37. Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, Chow WS, Wat NM, Xu JY, Hoo RL, Xu A (2007) Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem* 53: 34-41
38. Helanova K, Spinar J, Parenica J (2014) Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular diseases - review. *Kidney Blood Press Res* 39: 623-629
39. Devarajan P, Mishra J, Supavekin S, Patterson LT, Potter SS (2003) Gene expression in early ischemic renal injury: clues towards pathogenesis, biomarker discovery and novel therapeutics. *Mol Genet Metabol* 80: 365-376
40. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P (2003) Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel urinary biomarker for ischemic injury. *J Am Soc Nephrol* 4: 2534-2553
41. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J (2005) Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 115: 610-621
42. Wagener G, Jan M, Mori K, Barasch JM, Sladen RN, Lee HT (2006) Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 105: 485-491
43. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P (2005) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 365: 1231-1238
44. Hirsch R, Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman RH 3rd, Ma Q (2007) NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 22: 2089-2095
45. Hjortrup PB, Haase N, Wetterslev M, Perner A (2013) Clinical review: Predictive value of neutrophil gelatinase-associated lipocalin for acute kidney injury in intensive care patients. *Crit Care* 17: 211-220
46. Koo KC, Hong JH, Lee HS, Jeh SU, Choi YD, Rha KH, Ham WS (2015) Accuracy of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in quantifying acute kidney injury after partial nephrectomy in patients with normal contralateral kidney. *PLoS One* 10: e0133675
47. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M (2009) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 4: 337-344
48. Mori K, Nakao K (2007) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney Int* 71: 967-970
49. Lim AI, Tang SCW, Lai KN, Leung JCK (2013) Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells? *J Cell Physiol* 228: 917-924
50. Waanders F, van Timmeren MM, Stegeman CA, Bakker SJL, van Goor H (2010) Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J Pathol* 220: 7-16
51. Marchewka Z, Płonka J (2013) Znaczenie diagnostyczne nowego markera KIM-1 w uszkodzeniach nerek. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 67: 695-699
52. Bailly V, Zhang Z, Meier W, Cate R, Sanicola M, Bonventre JV (2002) Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration. *J Biol Chem* 277: 39739-39748

53. Du Y, Zappitelli M, Mian A, Bennett M, Ma Q, Devarajan P, Mehta R, Goldstein SL (2011) Urinary biomarkers to detect acute kidney injury in the pediatric emergency center. *Pediatr Nephrol* 26: 267-274
54. Nguyen MT, Devarajan P (2008) Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatr Nephrol* 23: 2151-2157
55. Han WK, Wagener G, Zhu Y, Wang S, Lee TH (2009) Urinary biomarkers in the early detection of acute kidney injury after cardiac surgery. *Clin J Am Soc Nephrol* 4: 873-882
56. Dieterle F (ed.) (2010) Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMA and predictive safety testing consortium. *Nat Biotechnol* 28: 455-462
57. Zhang Z, Humphreys BD, Bonventre JV (2007) Shedding of the urinary biomarker kidney injury molecule-1 (KIM-1) is regulated by MAP kinases and juxtamembrane region. *J Am Soc Nephrol* 18: 2704-2714
58. Ichimura T, Asseldonk EJ, Humphreys BD, Gunaratnam L, Duffield JS, Bonventre JV (2008) Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *J Clin Invest* 118: 1657-1668
59. Liu Y, Yang J (2006) Hepatocyte growth factor: new arsenal in the fight against renal fibrosis? *Kidney Int* 70: 238-240
60. van Timmeren MM, Bakker SJ, Vaidya VS, Bailly V, Schuur TA, Damman J, Stegeman CA, Bonventre JV, van Goor H (2006) Tubular kidney injury molecule-1 in protein-overload nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 291: F456-F464
61. van Timmeren MM, van den Heuvel MC, Bailly V, Bakker SJ, Van GH, Stegeman CA (2007) Tubular kidney injury molecule-1 (KIM-1) in human renal disease. *J Pathol* 212: 209-217
62. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL, Sanicola M (1998) Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury. *J Biol Chem* 273: 4135-4142
63. Vinken P, Starckx S, Barale-Thomas E, Loosova A, Sonee M, Goeminne N, Versmissen L, Buyens K, Lampo A (2012) Tissue KIM-1 and urinary clusterin as early indicators of cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Toxicol Pathol* 40: 1049-1062
64. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV (2002) Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 62: 237-244
65. Bonventre JV (2008) Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a specific and sensitive biomarker of kidney injury. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 241: 78-83
66. Huang Y, Don-Wauchope AC (2011) The clinical utility of kidney injury molecule 1 in the prediction, diagnosis and prognosis of acute kidney injury: a systematic review. *Inflamm Allergy Drug Targets* 10: 260-271
67. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR (2008) Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int* 73: 1008-1016
68. Liangos O, Perianayagam MC, Vaidya VS, Han WK, Wald R, Tighiouart H, MacKinnon RW, Li L, Balakrishnan VS, Pereira BJ, Bonventre JV, Jaber BL (2007) Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity and kidney injury molecule-1 level are associated with adverse outcomes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 18: 904-912
69. Vaidya VS, Waikar SS, Ferguson MA, Collings FB, Sunderland K, Gioules C, Bradwin G, Matsouaka R, Betensky RA, Curhan GC, Bonventre JV (2008) Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin Transl Sci* 1: 200-208
70. Liang XL, Liu SX, Chen YH, Yan LJ, Li H, Xuan HJ, Liang YZ, Shi W (2010) Combination of urinary kidney injury molecule-1 and interleukin-18 as early biomarkers for the diagnosis and progressive assessment of acute kidney injury following cardiopulmonary bypass surgery: a prospective nested case-control study. *Biomarkers* 15: 332-339
71. Liang XL, Shi W (2010) Beyond early diagnosis: prognostic biomarkers for monitoring acute kidney injury. *Hong Kong J Nephrol* 12: 45-49
72. Jin ZK, Tian PX, Wang XZ, Xue WJ, Ding XM, Zheng J, Ding CG, Mao TC, Duan WL, Xi M (2013) Kidney injury molecule-1 and osteopontin: new markers for prediction of early kidney transplant rejection. *Mol Immunol* 54: 457-464
73. Song L, Xue L, Yu J, Zhao J, Zhang W, Fu Y (2013) Kidney injury molecule-1 expression is closely associated with renal allograft damage. *Bosn J Basic Med Sci* 13: 170-174
74. Han WK, Alinani A, Wu CL, Michaelson D, Loda M, McGovern FJ, Thadhani R, Bonventre JV (2005) Human kidney injury molecule-1 is a tissue and urinary tumor marker of renal cell carcinoma. *J Am Soc Nephrol* 16: 1126-1134
75. Nijboer WN, Schuur TA, Damman J, van Goor H, Vaidya VS, van der Heide JJ, Leuvenink HG, Bonventre JV, Ploeg RJ (2009) Kidney injury molecule-1 is an early noninvasive indicator for donor brain death-induced injury prior to kidney transplantation. *Am J Transplant* 9: 1752-1759
76. Ko GJ, Grigoryev DN, Linfert D, Jang HR, Watkins T, Cheadle C, Racusen L, Rabb H (2010) Transcriptional analysis of kidneys during repair from AKI reveals possible roles for NGAL and KIM-1 as biomarkers of AKI to CKD transition. *Am J Physiol Renal Physiol* 298: F1472-F1483
77. Comnick M, Ishani A (2011) Renal biomarkers of kidney injury in cardiorenal syndrome. *Curr Heart Fail Rep* 8: 99-105
78. Waanders F, Vaidya VS, van Goor H, Leuvenink H, Damman K, Hamming I, Bonventre JV, Vogt L, Navis G (2009) Effect of renin-angiotensin-aldosterone system inhibition, dietary sodium restriction, and/or diuretics on urinary kidney injury molecule 1 excretion in nondiabetic proteinuric kidney disease: a post hoc analysis of a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 53: 16-25
79. Vaidya VS, Niewczas MA, Ficociello LH, Johnson AC, Collings FB, Warram JH, Krolewski AS, Bonventre JV (2011) Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes is associated with lower levels of urinary tubular injury biomarkers, kidney injury molecule-1, and N-acetyl-beta-D-glucosaminidase. *Kidney Int* 79: 464-470
80. Nakagawa S, Nishihara K, Miyata H, Shinke H, Tomita E, Kajiwarra M, Matsubara T, Iehara N, Igarashi Y, Yamada H, Fukatsu A, Yanagita M, Matsubara K, Masuda S (2015) Molecular markers of tubulointerstitial fibrosis and tubular cell damage in patients with chronic kidney disease. *PLoS One* 10: e0136994
81. Sabbiseti VS, Waikar SS, Antoine DJ, Smiles A, Wang C, Ravisankar A, Ito K, Sharma S, Ramadesikan S, Lee M, Briskin R, De Jager PL, Ngo TT, Radlinski M, Dear JW, Park KB, Betensky R, Krolewski AS, Bonventre JV (2014) Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes. *J Am Soc Nephrol* 25: 2177-2186
82. Rouse RL, Zhang J, Stewart SR, Rosenzweig BA, Espandiar P, Sadrieh NK (2011) Comparative profile of commercially available urinary biomarkers in preclinical drug-induced kidney injury and recovery in rats. *Kidney Int* 79: 1186-1197
83. Fasset RG, Venuthurupalli SK, Gobe GC, Coombes JS, Cooper MA, Hoy WE (2011) Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int* 80: 806-821
84. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohshima Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwasaki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI (1997) Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 390: 45-51
85. Malyszko J (2009) Białko Klotho a przewlekła choroba nerek. *Forum Nefrol* 2: 69-73
86. Szymczyk A, Forma E (2012) Struktura i funkcje białka Klotho. *Folia Med Lodz* 39: 151-187
87. Aiello S, Noris M (2010) Klotho in acute kidney injury: biomarker, therapy, or a bit of both? *Kidney Int* 78: 1208-1210
88. Kuro-o M (2010) Klotho. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 459: 333-343
89. Kuro-o M (2012) Klotho in health and disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 21: 362-368
90. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Kuro-o M, Moe OW (2010) Klotho deficiency is an early biomarker of renal ischemia-reperfusion injury and its replacement is protective. *Kidney Int* 78: 1240-1251

91. Ohyama Y, Kurabayashi M, Masuda H, Nakamura T, Aihara Y, Kaname T, Suga T, Arai M, Aizawa H, Matsumura Y, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nagai R (1998) Molecular cloning of rat Klotho cDNA: markedly decreased expression of Klotho by acute inflammatory stress. *Biochem Biophys Res Commun* 251: 920-925
92. Panesso MC, Shi M, Cho HJ, Paek J, Ye J, Moe OW, Hu MC (2014) Klotho has dual protective effects on cisplatin-induced acute kidney injury. *Kidney Int* 85: 855-870
93. Sugiura H, Yoshida T, Mitobe M, Shiohira S, Nitta K, Tsuchiya K (2010) Recombinant human erythropoietin mitigates reductions in renal klotho expression. *Am J Nephrol* 32: 137-144
94. Doi S, Zou Y, Togao O, Pastor JV, John GB, Wang L, Shiizaki K, Gotschall R, Schiavi S, Yorioka N, Takahashi M, Boothman DA, Kuro-o M (2011) Klotho inhibits transforming growth factor-beta 1 (TGF-beta1) signaling and suppresses renal fibrosis and cancer metastasis in mice. *J Biol Chem* 286: 8655-8665
95. Seo MY, Yang J, Lee JY, Kim K, Kim SC, Chang H, Won NH, Kim MG, Jo SK, Cho W, Kim HK (2015) Renal Klotho expression in patients with acute kidney injury is associated with the severity of the injury. *Korean J Int Med* 30: 489-485
96. Liu YJ, Chen J, Chen MY, Ouyang B, Guan XD (2015) Klotho: a novel and early biomarker of acute kidney injury after cardiac valve replacement surgery in adults. *Int J Clin Exp Med* 8: 7351-7358
97. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW (2012) The emerging role of Klotho in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 27: 2650-2657
98. Torregrosa I, Montoliu C, Urios A, Gimenez-Garzo, Tomas P, Solis MA, Ramos C, Juan I, Puchades MJ, Saez G, Blasco ML, Miguel A (2015) Urinary Klotho measured by ELISA as an early biomarker of acute kidney injury in patients after cardiac surgery or coronary angiography. *Nefrologia* 35: 172-178
99. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, Moe OW (2011) Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 22: 124-136
100. Nitta K, Nagano N, Tsuchiya K (2014) Fibroblast growth factor 23/ klotho axis in chronic kidney disease. *Nephron Clin Pract* 128: 1-10
101. Komaba H, Goto S, Fuji H, Hamada Y, Kobayashi A, Shibuya K, Tominaga Y, Otsuki N, Nibu K, Nakagawa K, Tsugawa N, Okano T, Kitazawa R, Fukagawa M (2010) Depressed expression of Klotho and FGF receptor 1 in hyperplastic parathyroid glands from uremic patients. *Kidney Int* 77: 232-238
102. Nagai T, Yamada K, Kim HC, Kim YS, Noda Y, Imura A, Nabeshima Y, Nabeshima T (2003) Cognition impairment in the genetic model of aging klotho gene mutant mice: a role of oxidative stress. *FASEB J* 17: 50-52
103. Yu J, Deng M, Zhao J, Huang L (2010) Decreased expression of klotho gene in uremic atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 391: 261-266
104. Aizawa H, Saito Y, Nakamura T, Inoue M, Imanari T, Ohyama Y, Matsumura Y, Masuda H, Oba S, Mise N, Kimura K, Hasegawa A, Kurabayashi M, Kuro-o M, Nabeshima Y, Nagai R (1998) Downregulation of the klotho gene in the kidney under sustained circulatory stress in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 249: 865-871
105. Haruna Y, Kashiwara N, Satoh M, Tomita N, Namikoshi T, Sasaki T, Fujimori T, Xie P, Kanwar YS (2007) Amelioration of progressive renal injury by genetic manipulation of Klotho gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 2332-2336
106. Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S, Tamori A, Shiomi S, Nakatani T, Sugimura K, Kishimoto T, Kinoshita S, Kuroki T, Nabeshima Y (2001) Severely reduced production of Klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res Commun* 280: 1015-1020
107. Rotondi S, Pasquali M, Tartaglione L, Muci ML, Mandanici G, Leonangeli C, Sales S, Farcomeni A, Mazzaferro (2015) Soluble α -Klotho serum levels in chronic kidney disease. *Int J Endocrinol* 2015: 872193
108. Sakan H, Nakatani K, Asai O, Imura A, Tanaka T, Yoshimoto S, Iwamoto N, Kurumatani N, Iwano M, Nabeshima Y, Konishi N, Saito Y (2014) Reduced renal α -Klotho expression in CKD patients and its effect on renal phosphate handling and vitamin D metabolism. *PLoS One* 9: e86301
109. Akimoto T, Kimura T, Watanabe Y, Ishikawa N, Iwazu Y, Saito O, Muto S, Yagisawa T, Kusano E (2013) The impact of nephrectomy and renal transplantation on serum levels of soluble Klotho protein. *Transplant Proc* 45: 134-136

Selected proteins as biomarkers of kidney injury used in the nephrological diagnosis

Łukasz Dobrek^{1,✉}, Piotr J. Thor^{1,2}

¹Department of Pathophysiology, Jagiellonian University Medical College, 18 Czysa Str., 31-121 Kraków, Poland

²Department of Human Physiology, Faculty of Medicine, University of Rzeszów, 2a Kopisto Str., 35-310 Rzeszów, Poland

✉e-mail: lukaszdz@mp.pl

Key words: acute kidney injury, chronic kidney disease, cystatin C, neutrophil gelatinase-associated lipocalin-1 (NGAL-1), kidney injury molecule-1 (KIM-1), α Klotho

ABSTRACT

Acute kidney injury (AKI) is an important clinical entity, developing in hospitalized patients due to rapid deterioration of the kidney function, while chronic, progressive glomerulopathies, tubulointerstitial damage, recurrent pyelonephritis, long-lasting nephrolithiasis or systemic diseases affecting kidneys (hypertension, diabetes), result in chronic kidney disease (CKD) development. Early AKI detection enables the implementation of appropriate therapy, which in some cases prevents the irreversible complications, leading to patient's death. Similarly, the correct biochemical assessment allows for monitoring CKD course, which reduces the risk of chronic complications and the development of symptomatic, chronic kidney failure. Therefore, novel laboratory parameters are still sought, endowed with the high sensitivity and specificity, which allow for the reliable AKI diagnosis or estimation of the CKD advancement. The paper focuses on discussing the role of the four proteins: cystatin C, neutrophil gelatinase-associated lipocalin-1 (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1) and α Klotho as novel biomarkers in AKI/CKD diagnosis.