

# Wydalanie białka z moczem dla oceny progresji uszkodzenia nerek w nadciśnieniu tętniczym

## Urinary protein excretion in evaluation of renal impairment progression in hypertension

### Summary

Renal impairment due to arterial hypertension is a well-known clinical phenomenon. Initiation and course of some progressive renal diseases in hypertension may depend both on mechanical factors, and on cellular and inflammatory mechanisms. Increase in urinary excretion of protein is an independent marker of glomerular damage and at the same time a pathogenic factor — a mediator of progressive damage to renal tubules and parenchyma. Measurement of total urinary protein seems to be of lesser diagnostic and prognostic significance than the evaluation of individual proteins. Characteristic features of these proteins (size and charge of a particle), their origin (plasma or nephrons), and functions (involvement in inflammatory reaction) may be specific for an anatomical localization, stage and activity of renal impairment in course of arterial hypertension.

**key words:** hypertension, urine, chronic kidney failure, proteinuria, urine proteins, microalbuminuria, inflammation

*Nadciśnienie Tętnicze 2008, tom 12, nr 2, strony 118–126.*

Nadciśnienie tętnicze silnie i niezależnie wpływa na upośledzenie funkcji nerek, z tendencją do stopniowego ich uszkodzenia w kierunku schyłkowej niewydolności (ESRD, *end stage renal disease*). Rozwój niekorzystnych następstw nadciśnienia postępuje powoli w ciągu wielu lat. Wczesne wykrywanie zmian, podatności do ich progresji oraz skuteczne leczenie są waż-

nym działaniem ochronnym, a także sposobem na uniknięcie wysokich kosztów leczenia nerkowo-zastępczego. W Stanach Zjednoczonych około 25%, a w Europie około 8–13% przypadków ESRD jest powiązane przyczynowo z nadciśnieniem tętniczym. Ważnym problemem diagnostycznym staje się wyizolowanie przypadków zagrożonych lub będących we wczesnej fazie progresywnego rozwoju ESRD spośród dużej grupy osób z nadciśnieniem, a także ustalenie granic terapeutycznych, związanych z możliwością odwrócenia wczesnych zmian destrukcyjnych w nerkach [1–3].

Długofalowa opieka nad pacjentami z przewlekłymi chorobami nerek wymaga odpowiednio czułych, swoistych, praktycznych dla wielokrotnych powtórzeń, a jednocześnie tanich parametrów laboratoryjnych. Wzrost wydalania białka z moczem u chorych z nadciśnieniem tętniczym jest nie tylko popularnym markerem pozwalającym wykryć uszkodzenie, ale także wskaźnikiem stopnia zaawansowania i progresji dalszych zmian w nerkach. Białkomocz zgodnie z powszechnie stosowanymi testami laboratoryjnymi definiuje się jako wzrost dobowego wydalania białka całkowitego w moczu powyżej 150 mg. Zwiększenie czułości diagnostycznej tego parametru jest możliwe jedynie przez analizowanie składu i stężenia wyselekcjonowanych białek. Pod pojęciem „białka całkowitego” kryje się bowiem mieszanina wielu białek o różnej wielkości cząsteczek i ładunku, charakterystycznie powiązanych z częścią nefronu, w której następuje ich przenikanie do moczu. Zmieniona selektywność wielkości i ładunku w ścianach kapilar kłębuszka jest powodem wzrostu filtracji do moczu pierwotnego albuminy i białek większych od albuminy. Nadmierna akumulacja w komórkach kanalika proksymalnego prawidłowo i nieprawidłowo przesączonych do moczu pierwotnego białek osocza wywołuje natomiast wzmoczoną lokalną ekspre-

Adres do korespondencji: dr med. Barbara Lisowska-Myjak  
Katedra i Zakład Biochemii i Chemii Klinicznej,  
Akademia Medyczna w Warszawie  
ul. Banacha 1, 02–097 Warszawa  
tel.: (022) 57–20–735, faks: (022) 57–20–735  
e-mail: basia.myjak@interia.pl

 Copyright © 2008 Via Medica, ISSN 1428–5851

się cytokin i chemokin, których obecność w moczu ostatecznym jest swoistym wskaźnikiem powstawania i rozległości stanu zapalnego oraz stopnia uszkodzenia nerki. Po przekroczeniu granicznej zdolności komórek kanalików proksymalnych do wchłaniania zwrotnego, białka występujące w moczu pierwotnym pojawiają się w moczu ostatecznym [3–6].

W prezentowanej pracy przeanalizowano właściwości, pochodzenie i funkcje białek obecnych w moczu oraz oceniono możliwość ich wykorzystania jako laboratoryjnych wskaźników postępującego uszkodzenia różnych części nefronu w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

### **Wydalenie białka osocza z moczem jako marker uszkodzenia nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego**

Jak dotychczas nie ma mocnych dowodów, że niezłośliwe nadciśnienie tętnicze jest samo w sobie inicjatorem niedoczynności nerek, natomiast może być ono dalszym promotorem już istniejących chorób nerek. Dzięki prawidłowej czynności autoregulacji naczyń przedkłębuszkowych, epizodyczny lub utrwalony wzrost obwodowego ciśnienia tętniczego nie wpływa na mikrokrążenie w nerce, natomiast spadek tej funkcji odpowiada za wzrost podatności do postępującego uszkodzenia nerek nawet przy niewielkim wzroście ciśnienia [1, 7]. Istnieje hipoteza, że niedotlenienie i hipoperfuzja naczyń kłębuszka wywołana nadmiernym skurczem tętniczki doprowadzającej w przebiegu nadciśnienia tętniczego, hamuje produkcję i uwalnianie czynników regulujących i ochraniających komórki nabłonka naczyniowego. Niekorzystne zmiany morfologiczne i rozwój niewydolności nerek mogą być wynikiem lokalnego, wywołanego nadciśnieniem wzrostu wytwarzania angiotensyny II, uruchamiającej (za pośrednictwem cytokiny TGF- $\beta$ ) kaskadę włóknienia. Angiotensyna II wywiera wiele efektów biologicznych, które nie są związane z funkcją hemodynamiczną nerek i mogą pośredniczyć w proliferacji komórek, włóknieniu nerek i syntezie innych czynników prozapalnych [8]. Zwiększoną produkcję TGF- $\beta$  w nerce może powodować także nadmierne zatrzymywanie sodu w kanaliku dystalnym (być może jako wynik obniżonej funkcji układu kinina–kalikreina w tej części nerki). Wyniki badań eksperymentalnych wskazują na wpływ ilości soli podawanej z dietą nie tylko na wzrost ciśnienia tętniczego, ale również na uszkodzenie nerek. Wzrost podaży soli z dietą wzmacnia przepływ krwi przez nerki, ciśnienie wewnątrz kłębuszka, oraz — niezależnie od wzrostu ciśnienia tętniczego — proteinurię [3, 9–11].

Nieodwracalne uszkodzenie pojedynczych nefronów zwiększa obciążenie filtracyjne i prowadzi do niszczenia struktury pozostałych. Jest to efekt ich nadczynności w procesie adaptacji kompensacyjnej, której konsekwencją jest rozszerzenie tętniczki doprowadzającej i transmisja obwodowego nadciśnienia do kapilar kłębuszka. Wzrost ciśnienia w kapilarach wewnątrz-kłębuszkowych zmienia funkcję selektywności rozmiaru bariery kłębuszkowej i jest bezpośrednim powodem ultrafiltracji białek osocza do moczu pierwotnego. Wzrost obwodowego ciśnienia tętniczego koreluje zarówno ze stężeniem białkomoczu, jak i rozwojem ESRD [4, 6, 12].

Każdego dnia ponad 60 000 g białek osocza przechodzi z krwią przez nerki, z czego w stanie fizjologicznym mniej niż 150 mg pojawia się w moczu ostatecznym. Głównymi składnikami białka całkowitego w moczu fizjologicznym jest albumina (30–40%), IgG (5–10%), mono- i dimery lekkich łańcuchów immunoglobulin (5%), IgA (3%) oraz reszta składająca się głównie z białka Tamma-Horsfalla. Powszechnie wiadomo, że im wyższe stężenie białka całkowitego w moczu, tym szybszy spadek filtracji kłębuszkowej (GFR, *glomerular filtration rate*) i większe ryzyko progresji do ESRD. Konsekwentnie, obniżenie proteinurii przez niskobiałkową dietę czy farmakoterapię korzystnie wpływa na zahamowanie lub spowolnienie spadku GFR i ryzyka progresji choroby [4, 5, 12–15].

Przedstawione dowody wykazujące związek między stężeniem białka całkowitego w moczu i stopniowym rozwojem przewlekłej choroby nerek opierają się raczej na intuicyjnych niż udowodnionych eksperymentalnie przesłankach oraz świadczą niespecyficzenie o anatomicznej lokalizacji uszkodzenia nefronu. Analiza składu indywidualnych białek wydalanych z moczem, różniących się między sobą wielkością, ładunkiem, funkcją i pochodzeniem może być źródłem informacji dotyczących:

- nieprawidłowego przezkłębuszkowego pasażu białek osocza do moczu pierwotnego;
- zaburzonej reabsorpcji białek osocza przez komórki nabłonka w kanaliku proksymalnym;
- niszczenia anatomicznej struktury oraz nasilenia ekspresji białek związanych ze stanem zapalnym kłębuszków, kanalików lub miąższu nerek.

### **Białkomocz jako przyczyna progresywnego uszkodzenia nerek**

W ciągu ostatnich dwóch dekad wystąpiła zasadnicza zmiana poglądów oceniających znaczenie wzrostu wydalania białka z moczem jako laboratoryjnego markera progresywnych zmian w nerkach. Z jednej strony jest to niezależny wskaźnik uszko-

dzenia kłębuszka, z drugiej zaś bezpośrednia przyczyna uszkodzenia kanalików nerkowych i tkanki śródmiąższowej. Wynika stąd, że filtrowane do moczu pierwotnego białka osocza mogą być powodem, a nie tylko konsekwencją postępującego uszkodzenia nerek. Kolejność przebiegu zdarzeń potwierdzających taką zależność została już dobrze udokumentowana w wielu badaniach eksperymentalnych [4, 6, 12–19]:

1. Białka osocza filtrowane do moczu pierwotnego ulegają reabsorpcji i akumulacji w kanalikach proksymalnych przez ich przyłączenie do luminalnej części komórki, endocytozie oraz wewnątrzkomórkowej degradacji lizosomalnej do podstawowych aminokwasów i małych peptydów.

2. Odpowiedzią na przeładowanie nadmierną ilością białek w komórkach kanalika jest (poprzez aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B) nasilona ekspresja genów kodujących endotelinę, chemokiny, czynniki wzrostu oraz inne cytokiny odpowiedzialne za rozwój stanu zapalnego i stopniowe włóknienie tkanki śródmiąższowej.

3. Indukowana uszkodzeniem nefronu angiotensyna II dodatkowo przyczynia się do syntezy kolagenu IV w procesie włóknienia.

Poniżej przeanalizowano przydatność endogennych białek osocza do diagnozowania zmienionej funkcji nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

### Właściwości białek osocza filtrowanych do moczu jako markerów funkcji nerek

Białka osocza przechodzące do moczu pierwotnego różnią się między sobą masą cząsteczkową i ładunkiem. Zarówno ich filtracja w kłębuszku, jak i reabsorpcja w kanaliku podlegają ścisłym regułom, których poznanie stwarza praktyczną dla diagnostyków możliwość lokalizacji oraz oceny rozległości uszkodzeń w nefronie.

W ścianie kapilar kłębuszka występują cylindryczne pory o różnej wielkości [18, 20]:

— małe pory, występujące w przeważającej ilości (promień —  $r$  ok. 45 Å, zakres 37–48 Å), nieprzepuszczalne dla makromolekuł o wielkości cząsteczki odpowiadającej albuminie lub większych;

— pory nieograniczające ( $r > 80$  Å), w warunkach fizjologicznych obecne w niewielkiej ilości, przekraczane przez bardzo małą frakcję filtratu ( $0,1 \times 10^{-3}$  średniej wartości);

— pory dodatkowe, uważane za sporadyczne „defekty błonowe”, wystarczająco duże, aby umożliwić transport bardzo dużych białek (np.  $\alpha_2$ -makroglobuliny), a nawet krwinek czerwonych.

Istnieją dwa główne mechanizmy odpowiedzialne za nieprawidłowe wydalanie białek osocza z moczem:

— pierwszy, to spadek selektywności rozmiaru i/lub ładunku ściany kapilar kłębuszka prowadzący do wzrostu przezkłębuszkowego pasażu albuminy i białek o wysokiej masie cząsteczkowej. W stanie fizjologicznym białka o niskiej masie cząsteczkowej (m.cz.  $< 40$  kD,  $r < 30$  Å) w sposób nieograniczony przechodzą przez barierę filtracyjną, a białka wysokocząsteczkowe (m.cz.  $> 100$  kD,  $r > 55$  Å) niemal całkowicie są przez nią zatrzymywane. Białka o ujemnym ładunku są odpychane od ujemnie naładowanej powierzchni błony filtracyjnej, co ogranicza ich transport do przestrzeni Bowmana [18, 20];

— drugi jest konsekwencją zaburzonego mechanizmu reabsorpcji wszystkich białek, a szczególnie białek o niskiej masie cząsteczkowej, przez komórki nabłonka kanalika proksymalnego. Białka osocza, prawidłowo i nieprawidłowo przesączone do przestrzeni Bowmana konkurują między sobą o wchłanianie zwrotne przez komórki kanalika. Według współczesnych danych z piśmiennictwa reabsorpcja białek jest procesem selektywnym z udziałem dwóch multiligandowych receptorów: megaliny i kubuliny, wykazujących różne powinowactwa oraz ograniczoną pojemność receptorową dla białek obecnych w świetle kanalika. W procesie selekcyjonowania wchłanianych białek duże znaczenie przypisuje się także wzajemnemu oddziaływaniu między ujemnym ładunkiem błony luminalnej komórek kanalika a ładunkami elektrostatycznymi białek. Biorąc pod uwagę jakościowe i ilościowe różnice we wchłanianiu zwrotnym białek w kanaliku proksymalnym, nie zawsze skład i stężenia białek w moczu ostatecznym są odpowiednikiem filtratu osocza do przestrzeni Bowmana [6, 15, 20].

### Wydalenie białek osocza z moczem jako marker zaburzonej selektywności wielkości w kłębuszku

Wraz z nasileniem uszkodzenia kłębuszka w moczu pierwotnym wzrasta stężenie białek osocza o wysokiej masie cząsteczkowej, jako wynik upośledzenia selektywności wielkości błony filtracyjnej. Proteinurię określa się jako selektywną, gdy do moczu ostatecznego przechodzą białka średniej wielkości: albumina (m.cz. = 65 kD,  $r = 36$  Å), transferyna (77 kD,  $r = 40$  Å), przy braku białek o wysokiej masie cząsteczkowej: IgG (m.cz. = 150 kD,  $r = 55$  Å),  $\alpha_2$ -makroglobuliny (m.cz. = 720 kD,  $r = 90$  Å) czy IgM (m.cz. = 900 kD,  $r = 120$  Å) [19–21]. Stosunek między wydalaniem IgG, IgM lub  $\alpha_2$ -makroglobuliny a wydalaniem białek o granicznej wielkości cząsteczek przepuszczalnych przez przegrody ustrojowe (albuminy lub transferyny) wyznacza wskaźnik selektywności proteinurii (SI, *selectivity index*). Wskaźnik ten służy odróżnieniu wysoko selek-

tywnej od nieselektywnej proteinurii, ustaleniu rozmiaru uszkodzenia kanalikowo-mięszkowego, a także ocenie perspektyw rozwoju przewlekłego uszkodzenia nerek. Wskaźnik selektywności proteinurii oparty na pomiarze IgG (IgG-SI) wskazuje na proteinurię selektywną przy wartości IgG-SI < 0,2, a na nieselektywną przy wskaźniku IgG-SI > 0,2 [20].

Oznaczanie stężenia w moczu białek o wysokiej masie cząsteczkowej może dostarczyć więcej informacji o ostrości i progresji zaburzonej funkcji nerek niż oznaczanie samej albuminy. Świadczą o tym następujące fakty [20–24]:

1. Oznaczenie wydalania IgG i IgM oraz IgG-SI i IgM-SI w moczu dokładniej odzwierciedla ostrość morfologicznego uszkodzenia ściany kapilar kłębuszka oraz tkanki śródmięszkowej niż ocena wydalania albuminy lub białka całkowitego w moczu.

2. Stężenie IgG w moczu, a nie stężenie albuminy koreluje z progresją uszkodzenia kanalików.

3. Prospektywnie oceniany wzrost wydalania IgM z moczem wykazuje ściślejszy związek ze spadkiem wartości GFR niż wzrost wydalania albuminy, a spadek wydalania IgM z moczem może być oznaką regeneracji zniszczonego kłębuszka.

Powstaje pytanie, czy istnieją różnice intensywności toksycznego oddziaływania na komórki kanalik nerkowego między albuminą i innymi białkami osocza o wysokiej masie cząsteczkowej. Mikroalbuminuria (wydalanie albuminy z moczem 20–200  $\mu\text{g}/\text{min}$ , tj. 30–300 mg/24 h) jest wykrywana u chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym w szerokim zróżnicowaniu (5–37%) i większość badań potwierdza związek tego parametru ze wzrostem ciśnienia tętniczego, szczególnie skurczowego. Jest to uznany w praktyce klinicznej marker hiperfiltracji kłębuszkowej i dysfunkcji nabłonka, ze zdolnością do identyfikacji przypadków zagrożonych rozwojem nadciśnienia, także wśród osób bez aktualnie wykrytej cukrzycy i nadciśnienia tętniczego [25, 26]. Z dotychczasowych obserwacji wynika jednak, że proteinuria selektywna z albuminą jako białkiem dominującym, wiąże się z niewielkim ryzykiem ESRD. Prawidłowo, dzienna filtracja albuminy do moczu pierwotnego jest stosunkowo wysoka i wynosi 1–2 g, ale białko to w moczu ostatecznym nie jest wykrywane przy użyciu rutynowych metod laboratoryjnych. Być może albumina w tym zakresie stężeń nie jest białkiem toksycznym dla kanalików, a jedynie wzrost jej ilości w zaostrzeniu choroby może powodować uszkodzenie kanalików. Świadczy to o fizjologicznej zdolności komórek kanalika do reabsorpcji znacznych ilości albuminy, a przyczyną wzrostu jej wydalania z moczem może być obniżona zdolność komórek kanalika proksymalnego do wchłaniania

zwrotnego tego białka albo jego degradacji. Rozważając fizjologiczne znaczenie wysokiego stężenia albuminy w przesączaniu kłębuszkowym, dopuszcza się możliwość pozytywnego wpływu tego białka na funkcję przepuszczalności nabłonka wewnątrz kanalika nerkowego. Z kolei wysuwane są różne koncepcje, w których albumina pełni funkcję „konja trojańskiego”, przenosząc do światła kanalika nerkowego wiele substancji bioaktywnych (wolne kwasy tłuszczowe, fosfolipidy, hormony steroidowe, witaminy, prostaglandyny, metale ciężkie), odpowiedzialnych za uszkodzenie komórek kanalika [15, 22, 27, 28].

W badaniach eksperymentalnych na hodowlanych komórkach kanalika proksymalnego wykazano, że dla patogenyzy progresywnych chorób nerek spowodowanych przewlekłą proteinurią mogą mieć znaczenie białka o wielkości cząsteczek wahających się między 30–100 kD. Nie udowodniono jednak, że dwa główne białka zawarte w tym zakresie wielkości cząsteczek: albumina i transferyna (masy cząsteczkowe odpowiednio 65 *vs.* 77 kDa) są odpowiedzialne za toksyczność tej frakcji. Nie potwierdzono też hipotezy, że transferyna zawierająca żelazo jest bardziej toksyczna dla rozwoju uszkodzenia nerek niż apotransferyna [14, 29, 30].

### **Wydalenie białek osocza z moczem jako marker zaburzonej selektywności ładunku w kłębuszku**

Utratę selektywności ładunku w kłębuszku uważa się za pierwotną zmianę w stosunku do utraty selektywności wielkości. Uszkodzenie takie obserwuje się w początkowej fazie zmian w nerkach i w minimalnych nefropatiach.

Najczęściej oznaczanym białkiem w moczu na tym etapie uszkodzenia jest albumina (m.c. = 69 kD,  $r = 36 \text{ \AA}$ , pI = 4,9). Uważa się, że selektywna proteinuria spowodowana obecnością tego białka w moczu jest konsekwencją utraty selektywności ładunku w błonie kłębuszka, a parametry selektywności rozmiaru pozostają na tym etapie niezmiennicze [17, 21, 22].

Praktycznym sposobem określenia utraty selektywności ładunku w błonie kłębuszka może być porównanie wydalania z moczem obojętnych lub dodatnio naładowanych do ujemnie naładowanych białek. Potwierdzeniem tego teoretycznego założenia jest wykazany w cukrzycy typu 2 wzrost wydalania z moczem ujemnie naładowanego orozomukoidu (m.c. = 43 kD, pI = 2,7), przy prawidłowym stężeniu albuminy (białka o wyższej masie cząsteczkowej i wyższym punkcie izoelektrycznym), wskazując, że jest czulszym markerem zaburzonej selektywności ładunku w kłębuszku niż stężenie albuminy [32]. Równoległe obciążenie zdrowych osób trzema biał-

kami osoczowymi o różnych średnicach cząsteczek i punkcie izoelektrycznym: albuminą, orozomukoidem i transferyną wykazało istotny, korelujący ze wzrostem klirensu kreatyniny, wzrost wydalania z moczem bardziej anionowego i mniejszego średnicą cząsteczki od albuminy orozomukiodu oraz bardziej kationowej o niewiele wyższej średnicy od albuminy transferyny. Nie stwierdzono natomiast wzrostu wydalania albuminy. Uważa się, że albumina posiada szczególne właściwości, które odróżniają ją od innych białek i może być mniej czułym markerem hemodynamiki nerek niż inne białka osocza [33].

W praktyce laboratoryjnej zmiany selektywności ładunku bariery filtracyjnej ocenia się także na podstawie zmian klirensu białek endogennych o jednakowej wielkości cząsteczki, lecz różniących się ładunkiem. W tym celu wykorzystuje się porównanie wydalania z moczem:

— amylazy trzustkowej (56 kD, pI = 7,0) do amylazy ślinowej (56 kD, pI = 5,9–6,4). Amylaza o wielkości cząsteczki zbliżonej do albuminy, może lepiej odzwierciedlać utratę ładunku błony. Obniżony stosunek między izoformami amylazy wydalany z moczem wyprzedza rozwój mikroalbuminurii [34, 35];

— dodatnio naładowanego IgG (150 kD, pI = 5,8–7,3) lub obojętnej frakcji IgG2 (150 kD, pI = 7,0–7,5) do ujemnie naładowanego IgG4 (150 kD, pI = 5,5–6,0). Utrata IgG z moczem dodatkowo wiąże się z utratą selektywności wielkości [36].

### Wydalenie białek osocza jako marker zaburzonej funkcji kanalików nerkowych

Przepuszczalność kłębuszkowa dla białek osocza o niskiej masie cząsteczkowej (LMW, *low molecular weight*), jak na przykład  $\alpha_1$ -mikroglobulina (m.cz. = 31 kD),  $\beta_2$ -mikroglobulina (m.cz. = 11,8 kD), białko wiążące retinol — RBP (m.cz. = 21 kD) jest nieograniczona. Prawidłowo białka te oraz 90–95% przefiltrowanej do moczu pierwotnego albuminy ulegają wchłanianiu zwrotnemu w kanalikach. Wzrost przenikania do światła kanalika białek o wyższej niż albumina masie cząsteczkowej wywołuje konkurencję między tymi prawidłowo i nieprawidłowo przesączonymi do moczu pierwotnego o kolejność ich wchłaniania zwrotnego w kanaliku. Długotrwałe obciążenie komórek kanalika zwiększoną ilością akumulowanych w nich białek, powoduje ich uszkodzenie. W przebiegu pierwotnego kłębuszkowego zapalenia nerek z proteinurią wykazano istotny związek między wzrostem wydalania z moczem IgG, świadczącym o zmienionej przepuszczalności ściany kapilar kłębuszka, a zarazem o toksycznym oddziaływaniu tego białka na komórki kanalika, z wydalaniem niskocząsteczkowej  $\alpha_1$ -mikroglobuliny

oraz morfologiczną rozległością uszkodzenia kanalikowo-mięsaszowego [37]. Teoretycznie jest zatem możliwe, że wzrost wydalania LMW z moczem może być wskaźnikiem zwiększonej ilości białek sączonych do światła kanalika albo uszkodzenia jego komórek. Według współczesnych doniesień, uszkodzenie kanalików nerkowych jest następstwem uszkodzenia kłębuszkowej bariery filtracyjnej, aczkolwiek nie zawsze wykazuje korelację z postępem uszkodzenia kłębuszków. Białko całkowite w moczu często nie wykazuje wzrostu w chorobach nerek z uszkodzeniem kanalików, a ilość albuminy może być mniejsza niż 30% białka całkowitego. Wydaje się, że LMW są bardziej rzetelnymi markerami uszkodzenia kanalików niż białko całkowite, pod warunkiem, że ich sączenie w kłębuszku jest prawidłowe. Spadek GFR jest bowiem powodem wzrostu ich stężenia w surowicy, a zarazem ich wysokiego stężenia w moczu pierwotnym, przekraczającym zdolność do ich reabsorpcji w kanaliku proksymalnym [18, 38].

Do oceny funkcji kanalików nerkowych najczęściej wykorzystywanym białkiem o niskiej masie cząsteczkowej jest  $\beta_2$ -mikroglobulina, aczkolwiek problemem diagnostycznym są destrukcyjne zmiany tego białka w niskim pH moczu, większe niż  $\alpha_1$ -mikroglobuliny i RBP. Wzrost wydalania RBP z moczem wskazuje natomiast na ostre uszkodzenie kanalików i jest ściślej powiązany z ich nieprawidłowościami strukturalnymi niż inne białka LMW lub NAG. Potwierdzono także przydatność RBP w diagnozowaniu chorych z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym oraz osób z nadciśnieniem białego fartucha, u których równoległa ocena albuminy, transferyny i RBP wykazała w obu grupach badanych selektywny typ dysfunkcji kłębuszka z istotnym wzrostem wydalania z moczem albuminy i transferyny. Natomiast wzrost RBP, świadczący o dysfunkcji kanalika proksymalnego, wykryto tylko u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym [38, 39].

Laboratoryjna ocena zaburzenia struktury i funkcji komórek kanalików powszechnie opiera się także na oznaczaniu w moczu enzymu lizosomalnego N-acetyl- $\beta$ -D-glukozaminidazy (NAG) oraz enzymów rąbka szczoteczki, to jest:  $\gamma$ -glutamylotransferazy, fosfatazy alkalicznej i aminopeptydazy alaninowej. Patomechanizm wzrostu stężenia enzymów w moczu pierwotnym jest inny niż wzrostu białek LMW [40, 41]. Komórki nabłonka kanalików proksymalnych obciążone stałym wysokim ładunkiem białek osocza mogą tracić integralność wraz z zaburzeniem funkcji lizosomów oraz ze zmianami morfologicznymi. W odróżnieniu od enzymów cytozolowych, uwalnianie NAG do moczu przebiega bez uszkodzenia komórek, w odpowiedzi na zaburzenie

ich metabolizmu, jak na przykład nadmierna ilość reabsorbowanych białek, niedotlenienie. Wzrost aktywności NAG w moczu pacjentów z chorobą nadciśnieniową wykazuje korelację ze skurczowym ciśnieniem tętniczym i może wyprzedzać rozwój albuminurii [38, 41, 42]. W przewlekłym uszkodzeniu kanalików nerkowych korelacja między wydalaniem białek niskocząsteczkowych ( $\alpha_1$ -mikroglobuliny, RBP) i aktywnością NAG w moczu jest wyższa niż w ostrym uszkodzeniu [43].

Niewiele dotychczas wiadomo o znaczeniu diagnostycznym aneksyny V dla uszkodzenia nerek wywołanego nadciśnieniem. Białko to (m.cz. = 32–35 kD), będące przedstawicielem rodziny aneksyn (I–XIII), jest zlokalizowane w komórkach nabłonka kapilar kłębuszka oraz — w odróżnieniu od NAG — w komórkach kanalika dystalnego, jest użytecznym markerem ostrych zmian wywołanych różnymi chorobami nerek. Istotny związek wydalania aneksyny V z wydalaniem innych białek w moczu oraz brak korelacji ze stężeniem mocznika i kreatyniny w surowicy oraz z kliresem kreatyniny nasuwa przypuszczenie, że nie jest to wskaźnik bezpośrednio związany z czynnością nerek, a raczej jest odzwierciedleniem lokalnej destrukcji w nerce [44].

### **Strukturalne białka nefronu wydane z moczem**

Kapilary w kłębuszku są najbardziej selektywnym filtrem mikronaczyniowym w ustroju, którego nawet najbardziej delikatny defekt powoduje wzrost wydalania białek z moczem. Kłębuszkowa bariera filtracyjna złożona jest z trzech kolejnych barier o charakterystycznej budowie i składzie białkowym [18, 45]:

1. Śródbłonek — płaskie komórki o dużej liczbie porów, stanowiące barierę elektrostatyczną dla ujemnie naładowanych białek.

2. Błona podstawna — rusztowanie skomponowane ze ściśle krzyżowo powiązanych cząsteczek kolagenu typu IV, lamininy, nidogenu i proteoglikanów, tworzące barierę wielkości i elektrostatyczną dla ujemnie naładowanych białek.

3. Nabłonek — tworzy szczeliny filtracyjne między wypustkami stopowatymi podocytów, okryte przesłoną białkową strukturą przypominającą „zamek błyskawiczny”, najbardziej selektywną barierą dla większości białek. Do tej pory scharakteryzowano wiele białek budujących konstrukcję błony szczelinowej między innymi, takich jak: nefryna, podocyna, białko związane z CD2 — CD2AP, L-aktyna-4.

Niszczenie struktury bariery filtracyjnej i zmniejszenie liczby podocytów na skutek ich mechanicznego przeciążenia w przebiegu nadciśnienia tętniczego może prowadzić do masywnej proteinurii, objawiającej się wydalaniem w moczu komórek i białek strukturalnych [15, 17, 34, 45].

Obliczenie ilości podocytów wydalanych z moczem oraz określenie ich liczby przypadającej na kłębuszek jest przydatnym badaniem laboratoryjnym dla oceny dynamiki zmian morfologicznych w kłębuszku. Podocyturia ograniczona jest bowiem do fazy aktywnego uszkodzenia kłębuszka i może być prostym i nieinwazyjnym markerem ostrości oraz aktywności jego uszkodzenia [46].

W wyniku utraty integralności ściany naczyniowej w kapilarach kłębuszków w moczu pojawiają się białka budujące jej strukturę. Wzrost wydalania nefryny, strukturalnego białka w nabłonku kłębuszka, jest wczesną oznaką zaburzenia metabolizmu podocytów, poprzedzającą ich degradację i rozwój jawnej nefropatii. Wiele badań poświęcono mutacji genów kodujących poszczególne białka strukturalne nefronu, takie jak: nefryna, podocyna, białko związane z CD2 (CD2AP),  $\alpha_4$ -aktyna oraz zmniejszonej ich ekspresji na podocytach, jako przyczynie podatności do rozwoju proteinurii i niewydolności nerek [46–48].

Włóknienie nerek spowodowane jest wzrostem odkładania się w tkance śródmiąższowej i mezangium składników macierzy zewnątrzkomórkowej w składzie: kolagen typu I, III, IV, fibronektyna, laminina oraz proteoglikany. Wzrost stężenia kolagenu typu IV w moczu może być praktycznym markerem monitorującym progresję włóknienia nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego [49, 50].

### **Białka — markery stanu zapalnego w nerce wydane z moczem**

Dotychczas nie ustalono jednoznacznie, które białka osocza przesączone do moczu pierwotnego wykazują najwyższą zdolność aktywacji czynników prozapalnych w kanaliku proksymalnym.

Przeładowanie komórek kanalika proksymalnego białkami osocza jest powodem aktywacji białek układu komplementu w tych komórkach. Składniki układu komplementu mogą być filtrowane przez barierę kłębuszka i jako depozyty są wykrywane na stronie luminalnej i wewnątrz komórek kanalików. Patogeneza postępującej choroby nerek wiąże się również ze wzrostem ekspresji składnika C3 komplementu. W warunkach eksperymentalnych wykazano wzrost syntezy C3 w komórkach kanalika proksymalnego wywołany przez transferynę [6, 31].

W wielu badaniach przeprowadzonych *in vitro* na hodowlanych komórkach kanalika proksymalnego oraz *in vivo* na zwierzętach i u ludzi wykazano zwiększoną ekspresję cytokin i chemokin (MCP-1, *monocyte chemoattractant protein-1*, RANTES, fraktalkina) oraz promotorów włóknienia (endotelina-1, angiotensyna II, TGF- $\beta$ ) pod wpływem różnych białek osocza obecnych w moczu pierwotnym [4, 6, 13, 15, 19]. Oznaczanie cytokin i chemokin w surowicy jest trudne ze względu na ich krótki okres półtrwania i niskie stężenie, a także z uwagi na niską specyficzność diagnostyczną tych parametrów. Nie wykazano korelacji między ich stężeniem w surowicy i w moczu w różnych zespołach chorobowych nerek i na różnych ich etapach. Przedstawiono natomiast dowody na lokalną ekspresję chemokin w komórkach nerki oraz korelację wzrostu ich stężenia w moczu z rozległością stanu zapalnego i stopniem uszkodzenia tkanki śródmiąższowej. Parametry te mogą być swoistym potwierdzeniem toczącego się stanu zapalnego, wskaźnikiem napływu komórek zapalnych do lokalnych miejsc objętych uszkodzeniem oraz wczesnym markerem włóknienia, prognozującym postępującą chorobę nerek [51, 52].

Chemokina MCP-1 jest białkiem zaliczanym do rodziny C-C chemokin, regulującym rekrutację makrofagów do miejsca uszkodzenia w wielu chorobach nerek. Syntetyzowana zarówno przez komórki zapalne, jak i komórki kanalików nerkowych MCP-1 wzmacnia ekspresję m-RNA IL-6 i ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) w ludzkich komórkach nabłonka kanalika, bierze udział w zapaleniu śródmiąższowym i włóknieniu nerek. Ekspresja MCP-1 w kanalikach nerkowych zwiększa się w stanach z proteinurią, niezależnie od typu choroby nerek. Wydalanie MCP-1 z moczem jest proporcjonalne do stopnia proteinurii (albuminurii) i istotnie koreluje z aktywnością NAG. Komórki nabłonka kanalika proksymalnego są zdolne do sekrecji MCP-1 w odpowiedzi na wzrost stężenia albuminy oraz transferyny i apotransferyny. Z badań eksperymentalnych wynika, że wzrost ekspresji MCP-1 w nerce jest także zależny od angiotensyny II [2, 53, 54].

Dominującym objawem procesu zapalnego jest akumulacja i infiltracja do miejsca uszkodzenia aktywowanych granulocytów. W ostatnim czasie zwraca się uwagę na znaczenie diagnostyczne białek przechowywanych w ziarnistościach i cytosolu granulocytów, uwalnianych po ich aktywacji, jako markerów zapalenia.

Białka S100 stanowią rodzinę białek niskocząsteczkowych (m.cz. = 10–12 kD), zaliczanych do nowej grupy cząsteczek prozapalnych uwalnianych przez fagocyty, z których największe znaczenie dla

rozwoju stanu zapalnego udowodniono dla: S100A8 (kalgranulina A), S100A9 (kalgranulina B), S100A12 (kalgranulina C). Białka S100A8 i S100A9 tworzą heterokompleks — kalprotektynę. W analizie biopatów nerek z różnymi postaciami zapalenia kłębuszka wykazano wzrost stężenia S100A8 i S100A9 (bez wytworzonego kompleksu) w przewlekłej reakcji zapalenia, natomiast wzrost kalprotektyny w ostrych stanach zapalnych. Silne właściwości prozapalne S100A12 wynikają natomiast z wysokiego powinowactwa tego białka do wieloligandowego receptora RAGE (*receptor for advanced glycation end products*), którego przyłączenie indukuje ekspresję różnych cytokin inicjujących proces zapalny. Ponieważ białka S100 są tworzone w miejscu zapalenia, powstaje pytanie, czy ich oznaczanie w moczu może dostarczyć informacji o lokalnym przebiegu zapalenia w nerce. W dotychczasowej praktyce laboratoryjnej oznaczenie tych białek w kale znalazło zastosowanie w wykrywaniu i ocenie aktywności lokalnych zmian zapalnych w jelicie [55, 56]. Dotychczas brak informacji o oznaczeniu tych białek w moczu w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

Białko NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) występuje zarówno w neutrofilach, jak i w moczu jako monomer (m.cz. = 22 kD), dimer lub trimer oraz w kompleksie z kolagenazą typu IV ludzkich neutrofilów (inaczej żelatynazą B, MMP-9, m.cz. = 92 kD). Ekspresja NGAL na bardzo niskim poziomie występuje w wielu ludzkich tkankach, także w nerkach. Gen NGAL w nerce jest maksymalnie indukowany w krótkim czasie po jej niedotlenieniu, a wzrost stężenia NGAL w moczu jest wczesnym, czułym i nieinwazyjnym markerem uszkodzenia, korelującym z intensywnością i czasem trwania niedotlenienia nerek oraz wyprzedzającym wzrost innych markerów, jak NAG i  $\beta_2$ -mikroglobulina. Niejasne jest w jakim stopniu kompleksy NGAL-MMP-9 pochodzą ze źródła uszkodzenia w organizmie lub czy są one tworzone w moczu, w wyniku niezależnego wydalania NGAL i MMP-9. Dotychczas nie wiadomo, czy wzrost ciśnienia hydraulicznego w naczyniach kłębuszka powodujący przewlekłe niedotlenienie komórek kanalika i miąższu nerek wpływa na wzrost ekspresji w nerce i wydalania z moczem NGAL lub jego kompleksu z MMP-9 [18, 57].

Podsumowując, mocz jest nieinwazyjnym, praktycznym dla rutyny klinicznej materiałem klinicznym dla oceny postępujących zmian patologicznych w nerkach. Markery laboratoryjne oznaczane w moczu mogą wykazywać wyższą czułość i specyficzność diagnostyczną w ocenie uszkodzenia nerek w przebiegu nadciśnienia tętniczego niż parametry oznaczane w surowicy. Albumina wydalana do mo-

czu jest najpopularniejszym markerem progresji zmian w nerkach w przebiegu nadciśnienia tętniczego, ale coraz więcej dowodów świadczy o szczególnych właściwościach tego białka, wyróżniających go od innych zdolnością przenikania i stężeniem w moczu pierwotnym oraz niejasną toksycznością dla kanalików i miąższu nerek. Jak dotąd nie wiadomo, które białka lub substancje (wolne kwasy tłuszczowe, hormony) przesączone do światła kanalików nerkowych decydują o rozwoju uszkodzenia i stanu zapalnego w nerce. Szczególne nadzieje na rozwiązanie problemów diagnostycznych przypisuje się białkom anatomicznie związanym z odpowiednim odcinkiem nefronu lub produkowanym lokalnie w miejscu uszkodzenia. Wczesnym sygnałem zmian zapalnych w nerkach jest obecność w moczu cytokin i chemokin oceniających napływ granulocytów do lokalnych miejsc uszkodzenia, odpowiedzialnych za rozwój zapalenia kanalikowo-miąższowego i utrzymania równowagi między apoptozą i proliferacją komórkową. Odpowiedni zestaw białek oznaczanych w moczu, różniących się między sobą wielkością cząsteczki, ładunkiem, funkcją biologiczną, pochodzeniem oraz udziałem w rozwoju stanu zapalnego, może być praktycznym markerem funkcji nefronu oraz rokowania zmian w nerkach w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

## Streszczenie

Uszkodzenie nerek spowodowane nadciśnieniem tętniczym jest dobrze znanym powikłaniem klinicznym. W zapoczątkowaniu i przebiegu postępującej choroby nerek w nadciśnieniu mogą brać udział zarówno czynniki mechaniczne, jak i procesy komórkowe oraz zapalne. Wzrost wydalenia białka z moczem jest praktycznym wskaźnikiem uszkodzenia czynności, a zarazem przyczyną postępującej niewydolności nerek. Oznaczenie stężenia białka całkowitego w moczu ma mniejsze znaczenie diagnostyczne i prognozujące rozwój uszkodzenia nerek niż ocena pojedynczych białek. Właściwości (wielkość i ładunek cząsteczki), pochodzenie (z osocza lub produkowane przez komórki nerek) i funkcje (udział w procesie zapalenia) tych białek mogą być specyficzne dla anatomicznej lokalizacji, etapu oraz aktywności zmian destrukcyjnych w nerkach w przebiegu nadciśnienia tętniczego.

**słowa kluczowe:** nadciśnienie, mocz, przewlekła niewydolność nerek, białkomocz, białka w moczu, mikroalbuminuria, zapalenie

*Arterial Hypertension 2008, vol. 12, no 2, pages 118–126.*

## Piśmiennictwo

1. Bidani A.K., Griffin K.A. Pathophysiology of hypertensive renal damage. *Hypertension* 2004; 44: 595–601.
2. Stuveling E.M., Bakker S.J.L., Hillege H.L., de Jong P.E., Gans R.O.B., de Zeeuw D. Biochemical risk markers: a novel area for better prediction of renal risk? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2005; 20: 497–508.
3. Luke R.G. Hypertensive nephrosclerosis: pathogenesis and prevalence. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999; 14: 2271–2278.
4. Remuzzi G., Bertani T. Pathophysiology of progressive nephropathies. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 1448–1456.
5. Remuzzi G., Benigni A., Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J. Clin. Invest.* 2006; 116: 288–296.
6. Zoja C., Morigi M., Remuzzi G. Proteinuria and phenotypic change of proximal tubular cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: S36–S41.
7. Hsu C.Y. Does non-malignant hypertension cause renal insufficiency? Evidence-based perspective. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002; 11: 267–272.
8. Hartner A., Veelken R., Wittmann M., Cordasic N., Hilgers K.F. Effects of diabetes and hypertension on macrophage infiltration and matrix expansion in the rat kidney. *BMC Nephrology* 2005; 6: 6–17.
9. MacGregor G.A. Salt: blood pressure, the kidney, and other harmful effects. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13: 2471–2479.
10. Ying W.Z., Sanders P.W. Dietary salt modulates renal production of transforming growth factor- $\beta$  in rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1998; 274: F635–F641.
11. Katori M., Majima M. A missing link between a high salt intake and blood pressure increase. *J. Pharmacol. Sci.* 2006; 100: 370–390.
12. Wilmer W.A., Rovin B.H., Hebert C.J., Rao S.V., Kumor K., Hebert L.A. Management of glomerular proteinuria: a commentary. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: 3217–3232.
13. Eddy A.A. Proteinuria and interstitial injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004; 19: 277–281.
14. Zandi-Nejad K., Eddy A.A., Glasscock R.J., Brenner B.M. Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? *Kidney Int.* 2004; 66: S76–S96.
15. Tesar V., Zima T., Kalousova M. Pathobiochemistry of nephrotic syndrome. *Adv. Clin. Chem.* 2003; 37: 173–218.
16. Ofstad J., Iversen B.M. Glomerular and tubular damage in normotensive and hypertensive rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2005; 288: F665–F672.
17. Christiansen R.E.F., Tenstad O., Leh S., Iversen B.M. Glomerular charge selectivity is impaired in hypertensive nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004; 19: 1083–1091.
18. D'Amico G. Tubulo-interstitial damage in glomerular diseases: its role in the progression of the renal damage. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998; 13 (supl. 1): 80–85.
19. D'Amico G., Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int.* 2003; 63: 809–825.
20. Bakoush O., Torffvit O., Rippe B., Tencer J. High proteinuria selectivity index based upon IgM is a strong predictor of poor renal survival in glomerular diseases. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2001; 16: 1357–1363.
21. Tencer J., Bakoush O., Torffvit O. Diagnostic and prognostic significance of proteinuria selectivity index in glomerular diseases. *Clin. Chim. Acta* 2000; 297: 73–83.



22. Rippe B. What is the role of albumin in proteinuric glomerulopathies? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004; 19: 1–5.
23. Bakoush O., Grubb A., Rippe B., Tencer J. Urine excretion of protein HC in proteinuric glomerular diseases correlates to urine IgG but not to albuminuria. *Kidney Int.* 2001; 60: 1904–1909.
24. Bakoush O., Torffvit O., Rippe B., Tencer J. Renal function in proteinuric glomerular diseases correlates to the changes in urine IgM excretion but not to the changes in the degree of albuminuria. *Clin. Nephrol.* 2003; 59: 345–352.
25. Wang T.J., Evans J.C., Meigs J.B. i wsp. Low-grade albuminuria and the risks of hypertension and blood pressure progression. *Circulation* 2005; 11: 1370–1376.
26. Chelliah R., Sagnella G.A., Markandu N.D., MacGregor G.A. Urinary protein and essential hypertension in black and in white people. *Hypertension* 2002; 39: 1064–1077.
27. Arici M., Chana R., Lewington A., Brown J., Brunskill N.J. Stimulation of proximal tubular cell apoptosis by albumin-bound fatty acids mediated by peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$ . *Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: 17–27.
28. Kamijo A., Sugaya T., Hikawa A. i wsp. Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *Am. J. Pathol.* 2004; 165: 1243–1255.
29. Alli C., Lombardo M., Zanni D., Agrati A.M., Cassani M., Granata S. Albuminuria and transferrinuria in essential hypertension. *AJH* 1996; 9: 1068–1076.
30. Mackinnon B., Shakerdi L., Deighan C.J., Fox J.G., O'Reilly D.S., Boulton-Jones M. Urinary transferrin, high molecular weight proteinuria and the progression of renal disease. *Clin. Nephrol.* 2003; 59: 252–258.
31. Tang S., Lai K.N., Chan T.M., Lan H.Y., Ho S.K., Sacks S.H. Transferrin but not albumin mediates stimulation of complement C3 biosynthesis in human proximal tubular epithelial cells. *Am. J. Kid. Dis.* 2001; 37: 94–103.
32. Ito S., Tsuda A., Momotsu T. i wsp. Urinary orosomuroid excretion rate in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Endocrin.* 1989; 120: 584–590.
33. Koshimura J., Narita T., Sasaki H. i wsp. Urinary excretion of transferrin and orosomuroid are increased after acute protein loading in healthy subjects. *Nephron. Clin. Pract.* 2005; 100: c33–37.
34. Hemmeler M.H., de Zeeuw D., de Jong P.E. Measurement of glomerular charge selectivity in non-diabetic renal disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1997; 12 (supl. 2): 57–62.
35. Recio F., Villamil F. Charge selectivity and urine amylase isoenzymes. *Kidney Int.* 1994; 47 (supl.): S89–92.
36. Tencer J., Torffvit O., Thysell H., Rippe B., Grubb A. Urine IgG2/IgG4-ratio indicates the significance of the charge selective properties of the glomerular capillary wall for the macromolecular transport in glomerular diseases. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999; 14: 1425–1429.
37. Bazzi C., Petrici C., Rizza V. i wsp. Urinary excretion of IgG and  $\alpha_1$ -microglobulin predicts clinical course better than extent of proteinuria in membranous nephropathy. *Am. J. Kid. Dis.* 2001; 38: 240–248.
38. Tomlinson P.A., Dalton R.N., Hartley B., Haycock G.B., Chantler C. Low molecular weight protein excretion in glomerular disease: a comparative analysis. *Pediatr. Nephrol.* 1997; 11: 285–290.
39. Bang L.E., Holm J., Svendsen T.L. Retinol-binding protein and transferrin in urine. New makers of renal function in essential hypertension and with coat hypertension? *Am. J. Hypertens.* 1996; 9: 1024–1028.
40. D'Amico G., Bazzi C. Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2003; 12: 639–643.
41. Alderman M.H., Melcher L., Drayer D.E., Reidenberg M.M. Increased excretion of urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in essential hypertension and its decline with antihypertensive therapy. *N. Engl. J. Med.* 1983; 309: 1213–1217.
42. Jung K., Diego J., Strobelt V., Scholz D., Schrelber G. Diagnostic significance of some urinary enzymes for detecting acute rejection crises in renal-transplant recipients: alanine aminopeptidase, alkaline phosphatase,  $\gamma$ -glutamyltransferase, N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase and lysozyme. *Clin. Chem.* 1986; 32: 1807–1811.
43. Yu H., Yanagisawa Y., Forbes M.A., Cooper E.H., Crookson R.A., MacLennan I.C.M. Alpha-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J. Clin. Pathol.* 1983; 36: 253–259.
44. Matsuda R., Kaneko N., Horikawa Y. i wsp. 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.
45. Hamano Y., Grunkemeyer J.A., Sudhakar A. i wsp. Determinants of vascular permeability in the kidney glomerulus. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 31154–31162.
46. Nakamura T., Ushiyama C., Suzuki S. i wsp. Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15: 1379–1383.
47. Pätäri A., Forsblom C., Havana M., Taipale H., Groop P.H., Holthöfer H., The FinnDiane Study Group. Nephriuria in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 2969–2974.
48. Wernerson A., Dunér F., Pettersson E. i wsp. Altered ultrastructural distribution of nephrin in minimal change nephrotic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; 18: 70–76.
49. Kikkawa R., Togawa M., Isono M., Isshiki K., Haneda M. Mechanism of progression of diabetic nephropathy to renal failure. *Kidney Int.* 1997; 62 (supl.): S39–40.
50. Kotajima N., Kimura T., Kanda T. i wsp. Type IV collagen as an early marker for diabetic nephropathy in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Diab. Comp.* 2000; 14: 13–17.
51. Anders H.J., Vielhauer V., Schlöndorff D. Chemokines and chemokine receptors are involved in the resolution or progression of renal disease. *Kidney Int.* 2003; 63: 401–415.
52. Noronha I.L., Fujihara C.K., Zatz R. The inflammatory component in progressive renal disease — are interventions possible? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002; 17: 363–368.
53. Morii T., Fujita H., Narita T. i wsp. Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 in proteinuric renal diseases. *Ren. Fail.* 2003; 25: 439–444.
54. Hilgers K.F., Hartner A., Porst M. i wsp. Monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage infiltration in hypertensive kidney injury. *Kidney Int.* 2000; 58: 2408–2419.
55. Frosch M., Vogl T., Waldherr R., Sorg C., Sunderkötter C., Roth J. Expression of MRP8 and MRP14 by macropages is a marker for severe forms of glomerulonephritis. *J. Leuk. Biol.* 2004; 75: 198–206.
56. Roth J., Vogl T., Sorg C., Sunderkötter C. Phagocyte-specific S100 proteins: a novel group of proinflammatory molecules. *Trends Immunol.* 2003; 24: 155–158.
57. Mishra J., Mori K., Ma Q. i wsp. Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15: 3073–3082.