

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

lek. med. Andrzej Fugiel

**UŻYTECZNOŚĆ DIAGNOSTYCZNA OZNACZANIA STĘŻENIA
UROMODULINY W SUROWICY KRWI U CHORYCH
Z PRZEWLEKŁĄ CHOROBAŃ NEREK**

Praca doktorska

Promotor:

Prof. nadzw. dr hab. med. Marek Kuźniewski

Pracę wykonano w Katedrze i Klinice Nefrologii Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Kierownik Katedry:

Prof. dr hab. med. Władysław Sułowicz

Kraków, 2015

SPIS TREŚCI

1. SŁOWNIK STOSOWANYCH SKRÓTÓW	4
2. WSTĘP	8
2.1. Przewlekła choroba nerek	8
2.1.1. Wyznaczanie wielkości filtracji kłębuszkowej	10
2.1.2. Wzory estymacji GFR	13
2.2. Uromodulina	15
2.2.1. Historia odkrycia UM	15
2.2.2. Struktura, synteza i uwalnianie UM	16
2.2.3. Regulacja wydzielania i swoistość tkankowa UM	16
2.2.4. Funkcja biologiczna UM	17
2.2.5. Mutacje w genie UM	19
2.2.6. Uromodulina w badaniach GWAS	19
2.2.7. Uromodulina w chorobach nerek	19
3. CEL PRACY	25
4. MATERIAŁ I METODY	26
4.1. Charakterystyka badanej grupy chorych	26
4.2. Przyczyny PChN	26
4.3. Powikłania PChN	27
4.4. Pomiar i ocena ciśnienia tętniczego	28
4.5. Ocena wskaźnika masy ciała (BMI)	29
4.6. Pozyskiwanie i przechowywanie materiału do badań	29
4.7. Rutynowe badania laboratoryjne	29
4.8. Analiza immunochemiczna	31
4.9. Ocena filtracji kłębuszkowej	32
4.10. Metody analizy statystycznej	34
5. WYNIKI	35
5.1. Ocena stadium PChN w oparciu o wszystkie obowiązujące wzory estymacji filtracji kłębuszkowej	35
5.2. Charakterystyka badanej grupy chorych z uwzględnieniem stadium PChN w oparciu o wzór estymacji filtracji kłębuszkowej CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	36
5.3. Ocena częstości występowania współistniejących chorób sercowo-naczyniowych w badanej grupie chorych w poszczególnych stadiach PChN	37

5.4. Ocena wybranych parametrów biochemicznych krwi oraz morfologii krwi obwodowej przeprowadzona w ramach rutynowej diagnostyki laboratoryjnej w badanej grupie chorych	38
5.5. Oznaczanie stężenia wybranych parametrów immunochemicznych krwi ze szczególnym uwzględnieniem zmiany stężenia UM w zależności od stadium choroby nerek	40
5.6. Ocena zależności pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi a stężeniem kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR wyrażonymi wzorami CKD-EPI _{krea} 2009, CKD-EPI _{cysC} 2012, CKD-EPI _{krea cysC} 2012	45
5.7. Ocena związków pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi w odniesieniu do analogicznych relacji tych parametrów z kreatyniną, cystatyną C i CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	49
5.8. Analiza regresji wielokrotnej do oceny wpływu wieku i płci na zależności pomiędzy stężeniem UM a eGFR	52
5.9. Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami stanu odżywienia	52
5.10. Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej	56
5.11. Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami morfologii krwi obwodowej	59
5.12. Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami zapalnymi ...	62
5.13. Ocena związku pomiędzy surowiczym stężeniem UM a stężeniem propeptydu natriuretycznego (NT-proBNP)	66
5.14. Ocena związku pomiędzy surowiczym stężeniem UM a białkomoczem dobowym	67
5.15. Ocena użyteczności diagnostycznej stężenia UM w surowicy do klasyfikacji stadiów PChN	68
6. DYSKUSJA	72
7. WNIOSKI KOŃCOWE	83
8. PIŚMIENNICTWO	84
9. STRESZCZENIE	97
10. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM (ABSTRACT)	99
11. SPIS TABEL	101
12. SPIS RYCIN	104

1. SŁOWNIK STOSOWANYCH SKRÓTÓW

1α,25(OH)₂D	– 1,25 dihydroksykalcyferol, aktywny metabolit witaminy D
25(OH)D	– 25-hydroksykalcyferol
AHA	– American Heart Association
AKI	– (<i>acute kidney injury</i>) ostre uszkodzenie nerek
ATP	– adenzynotryfosforan
AUC	– (<i>area under curve</i>) pole powierzchni pod krzywą
BMI	– (<i>body mass index</i>) wskaźnik masy ciała
BNP	– peptyd natriuretyczny typu B
Ca	– wapń
C-G	– równanie Cockcrofta-Gaulta
CKD-EPI	– (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) wzór do wyliczania filtracji kłębuszkowej
CNS	– choroba niedokrwienna serca
COX-2	– aktywowana cyklooksigenaza, enzym
CXCL1	– ligand 1 dla chemokin CXC
CysC_{sur}	– stężenie cystatyny C w surowicy
DBP	– ciśnienie rozkurczowe
eGFR	– (<i>estimated glomerular filtration rate</i>) oszacowana, wyliczona wartość filtracji kłębuszkowej
eGFR_{cysC}	– wzór do wyliczania filtracji kłębuszkowej oparty o stężenie cystatyny C w surowicy
eGFR_{krea}	– wzór do wyliczania filtracji kłębuszkowej oparty o stężenie kreatyniny w surowicy
eGFR_{krea-cysC}	– wzór do wyliczania filtracji kłębuszkowej oparty o stężenia: kreatyniny i cystatyny C w surowicy
eKlirens_{kreat}	– wyliczony klirens kreatyniny (wartość szacowana wg wzoru C-G)
ELISA	– (<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>) test immunoenzymatyczny
ER	– (<i>endoplasmic reticulum</i>) siateczka śródplazmatyczna
ERM	– (<i>European reference material</i>) międzynarodowy materiał referencyjny

ESRD	–	<i>(end-stage renal disease)</i> schyłkowa niewydolność nerek
FGF-23	–	<i>(fibroblast growth factor 23)</i> czynnik wzrostu fibroblastów 23
FJHN	–	<i>(familial juvenile hyperuricemic nephropathy)</i> rodzinna młodzieńcza nefropatia hiperurykemiczna
GCKD	–	<i>(glomerulocystic kidney disease)</i> choroby nerek z torbielowatością kłębuszków
GFR	–	<i>(glomerular filtration rate)</i> wartość filtracji kłębuszkowej
GPI	–	glikozylofosfatydyloinozytol
GWAS	–	<i>(genome-wide association studies)</i> badania asocjacyjne całego genomu
HCT	–	hematokryt
HGB	–	hemoglobina
HNF1	–	<i>hepatic nuclear factor 1</i>
hsCRP	–	<i>(high sensitive C-reactive protein)</i> białko C-reaktywne oznaczane metodą ultraczułą
IDMS	–	<i>(isotope-dilution mass spectrometry)</i> spektrometria mas oparta o rozcieńczanie izotopów
IFCC	–	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IFN-γ	–	interferon gamma
IgA	–	immunoglobulina A
IL-1	–	interleukina 1
IL-1β	–	interleukina 1 β
IL-4	–	interleukina 4
IL-6	–	interleukina 6
IL-8	–	interleukina 8
IL-13	–	interleukina 13
IL-18	–	interleukina 18
iPTH	–	<i>intact PTH</i>
IQR	–	<i>(interquartile range)</i> rozstęp międzykwartyłowy
IRI	–	<i>(ischemia reperfusion injury)</i> uszkodzenie wywołane niedotlenieniem i reperfuzją
KDIGO	–	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
Kreat_{sur}	–	stężenie kreatyniny w surowicy
MAP	–	średnie ciśnienie tętnicze
MCKD2	–	<i>(medullary cystic kidney disease-2)</i> torbielowatości rdzenia nerek typu 2

MDRD	–	Modification of Diet in Renal Disease
mGFR	–	(<i>measured glomerular filtration rate</i>) wartość zmierzona filtracji kłębuszkowej
MIA	–	(<i>malnutrition inflammation atherosclerosis</i>) zespół wyniszczenie, zapalenie, miażdżyca
ND	–	<i>non detected</i>
NKCC2	–	(<i>Na-K-Cl cotransporter</i>) transporter sodu, potasu i chlorków
NT-proBNP	–	N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B
p	–	poziom istotności statystycznej
PChN	–	przewlekła choroba nerek
PChN-PMK	–	powikłania mineralne i kostne towarzyszące przewlekłej chorobie nerek
PENIA	–	(<i>particle-enhanced nephelometric immunoassay</i>) metoda oznaczeń immunochemicznych
PETIA	–	(<i>particle-enhanced turbidimetric immunoassay</i>) metoda oznaczeń immunochemicznych
PEW	–	(<i>protein-energy wasting</i>) zespół wyniszczenia białkowo-energetycznego
Pi	–	fosforany nieorganiczne
PLT	–	płytki krwi
PP	–	ciśnienie tętna
PTX3	–	pentraksyna 3
r	–	współczynnik korelacji rang Spearmana
RBC	–	erytrocyty
ROC	–	(<i>receiver operating characteristic</i>) krzywe ROC
ROMK2	–	aktywność błonowego kanału potasowego zależnego od ATP
SBP	–	ciśnienie skurczowe
SD	–	odchylenie standardowe
SNP	–	<i>single-nucleotide polymorphism</i>
SRM	–	(<i>standard reference material</i>) wystandaryzowany materiał referencyjny
TAL	–	(<i>thick ascending limb</i>) grubsze ramię wstępujące pętli Henlego
THP	–	białko Tamma-Horsfalla
TLR4	–	receptory <i>Toll-like 4</i>
TNF-α	–	czynnik martwicy guza alfa
UAKD	–	(<i>uromodulin associated kidney disease</i>) choroby związane z uromoduliną, choroby spichrzeniowe UM

UM – uromodulina
UMOD – gen kodujący uromodulinę
WBC – krwinki białe

2. WSTĘP

2.1 Przewlekła choroba nerek

Przewlekła choroba nerek (PChN) to wieloobjawowy zespół chorobowy rozwijający się w wyniku trwałego uszkodzenia czynnych nefronów lub zmniejszenia ich liczby w efekcie różnorodnych procesów chorobowych toczących się w mięszu nerek.

Kryterium rozpoznania PChN stanowi: uszkodzenie nerek utrzymujące się ponad 3 miesiące, definiowane jako występowanie strukturalnych lub czynnościowych zaburzeń funkcji nerek, z prawidłową albo zmniejszoną filtracją kłębuszkową (*glomerular filtration rate* – GFR), co objawia się:

- nieprawidłowościami morfologicznymi (np. w badaniu histologicznym bioptatu nerki),
- lub markerami uszkodzenia nerek, w tym nieprawidłowościami w składzie krwi (np. zwiększone stężenia produktów przemiany azotowej, kwasica), moczu (np. albuminuria, białkomocz, zmiany w osadzie moczu) albo nieprawidłowymi wynikami badań obrazowych.

O występowaniu PChN świadczy również GFR utrzymująca się przez co najmniej 3 miesiące poniżej $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, nawet przy braku innych objawów choroby. Za wartość graniczną przesączania kłębuszkowego, poniżej której można mówić o chorobie nerek, uznano $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ [75].

Wskaźnikami uszkodzenia nerek są: albuminuria, nieprawidłowy osad moczu, nieprawidłowości w zakresie stężeń elektrolitów lub inne będące wynikiem zaburzeń czynności cewek nerkowych. Mogą to być również nieprawidłowości stwierdzone w badaniu histologicznym lub w badaniach obrazowych. Chorzy po przeszczepieniu nerki ze względu na wartość szacowanego wskaźnika filtracji kłębuszkowej (*estimated glomerular filtration rate* – eGFR) $<60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ zaliczani są do III stadium PChN [63].

Większość chorób nerek w początkowym okresie przebiega bezobjawowo i zostają rozpoznane już jako choroby przewlekłe. Ponieważ większość przyczyn PChN jest nieodwracalna i utrzymuje się przez całe życie, celem leczenia jest spowalnianie postępującej utraty czynności nerek. W niektórych przypadkach PChN jest całkowicie odwracalna (samoistnie lub w wyniku leczenia), w innych leczenie może prowadzić do częściowej regresji uszkodzenia nerek i poprawy ich czynności. Nadrzędnym celem lekarzy praktyków

powinno być wczesne rozpoznanie choroby i podjęcie leczenia nefroprotekcijnego, którego zadaniem jest ochrona wydalniczej funkcji nerek polegająca na zminimalizowaniu rocznego zmniejszenia eGFR do wartości bliskich naturalnemu zmniejszaniu się związanemu z wiekiem.

Częstość występowania PChN wynosi 9–15%, zależnie od badanej populacji. Przyjmuje się, że obecnie na świecie na PChN choruje 500–600 mln osób; w Polsce choroba dotyczy ponad 4 mln mieszkańców. Przytoczone dane epidemiologicznie wyraźnie wskazują na znaczenie PChN jako problemu medycznego i społeczno-ekonomicznego [161].

Rozpoznanie przewlekłej choroby nerek i ocena stadium jej zaawansowania mają znaczący wpływ na sposób postępowania z pacjentem. Zbyt późne rozpoznanie choroby skutkuje nieuniknionym rozwojem powikłań, opóźnieniem skierowania pacjenta do specjalisty nefrologa i w konsekwencji gorszymi wynikami leczenia zachowawczego oraz nerkozastępczego. Wczesne rozpoznanie oraz wdrożenie leczenia nefroprotekcijnego i przyczynowego PChN prowadzi do spowolnienia postępu choroby, zmniejszenia ryzyka sercowo-naczyniowego i opóźnienia konieczności wprowadzenia leczenia nerkozastępczego. Warto podkreślić, że w przypadku wielu pacjentów z PChN dializa nie musi być nieuniknionym punktem końcowym.

Rozpoznanie PChN ustala się na podstawie dwóch prostych i dostępnych wskaźników, którymi są: eGFR, jako wyraz funkcji wydalniczej nerek, oraz albuminuria, jako parametr wskazujący na uszkodzenie błony filtracyjnej kłębuszka. Wprowadzenie do diagnostyki tych dwóch uniwersalnych wskaźników umożliwiło przeprowadzenie badań epidemiologicznych, a przede wszystkim pozwoliło na ocenę zaawansowania PChN w sposób jednoznaczny i jednolity przez każdego lekarza praktyka – czy to podstawowej opieki zdrowotnej, czy specjalistę. Opracowanie obowiązującego obecnie schematu diagnostycznego jest owocem intensywnych badań naukowców i klinicystów ostatnich dwóch dekad.

Uszkodzenie kanalików i tkanki śródmiąższowej nerek wpływa na funkcje kłębuszków nerkowych, podobnie jak zaburzenie funkcji filtracyjnej kłębuszka skutkuje zmianami w tkance śródmiąższowej nerek. Obecnie wartość GFR uznawana jest za najlepszy wskaźnik funkcji nerek, odzwierciedlający zmniejszony klirens zbędnych produktów przemiany materii, a także w pewnym stopniu zaburzoną regulację wodno-elektrolitową, kwasowo-zasadową oraz zmniejszenie wytwarzania erytropoetyny i aktywacji witaminy $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Wskaźnik przesączania kłębuszkowego to hipotetyczna objętość osocza przefiltrowana w jednostce czasu do moczu pierwotnego przez kłębuszki nerkowe. Na przesączanie kłębuszkowe wpływa wiele czynników, m.in. napięcie tętniczki doprowadzającej i tętniczki

odprowadzającej (co w dużej mierze wpływa na frakcję przesączania), ciśnienie tętnicze i ciśnienie onkotyczne krwi, ale głównie liczba czynnych nefronów i nierozdzielnie z tym związany nerkowy przepływ krwi. Ponieważ na wartość GFR składa się suma efektu działania wszystkich nefronów, to w miarę zmniejszenia liczby czynnych nefronów dochodzi do zmniejszenia wartości GFR. Średnia GFR oznaczana u zdrowych młodych dorosłych rasy białej wynosi $\sim 125 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, z dużymi odchyleniami [80].

2.1.1 Wyznaczanie wielkości filtracji kłębuszkowej

Ocena wielkości GFR jest istotna w praktyce klinicznej; ma kluczowe znaczenie dla ustalania stadium PChN oraz wyboru leczenia farmakologicznego i nefroprotekcynowego opóźniającego progresję chorób nerek, a także dla włączania leczenia dializacyjnego. Wykorzystywana jest także do uzasadniania objawów i nieprawidłowości stwierdzanych w badaniach laboratoryjnych, które mogą wskazywać na chorobę nerek, ustalania właściwego dawkowania leków u osób z chorobami nerek, a więc ze zmniejszoną filtracją kłębuszkową, wykrywania choroby nerek, opracowania strategii leczenia i oceny rokowania PChN [134].

Ze względów technicznych bezpośrednie wyznaczenie GFR nie jest możliwe, nie można zatem poznać „prawdziwej” jej wartości. Można ją zmierzyć pośrednio jako klirens egzogennych lub endogennych wskaźników filtracji (wartość zmierzona GFR – mGFR) lub oszacować na podstawie surowiczego stężenia endogennych wskaźników filtracji (oszacowany, estymowany GFR – eGFR), ale obydwie wartości (mGFR i eGFR) wiążą się z błędem oznaczania wskaźnika filtracji [77]. Klirens (współczynnik oczyszczania) to objętość osocza całkowicie oczyszczana z danej substancji (wskutek wydalania go do moczu) w jednostce czasu. Wyraża on sprawność, z jaką osocze zostaje oczyszczone z danej substancji. Przesączanie kłębuszkowe jest równe klirensowi substancji endo- lub egzogennej, która po przesączeniu w kłębuszkach nerkowych nie jest resorbowana, wydzielana ani rozkładana w kanalikach nerkowych.

Wskaźniki filtracji to substancje o małej masie cząsteczkowej, które są eliminowane z organizmu głównie drogą filtracji kłębuszkowej. Idealne wskaźniki filtracji powinny być obojętne dla organizmu, swobodnie filtrowane w kłębuszku nerkowym i mieć małą masę cząsteczkową; nie mogą się wiązać z białkami, nie mogą być reabsorbowane, wydzielane w kanalikach nerkowych ani metabolizowane przez nerki i powinny być łatwe do oznaczenia (niestety żaden z obecnie stosowanych markerów filtracji nie spełnia całkowicie wymagań stawianych markerowi idealnemu).

Egzogenne markery filtracji to substancje, które są podawane do organizmu w celu przeprowadzenia pomiarów szybkości usuwania ich z organizmu. Takim „idealnym” egzogenym markerem filtracji jest inulina.

Endogenne markery filtracji są substancjami wytwarzanymi w organizmie ze stosunkowo stałą szybkością, a oznaczanie ich stężenia osoczkowego może być wykorzystane do oszacowania GFR. Należy podkreślić, że stężenia wszystkich endogennych markerów filtracji podlegają wpływom czynników niezwiązanych z filtracją kłębuszkową (determinanty niezwiązane z GFR), co sprawia, że wyliczony wskaźnik filtracji jest jedynie większym lub mniejszym przybliżeniem rzeczywistego GFR [77].

„Złotym standardem” oceny GFR jest klirens egzogennej inuliny. Klasyczna metoda oznaczania nerkowego klirensu inuliny wymaga najczęściej dożylnego wlewu znacznika w celu uzyskania stałego stężenia osoczkowego, wielokrotnego pobierania krwi do oznaczeń stężenia znacznika w osoczu i założenia cewnika do pęcherza moczowego w celu przeprowadzenia zbiórki moczu. Co prawda inulina spełnia całkowicie wymagania niepodlegania wydalaniu pozanerkowemu, swobodnej filtracji i braku reabsorpcji/sekrecji kanalikowej, ale metoda oceny GFR za pomocą klirensu inuliny jest skomplikowana zarówno z punktu widzenia analitycznego, jak i praktycznego [23]. Z tego względu klirens inuliny jest rzadko stosowany w praktyce klinicznej i nie jest szeroko rozpowszechniony nawet w ośrodkach klinicznych. W Polsce ze względu na podobne trudności ekonomiczne i techniczne w ośrodkach klinicznych nie wprowadzono również klirensu joheksolu (Omnipaque).

Obecnie stosowane endogenne markery filtracji to niskocząsteczkowe metabolity, takie jak kreatynina, która jest wydalana z moczem i może zostać wykorzystana do badań klirensowych, lub białka surowicy, takie jak cystatyna C, całkowicie reabsorbowana i degradowana w kanalikach nerkowych, która tylko w śladowych ilościach pojawia się w moczu. Oznaczenia zarówno stężenia kreatyniny, jak i cystatyny C wykonuje się w oparciu o programy standaryzacji i harmonizacji oznaczeń obowiązujące na całym świecie. Standardowe materiały referencyjne dla kreatyniny i cystatyny C zostały opracowane odpowiednio w 2006 i 2010 roku [12,44,55,94].

Kreatynina jest pochodną kreatyny, związkiem organicznym o masie cząsteczkowej 113 Da. Jej powstawanie zależy od masy mięśniowej i spożycia mięsa w diecie, zmniejsza się z wiekiem, mniejsze jest u kobiet i osób rasy białej. Fizjologicznie jest filtrowana, wydzielana do moczu i wydalana wraz z nim. Głównymi determinantami fizjologicznymi są: wiek, płeć i masa mięśniowa. Czynnikiem powodującym niedokładność oznaczeń są: brak stanu

równowagi (np. ostre uszkodzenie nerek [*acute kidney injury* – AKI]), GFR >60 ml/min/1,73 m², skrajna masa mięśniowa i zmiany masy mięśniowej, dieta bogatobiałkowa oraz stosowanie niektórych leków (trimetoprim, cymetydyna i fenofibrat) powodujących zwiększenie cewkowego wydzielenia kreatyniny, a także antybiotyków powodujących wydalanie kreatyniny przez przewód pokarmowy. Warto pamiętać, że wraz ze zmniejszeniem GFR jest ona eliminowana z organizmu drogą pozanerkową (wydzielanie do przewodu pokarmowego). Laboratoryjnie oznaczana jest metodami: kolorymetryczną i enzymatyczną, standaryzowanymi według materiału referencyjnego SRM 967 (*standard reference material* – SRM) i spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego (*isotope-dilution mass spectrometry* – IDMS) [63,77].

Klirens endogennej kreatyniny jest praktycznie klinicznym „złotym standardem” wyliczania GFR. Nie jest metodą doskonałą, ponieważ przy stężeniach >6 mg/dl (=530,4 μmol/l) dochodzi do cewkowego wydzielenia kreatyniny do moczu i wydalania jej do przewodu pokarmowego [106]. Badanie wymaga również rzetelnej zbiórki moczu i dobrej współpracy pacjenta, co stanowi często podstawową trudność i ogranicza wiarygodność wyniku u chorych ambulatoryjnych lub podstawowej opieki zdrowotnej [161].

Cystatyna C jest nieglikozylowanym białkiem zasadowym o masie cząsteczkowej 13,300 Da, należącym do grupy inhibitorów proteinaz cysteinowych. Produkowana w stałym tempie przez wszystkie komórki jądrzaste, uwalniana jest do przestrzeni pozakomórkowej w stałych ilościach. Jest filtrowana, reabsorbowana i katabolizowana w nerkach. Wraz ze zmniejszeniem filtracji kłębuszkowej zwiększa się jej stężenie we krwi. Niestety, jej stężenie zwiększa się również w przebiegu chorób nowotworowych, nadczynności tarczycy, gorączki reumatycznej oraz po leczeniu steroidami; zmniejsza się natomiast z wiekiem i u osób rasy białej, w przebiegu niedoczynności tarczycy i leczenia cyklosporyną. Zwiększenie jej stężenia następuje wraz ze zmniejszeniem GFR i spowodowane jest brakiem eliminacji pozanerkowej. Głównymi determinantami fizjologicznymi są wiek i płeć. Czynniki przyczyniające się do niedokładności oznaczeń to brak stanu równowagi, GFR >60 ml/min/1,73 m², zmiany aktywności tarczycy, hormony steroidowe i prawdopodobnie otyłość.

Cystatyna C oznaczana jest metodami immunologicznymi standaryzowanymi względem ERM-DA471/IFCC (*European reference material* – ERM; *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* – IFCC). Metodami referencyjnymi są: PENIA (*particle-enhanced nephelometric immunoassay*), PETIA (*particle-enhanced turbidimetric immunoassay*) oraz *enzyme-amplified single radial immunodiffusion* [77].

2.1.2 Wzory estymacji GFR

Wzory estymacji GFR (eGFR) są rewolucyjnym podejściem do sposobu szacowania wartości klirensu kreatyniny/filtracji kłębuszkowej i stanowią znakomite rozwiązanie w świetle potrzeby wdrożenia badań przesiewowych w kierunku chorób nerek oraz w badaniach epidemiologicznych i praktyce lekarskiej, ponieważ opierają się na podstawowych danych osobowych (wiek, płeć, rasa), antropometrycznych (masa ciała) i laboratoryjnych (stężenie kreatyniny, azotu mocznika, albuminy) [161].

Wzór Cockcrofta-Gaulta był pierwszą udaną próbą szacowania GFR i zyskał popularność na całym świecie. Reprezentuje jednak mało dokładne przybliżenie prawdziwego GFR [20]. Późniejsze badania wykazały, że u osób w podeszłym wieku i w zaawansowanej chorobie nerek, kanalikowa sekrecja kreatyniny powoduje 35% przeszacowanie GFR [21,48,69]. Istotną niedogodnością jest również konieczność podawania masy ciała pacjenta, co uniemożliwiało zautomatyzowane wzoru i zastosowanie go na szeroką skalę [161].

W 1999 roku Levey i wsp. [72] opublikowali nowy wzór do wyliczania eGFR, uzyskany na podstawie analizy **MDRD** (Modification of Diet in Renal Disease), badania z randomizacją, w którym uczestniczyło 1628 chorych z PChN i które dotyczyło wpływu białkowych restrykcji dietetycznych oraz obniżenia ciśnienia tętniczego na progresję PChN, w którym GFR mierzono za pomocą moczowego klirensu jotalaminianu. Oryginalny wzór obejmował 6 zmiennych: stężenie kreatyniny w surowicy, wiek, płeć, rasę (Afroamerykanie i inni), surowiczy azot mocznika i stężenie albuminy. Mimo że latach 90. ubiegłego wieku nie dysponowano standardowym materiałem referencyjnym dla oznaczania stężenia kreatyniny, to wzór okazał się lepszy niż formuła Cockcrofta-Gaulta i od tamtej pory zyskał dużą popularność, mimo że dokładność szacowania prawdziwego GFR, zwłaszcza w zakresie >60 ml/min/1,73 m², była zaledwie umiarkowana. W roku 2000 wzór został uproszczony do 4 zmiennych, obejmujących stężenie kreatyniny w surowicy, wiek, płeć i rasę pacjenta [76], a w 2006 został ponownie wyrażony w oparciu o wystandaryzowane oznaczenie stężenia kreatyniny w surowicy za pomocą IDMS [74]. Wyeliminowano w ten sposób różnice we współczynniku kreatyninowym [73], ale mimo to nadal pewnym ograniczeniem stosowania równania MDRD 2006 było występowanie systematycznego błędu dokładności powodującego niedoszacowanie mGFR przy dużych jego wartościach oraz brak precyzji w tym zakresie. Skrócona wersja wzoru MDRD, mimo pewnych uchybień, dzięki swojej prostocie i możliwości automatycznego zamieszczania wyniku eGFR, ilekroć dokonuje się oznaczenia stężenia kreatyniny w surowicy, stała się podstawowym narzędziem w ręku

lekarzy praktyków, umożliwiającym diagnostykę PChN oraz ocenę stopnia jej zaawansowania.

W roku 2009 Levey i wsp. [78] opublikowali nowy wzór do estymacji GFR, oparty o te same parametry co MDRD 2006; nazwano go **CKD-EPI** (the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). Równanie CKD-EPI 2009 zostało opracowane w celu zniwelowania wad równania MDRD z 2006 roku. Wzór stosował najlepszy dostępny standard: oznaczenie stężenia kreatyniny w oparciu o IDMS, wykonane u 8254 pacjentów rasy czarnej i białej, z różnego stopnia upośledzeniem funkcji nerek, u których jednocześnie w celu oceny prawdziwego GFR wykonano klirens jotalaminianu. CKD-EPI tworzono na podstawie zgromadzonych danych z różnych badań, w tym od osób z chorobami nerek i bez nich oraz od osób chorych na cukrzycę, biorców przeszczepów narządów i potencjalnych dawców [79,137]. Liczne badania wykazały większą poprawność CKD-EPI 2009 niż MDRD 2006, co wyraża się mniejszym odsetkiem osób z $GFR < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, czyli tych, u których niesłusznie zdiagnozowano PChN [42].

Niedoskonałość wzorów służących do szacowania GFR opartych na stężeniu kreatyniny w surowicy wymusiła konieczność poszukiwań nowych metod. Poszukiwano zatem innych, niezwiązanych z kreatyniną, wskaźników funkcji nerek. Takim obiecującym markerem okazało się stężenie cystatyny C, ocenione w kilku badaniach, które wykazały, że nie zależy ono od płci, masy mięśniowej ani stanu odżywienia. Niestety cystatyna C również podlega wpływom determinant niezwiązanych z GFR i jej stężenie surowicze zwiększa się u osób w starszym wieku, w przebiegu cukrzycy, u osób otyłych, palaczy tytoniu, u osób z nadczynnością tarczycy oraz z chorobami zapalnymi, niezależnie od mierzonego GFR [85,136].

W 2011 roku wystandaryzowano oznaczenie cystatyny C i wprowadzono nowe estymacje **CKD-EPI 2012** [55]. CKD-EPI 2012 cystatyna C oraz CKD-EPI kreatynina–cystatyna C 2012 zostały zweryfikowane i zwalidowane w różnych populacjach [56]. Badania potwierdziły wyższość $eGFR_{\text{krea-cysC}}$ nad $eGFR_{\text{krea}}$ i $eGFR_{\text{cysC}}$ osobno oraz to, że ten wzór nie wymaga wprowadzania lokalnych współczynników dla ras i grup etnicznych [84,119,127,143]. Okazało się również, że lepsze jest przewidywanie ryzyka niekorzystnych zdarzeń klinicznych przy zastosowaniu kombinowanego wzoru w odniesieniu do CKD-EPI opartego na stężeniu kreatyniny i cystatyny C osobno [1]. Obecne wytyczne dla PChN według KDIGO nakazują korzystanie z $eGFR_{\text{cysC}}$ u chorych z GFR_{krea} w zakresie $45\text{--}59 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ i bez dodatkowych objawów uszkodzenia nerek w celu potwierdzenia lub wykluczenia PChN u tych chorych [64].

Nefrolodzy nie mają wątpliwości, że należy zwiększyć nacisk na wczesne rozpoznanie PChN i interwencje mające na celu spowolnienie postępu w kierunku schyłkowej niewydolności nerek (*end stage renal disease – ESRD*). Późne kierowanie do specjalisty nefrologa może doprowadzić do sytuacji, w której nefrolodzy koncentrują się na ratującym życie leczeniu nerkozastępczym, bez możliwości wdrożenia terapii nefroprotektoryjnej stosowanej we wczesnej fazie choroby. Dlatego też działanie nefrologów paradoksalnie w znacznym stopniu zależy od metody (oraz jej dokładności) oceny tempa przesączania kłębuszkowego (eGFR), które jest silnym predyktorem punktów końcowych nerkowych i układu sercowo-naczyniowego, jak również śmiertelności ze wszystkich przyczyn [49].

Powstanie formuły CKD-EPI wskazuje na ewolucję sposobu szacowania GFR. Udokumentowano, że równanie CKD-EPI jest lepszą metodą szacowania GFR niż równanie MDRD oraz – co jest oczywiste – wzór Cockcrofta-Gaulta [30,88]. Należy jednak pamiętać, że eGFR to wskaźnik szacowany, a nie wartość bezwzględna określająca funkcję nerek, i że stanowi ono niedoskonałe przybliżenie prawdziwej wartości przesączania kłębuszkowego, zwłaszcza że bazuje na stężeniach parametrów i determinant niezależnych od GFR, co zdecydowanie ogranicza skuteczność diagnostyczną opracowanych formuł.

2.2 Uromodulina

2.2.1 Historia odkrycia UM

Uromodulina (UM), czyli białko Tamma-Horsfalla (*Tamm-Horsfall protein – THP*), w warunkach fizjologicznych stanowi główne białko moczu. W 1895 roku zostało ono po raz pierwszy opisane przez Mornera jako „mukoproteina moczu” (*urinary mucoprotein*) [64,70], a w 1950 roku ponownie odkryte przez Igora Tamma i Franka Horsfalla, którzy dokonali precypitacji białka moczu hamującego hemaglutynację wirusów [141,142]. Prekursorskie badania Tamma i Horsfalla, a następnie prace Gottschalka [41] i Odina [98], doprowadziły do poznania sekwencji aminokwasowej i struktury węglowodanowej tego białka. Na cześć odkrywców białko zostało nazwane białkiem Tamma-Horsfalla (THP) [26,131]. W 1985 roku Muchmore i Decker [93] wyizolowali z moczu ciężarnych kobiet białko działające immunosupresyjnie na komórki T *in vitro*, które nazwali uromoduliną (UM). Wkrótce później Pennica i wsp. [105] wykazali identyczność sekwencji aminokwasowej UM i THP. Uromodulina wykazywała wiele wspólnych cech z THP (30% zawartości węglowodanów, tendencja do tworzenia konglomeratów oraz bardzo duża liczba wewnątrzłańcuchowych mostków dwusiarczkowych) [26,93]. Tożsamość THP i UM potwierdzili w 1998 roku polscy badacze Olczak i wsp. [96], którzy przebadali węglowodanową część cząsteczki UM

izolowanej od dwóch grup dawców żeńskich: zdrowych kobiet niebędących w ciąży (oznaczone jako THP) oraz od kobiet w ciąży (nazwane UM), i dowiedli braku jakichkolwiek różnic w strukturach węglowodanowych tych glikoprotein. Wykazali również jednakową reaktywność tych białek w stosunku do swoistych lektyn. Obecnie obydwa terminy: białko Tamma-Horsfalla i uromodulina (UM/THP) stosuje się zamiennie.

2.2.2 Struktura, synteza i uwalnianie UM

Uromodulina jest dużą glikoproteiną o masie cząsteczkowej około 80–90 kDa, ulegającą wyłącznej ekspresji w grubym ramieniu wstępującym pętli Henlego oraz w początkowym odcinku kanalika dystalnego nerki [3,4,53,93,105,131]. Jest białkiem zakotwiczonym w błonie cytoplazmatycznej komórek nabłonkowych za pomocą kotwicy glikozylofosfatydyloinozytolu (GPI), zlokalizowanego w apikalnej części komórek nabłonkowych kanalika nerkowego [126], skąd – odcinana proteolitycznie – uwalniana jest do światła kanalików nerkowych i w ten sposób przedostaje się do moczu [124]. Fizjologicznie UM wydzielana jest do moczu w ilości 100–200 mg/d [19]. Wykazano również, że może być uwalniana z komórek kanalika nerkowego w boczno-podstawnym biegunie błony komórkowej [3,58]. Tą drogą białko przedostaje się do przestrzeni śródmiąższowej nerek oraz do krwi. Wykazano, że w szczurzej nerce uwalnianie UM w rejonie apikalnym i bazolateralnym zachodzi w stosunku ilościowym 2:1 [3]. Stężenie UM w surowicy u zdrowych osób waha się w granicach 70–540 ng/ml [87,151]. Znaczenie oraz mechanizm uwalniania UM w rejonie boczno-podstawnym komórki kanalika nerkowego nie zostały jeszcze wyjaśnione [34,60].

2.2.3 Regulacja wydzielania i swoistość tkankowa UM

Uromodulina jest białkiem swoistym dla nerek i ekspresja genu *UM* zachodzi wyłącznie w komórkach nabłonka wyściełającego ramię grube pętli Henlego oraz w początkowym odcinku kanalika krętego dystalnego [3,4]. U ludzi można ją zidentyfikować już w 16. tygodniu ciąży, a od 20. tygodnia znajduje się ją w płynie owodniowym. Ekspresja UM systematycznie zwiększa się aż do okresu dojrzałości, kiedy jej stężenie w moczu ulega stabilizacji, a potem stopniowo maleje [57,59,]. Czynniki kontrolujące ekspresję i sekrecję UM nie zostały jeszcze zdefiniowane. Zaobserwowano, że czynnik transkrypcyjny HNF1 (*hepatic nuclear factor 1*) zwiększa ekspresję UM i jego inaktywacja *in vivo* skutkuje zmniejszeniem transkrypcji genu *UMOD* [43]. Potwierdzono, że mutacje w *HNF1* są związane z młodzieńczą rodzinną nefropatią hiperurykemiczną (*familial juvenile*

hyperuricemic nephropathy – FJHN), prawdopodobnie za pośrednictwem UM [9]. U myszy znokautowanie genu dla COX-2 zmniejsza stężenie UM, przy czym nie wykazano, czy delecja COX-2 jest specyficzna dla UM [28]. Czynnikiem zwiększającym ekspresję i wydzielanie UM są: sól spożyta z pokarmami, a także przewlekłe stosowanie diuretyków pętlowych [29,149,156] oraz dieta bogatobiałkowa [2]. Czynnikiem zmniejszającym ekspresję/wydzielanie UM są: inhibitory konwertazy angiotensyny [46], prawdopodobnie kolchicina [14,123] oraz niedrożność dróg moczowych [138]. Niektórzy uważają, że wydzielanie UM zależy od objętości dobowej moczu [145], choć nie zostało to ostatecznie potwierdzone [2].

2.2.4 Funkcja biologiczna UM

Mimo wielu przeprowadzonych badań biologiczna funkcja UM jest nadal nie do końca zdefiniowana. Niemniej jednak wiąże się ją z równowagą wodno-solną kanalików nerkowych i ochroną przed infekcjami dróg moczowych oraz przed tworzeniem kamieni w układzie moczowym, a także przypisuje się jej rolę immunomodulacyjną.

Specyficzną cechą UM jest skłonność do żelatynizacji/agregacji w roztworach soli, co pozwala przypuszczać, że może odgrywać rolę w utrzymaniu równowagi wodno-elektrolitowej w ramieniu wstępującym pętli Henlego oraz w początkowym odcinku kanalika dystalnego nerki [126]. W zależności od warunków jonowych UM może tworzyć strukturę podobną do żelu, która jest nieprzenikliwa dla wody, ale umożliwia przepływ jonów [59,152]. Renigunta i wsp. [113] udokumentowali, że zwiększenie ekspresji UM znamienne zwiększa aktywność błonowego kanału potasowego ROMK2 zależnego od ATP, który odgrywa ważną rolę w absorpcji zwrotnej potasu w ramieniu grubym pętli Henlego oraz w wydzielaniu potasu w kanaliku zbiorczym. Niedobór UM u myszy pozbawionych genu *UM* prowadzi do zmniejszenia liczby tych kanałów w błonie komórkowej. Zaobserwowano także zmiany regulacji innych transporterów jonowych u myszy z niedoborem UM [5,113].

Badania na myszach pozbawionych genu *UMOD* wykazały ochronną rolę UM w zakażeniach dróg moczowych [7,91]; uważa się, że stanowi ona obronę przed zakażeniami bakteryjnymi [15,101,110,121,131]. Jej funkcja zależna jest od zdolności wiązania się z patogenami typowymi dla tych zakażeń, np. typem 1. bakterii *E. coli* wytwarzającym fimbrie, rywalizując o ich wiązanie się z uropłakiną na powierzchni nabłonka dróg moczowych [101]. UM działa prawdopodobnie poprzez wychwytywanie potencjalnie szkodliwych drobnoustrojów oraz indukcję odpowiedzi immunologicznej przeciwko uropatogenom [121]. W podobny sposób UM może wylapywać komórki bakterii *Proteus mirabilis* i *Klebsiella*

pneumoniae, które mają zdolność adhezji do komórek nabłonkowych dróg moczowych poprzez fimbrie na powierzchni komórki bakteryjnej [57,108].

Uromodulina pełni także rolę w zapobieganiu tworzeniu się kamieni nerkowych. W warunkach prawidłowych może sekwestrować wapń i w ten sposób hamować krystalizację kryształów wapniowych (rola ujemnego ładunku białka dzięki obecności kwasów sjałowych oraz mostków dwusiarczkowych) [140]. Co więcej, niedobór UM u myszy ze znokautowanym genem *UMOD* prowadzi do nasilenia tworzenia się złogów wapniowych w nerkach [101]. Należy podkreślić, że badania przeprowadzone u ludzi nie potwierdziły obserwacji przeprowadzonych w układzie zwierzęcym, a osoby z małymi stężeniami UM w moczu nie wykazywały zwiększonej skłonności do zakażeń dróg moczowych i kamicy nerkowej [7,90,91,101], chociaż wykazano również, że osoby ze skłonnością do powstawania kamieni nerkowych charakteryzują się zmniejszonym wydalaniem tego białka do moczu [62]. Prawdopodobnie u osób zdrowych zwiększa się wydzielanie UM do moczu w odpowiedzi na zwiększenie stężenia wapnia i szczawianów, podczas gdy ten mechanizm samoobrony nie działa u osób ze skłonnościami do tworzenia kamieni nerkowych [39], stąd niektórzy uważają, że UM może być wykorzystana jako biomarker kamicy nerek, niezależnie od rodzaju tworzących się kamieni [71].

Muchmore i Decker wykazali, że UM ma działanie immunosupresyjne [93]. Aktywuje neutrofile [52,68,153], monocyty [139,159] i komórki dendrytyczne [122]. Odgrywa rolę chemoatraktanta dla monocytów, neutrofilii oraz komórek dendrytycznych szpiku kostnego poprzez receptory *Toll-like 4* (TLR4) [51,128]. Odgrywa rolę w procesach immunologicznych zachodzących w obrębie nerek [115,116]. Postulowano prozapalną rolę UM prowadzącą do zniszczenia integralności nefronu, infiltracji komórek zapalnych po uwolnieniu UM do tkanki śródmiąższowej nerek oraz zwiększenia stężenia przeciwciał skierowanych przeciwko UM, obserwowanego w kilku chorobach zapalnych nerek i dróg moczowych [122]. Nie wszyscy potwierdzają jednak prozapalną rolę UM. El-Achkar i wsp. [33] wykazali, że w modelu niedokrwiennej reperfuzy u myszy pozbawionych UM rozwijają się większe morfologiczne i czynnościowe zaburzenia niż u szczepów myszy dzikich. Liu i wsp. [82] wykazali ponadto, że eliminacja ekspresji UM w mysich nerkach skutkuje znacznym zwiększeniem stężenia krążących cytokin: IFN- γ , IL-1 β , TNF- α , CXCL1 i IL-13, czemu towarzyszy powiększenie śledziony i infiltracja makrofagami. Autorzy wiążą taką sytuację z niedoborem UM, który jest ważnym czynnikiem klirensującym cytokiny zapalne poprzez tworzenie *in vivo* kompleksów wydalanych z moczem, co wykazali już wcześniej Hessen i wsp. w 1987 roku [51].

2.2.5 Mutacje w genie UM

Uromodulina syntetyzowana jest jako 640-aminokwasowy prekursor, który podlega obróbce potranslacyjnej w siateczce śródplazmatycznej (ER) w części apikalnej komórek nabłonkowych kanalika nerkowego [31,114]. Schaeffer i wsp. [126] wykazali, że mutacje w genach *UMOD* prowadzą do przedwczesnej (wewnątrzkomórkowej) polimeryzacji UM i utraty jej zakotwiczenia w błonie. Mutacje w genie *UMOD* wpływają na funkcje i ekspresję UM, co skutkuje nieprawidłową akumulacją zmutowanego białka wewnątrz komórek kanalików nerkowych i nasileniem apoptozy oraz uszkodzenia kanalików. Rampoldi i wsp. [111] wykazali ponadto, że mutacje *UMOD* powodują opóźnione dojrzewanie białka w siateczce śródplazmatycznej oraz opóźniony lub zaburzony eksport zmutowanego białka na zewnątrz komórki, z dłuższym czasem retencji UM w ER [87,126], co jest prawdopodobnie spowodowane nieprawidłowym pofałdowaniem białka [26,109].

2.2.6 Uromodulina w badaniach GWAS

Badania genomu człowieka w aspekcie określonych chorób (badania GWAS – *genome-wide association studies*) doprowadziły do identyfikacji wariantów genomowego *loci* związanych z funkcją nerek i ich podatnością na choroby. Modyfikacje w genie *UMOD* były związane ze zwiększonym ryzykiem PChN, kamicą nerkową oraz nadciśnieniem tętniczym. Pierwsze badania GWAS u chorych na PChN, przeprowadzone w grupie około 20 000 osób, określiły występowanie polimorfizmu pojedynczego nukleotydu związanego z ryzykiem rozwoju PChN. Mniejsza częstość występowania allelu wiązała się z 20% zmniejszeniem ryzyka PChN, a była skojarzona niezależnie z głównymi czynnikami ryzyka chorób nerek, takimi jak podeszły wiek, płeć męska, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca. Potwierdzono silny związek regionu rs12917707 z PChN oraz jego powiązanie z dwoma wskaźnikami czynności nerek: $eGFR_{krea}$ i $eGFR_{cysC}$. Obecność wariantu genu *UM* wykazywała efekt ochrony i wiązała się zarówno z większymi wartościami $eGFR_{cysC}$ i $eGFR_{krea}$, jak i mniejszym ryzykiem rozwoju PChN [65,67]. Badania Kottgen i wsp. [67] oraz Gudbjartsson i wsp. [45] w dużej populacji islandzkiej wykazały, że inny polimorfizm pojedynczego nukleotydu zlokalizowanego powyżej genu *UM* jest związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju PChN i zwiększonym stężeniem kreatyniny [18,104,114].

2.2.7 Uromodulina w chorobach nerek

Przeprowadzone dotychczas badania potwierdziły potencjalną rolę UM w różnych sytuacjach klinicznych, takich jak torbielowatość rdzenia nerki [50], choroby nerek

z torbielowatością kłębuszków [111], kamica nerek [91], infekcje dróg moczowych [7,57,93] oraz AKI [32,33]. Ostatnio wykazano, że polimorfizmy genu *UMOD* są silnie związane z występowaniem PChN [65], co znacznie zwiększyło zainteresowanie rolą UM w postępującym uszkodzeniu nerek [130].

Choroby nerek związane z UM

Zidentyfikowano mutację genu *UM*, która jest przyczyną oddzielnej grupy rzadkich chorób związanych z UM. Mutacje genu *UMOD* wiążą się z występowaniem 3 fenotypów: FJHN, torbielowatości rdzenia nerek typu 2 (*medullary cystic kidney disease type 2* – MCKD2) i choroby nerek z torbielowatością kłębuszków (*glomerulocystic kidney disease* – GCKD). Cechami tych chorób są: hiperurykemia, nadciśnienie tętnicze, zmniejszenie stężenia UM w moczu, nefropatia cewkowo-śródmiąższowa oraz progresja do niewydolności nerek. Ponieważ wszystkie te fenotypy są spowodowane mutacjami w genie *UMOD*, nadano im wspólną nazwę: choroby związane z UM (*uromodulin associated kidney disease* – UAKD) [154,160]. Scolari i wsp. [129] nazwali te choroby „chorobami spichrzeniowymi UM” (*uromodulin storage diseases*), ponieważ podstawą ich patologii jest gromadzenie się UM w ER komórek kanalików nerkowych. Te trzy choroby (FJHN, MCKD2 i GCKD) są dziedziczone w sposób autosomalny dominujący.

Główną cechą FJHN/MCKD2 jest przewlekła postępująca niewydolność pochodzenia kanalikowo-śródmiąższowego. Hiperurykemia występuje u większości pacjentów, ale nie u wszystkich członków ich rodzin. Często występują torbiele rdzenia nerki, potwierdzone w badaniu radiologicznym nerek. Niektórzy autorzy uważają, że FJHN i MCKD2 to dwie twarze tej samej choroby [50]. Najwcześniejszym objawem chorób z grupy UAKD jest hiperurykemia, będąca wynikiem redukcji frakcjonowanego wydalania kwasu moczowego, występującej u około 80% pacjentów, często związanej z występowaniem dny moczanowej [11,50]. Niemal stałym objawem jest umiarkowane upośledzenie zdolności zagęszczania moczu, powodujące objawy poliurii i polidypsji [22]. Do rozwoju PChN dochodzi pomiędzy 2. a 4. dekadą życia, jakkolwiek obserwuje się zmienność zarówno wewnątrzrodzinną, jak i pomiędzy rodzinami. Histologiczne zmiany w nerkach charakteryzują się rozlanym zwłóknieniem przestrzeni cewkowo-śródmiąższowej, umiarkowanymi naciekami komórek zapalnych oraz zanikiem cewek nerkowych [22,111,114]. W badaniach immunofluorescencyjnych i immunochemicznych bioptatów nerek pacjentów z UAKD wykazano duże wewnątrzkomórkowe agregaty UM zlokalizowane w komórkach wyścielających ramię grube pętli Henlego [8,10].

Cechą charakterystyczną tych chorób są również zaburzenia jonowe i cystogeneza. Grube ramię wstępujące pętli Henlego zawiera liczne transportery jonowe, w tym NKCC2, który jest ważnym transporterem wapnia i magnezu. Mutacje *UMOD* mogą powodować zmiany aktywności transporterów w kanalikule dystalnym [61]. Cystogeneza u pacjentów z MCKD2 i GCKD może być skutkiem działania różnych mechanizmów. Małe cysty opisane u pacjentów z MCKD2 mogą się tworzyć z rozszerzonych kanalików w niedoborze UM, która hamuje nadmierną resorpcję wody w ramieniu wstępującym pętli Henlego. U pacjentów z GCKD następuje zablokowanie kanalików wskutek rozszerzenia torebki Bowmana [111,129].

Choroby nerek związane z UM diagnozuje się na podstawie trzech objawów: (1) obecności mutacji w genie *UMOD*, (2) zwiększenia stężenia UM w barwieniu immunologicznym preparatów biopsyjnych nerek oraz (3) zmniejszonego stężenia UM w moczu [57,89].

Nefropatia wałeczkowa i powstawanie wałeczków w AKI

Nefropatia wałeczkowa może występować w różnych stadiach PChN towarzyszącej szpiczakowi mnogiemu. Sanders i Brooker [123] oraz Huang i wsp. [54] wykazali, że UM wiąże specyficznie białko Bence'a Jonesa i tworzy wałeczki charakterystyczne dla szpiczaka. Potwierdzono, że agregacja tego białka doprowadza do tworzenia się zatorów w świetle dróg moczowych, związanych z tworzeniem się wałeczków [123,157]. Uromodulina jest składnikiem we wszystkich typach wałeczków występujących w moczu [35,37], również wałeczków występujących w AKI [103], w związku z czym przypuszcza się, że białko to odgrywa kluczową rolę w obturacji kanalików nerkowych w przebiegu AKI [33,47,133]. Ostatnio Wu i wsp. [155] wykazali, że receptory TLR4 odgrywają niekorzystną rolę w uszkodzeniu niedokrwiennym po reperfuzji (*ischemia reperfusion injury* – IRI) przez promowanie zapalenia i apoptozy. Wkrótce potem El-Achkar i wsp. [33] potwierdzili ochronne działanie UM w uszkodzeniu niedokrwiennym i zaobserwowali, że UM skutkuje większą reakcją zapalną, zwiększonym tworzeniem wałeczków i pogorszeniem funkcji nerek. Wydaje się zatem, że UM nie tylko nie jest konieczna do tworzenia wałeczków w AKI – w badaniu na myszach ze znokautowanym genem *UM* wykazano, że białko to może wykazywać działanie ochronne przed uszkodzeniem nerek w AKI [33].

Uromodulina w nefropatii IgA

Obara i wsp. [97] oceniali wartość diagnostyczną oznaczania kompleksów IgA–UM w moczu metodą ELISA. U ponad 80% pacjentów z nefropatią IgA wykazano obecność kompleksów IgA–UM w moczu (wynik dodatni). Po analizie czułości i swoistości uznano, że oznaczanie moczowych kompleksów IgA–UM metodą ELISA może się stać użyteczną nieinwazyjną metodą diagnostyczną dla nefropatii IgA. Ostatnie badania Zhou i wsp. [162] wykazały, że mniejsze stężenia UM w moczu chorych z nefropatią IgA oraz białkomocz stanowią czynniki ryzyka szybszego postępu choroby nerek wyrażonego zmniejszeniem eGFR. Ponadto stężenie UM w moczu korelowało odwrotnie z uszkodzeniem kanalików nerkowych. Pacjenci z większym zanikiem/zwłóknieniem warstwy śródmiąższowej nerek charakteryzowali się mniejszym wydalaniem UM z moczem. Tak więc UM może być potencjalnym wskaźnikiem postępu choroby nerek u chorych z nefropatią IgA [162].

Uromodulina w AKI

Niewiele badań dotyczy zmiany ekspresji UM po wystąpieniu AKI. Romero i wsp. [118] sugerowali, że większe stężenia UM u pacjentów po przeszczepieniu nerki związane są z mniejszym ryzykiem rozwoju AKI. Szybkie tempo wydzielania u pacjentów z istniejącą wcześniej chorobą nerek może wskazywać na dużą masę nefronów i jednocześnie większą rezerwę nerkową. Jeżeli UM pełni rolę ochronną i przeciwzapalną w stosunku do uszkodzenia nerek, to większe stężenie UM może pełnić funkcję ochronną [32,33]. Nie ma jednak wiarygodnych dowodów na określone charakterystyczne zmiany w ekspresji UM towarzyszące eksperymentalnemu AKI [33].

Uromodulina w PChN

Uzasadnieniem wprowadzenia oznaczeń stężenia UM w moczu jest możliwość wdrożenia tego oznaczenia jako narzędzia prognostycznego i/lub biomarkera choroby. Przeprowadzono wiele małych badań u ludzi, w których oznaczano tempo wydalania UM z moczem w przebiegu PChN [151]. Interpretacja wyników tych badań jest ograniczona ze względu na niewielką liczbę chorych. Wydalanie UM może odzwierciedlać co najmniej 2 czynniki: masę czynnych nefronów i/lub regulację ekspresji spowodowaną chorobą nerek [144]. Wydalanie UM z moczem zmniejsza się wraz ze zmniejszeniem filtracji kłębuszkowej [83,144]. Aby lepiej skorelować wydalanie UM z jej funkcją biologiczną, skorygowano wydalanie UM w stosunku do masy pozostałych funkcjonujących nefronów przez znormalizowanie 24-godzinne wydalania białka w stosunku do GFR, w sposób jaki

przedstawili Thornley i wsp. [144]. Badacze ci wykazali, że skorygowane wydalanie dobowe UM (wyrażone w $\mu\text{g UM/ml GFR}$) było większe u pacjentów z PChN.

Ponadto, jak wykazali w biopsji nerki u pacjentów z PChN, liczba prawidłowych kanalików nerkowych była związana ze znamienne większym wydalaniem UM. Całkowite wydalanie UM zmniejsza się zatem wraz ze zmniejszeniem masy czynnych nefronów obserwowanym w PChN, ale ilość UM wydzielana przez pojedynczy funkcjonujący nefron ulega zwiększeniu [144]. Taką sytuację wykazano we wczesnych stadiach cukrzycy bez zmniejszenia GFR (co zostanie przedstawione w dalszej części tekstu). To również tłumaczy odkrycie Kottgen i wsp. [66], którzy zaobserwowali, że zwiększenie stężenia UM w moczu poprzedza początek choroby. Autorzy uważają, że najlepszym indeksem pomiaru jest oznaczenie 24-godzinne wydalania UM znormalizowanego na GFR.

Związek UM z PChN jest prawdopodobnie najlepiej reprezentowany przez nefropatię cukrzycową. Eksperymenty przeprowadzane u szczurów wykazały, że wydalanie UM zwiększa się stopniowo po zaindukowaniu cukrzycy streptozotocyną w sposób niezależny od masy nerek [112,145]. Wydalanie UM u chorych na cukrzycę odzwierciedla te spostrzeżenia eksperymentalne. U osób chorych na cukrzycę i z wczesnym stadium PChN, ale bez zmniejszenia GFR, stwierdzono zwiększone 24-godzinne wydalanie UM [17,107,148,163], co może korelować z hiperfiltracją występującą w przebiegu cukrzycy [148]. W zaawansowanej chorobie 24-godzinne wydalanie UM ulega zmniejszeniu, co może z kolei świadczyć o zmniejszonej masie czynnych nefronów [146,156].

Wykazane ostatnio związki pomiędzy wariantami UM a PChN [45,65,66] oraz związki mutacji w genie *UMOD* z występowaniem FJHN [50] wzbudziły ponowne zainteresowanie badaniami nad UM [130]; nadal jednak nie wyjaśniono związku przyczynowego pomiędzy UM a PChN. Produkcja UM w przeliczeniu na liczbę funkcjonujących nefronów zwiększa się w przebiegu PChN [144], a brak zwiększenia stężenia UM jest związany z pogorszeniem GFR i większą martwicą kanalików [108].

Wykazano, że dwa polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (*single-nucleotide polymorphism* – SNP) w regionie promotora genu *UMOD* są związane ze zmniejszonym ryzykiem rozwoju PChN i mniejszym wydalaniem UM z moczem [65,66,132]. Potwierdzenie takiego związku wskazuje na rolę UM w patogenezie PChN, a mniejsze stężenie UM w moczu może wskazywać na to, że te warianty mają właściwości protekcyjne. Niemniej jednak SNP w genie *UMOD* stanowią tylko znikomy odsetek zmiennych determinujących funkcję nerek [65], co przemawia przeciwko patogennej roli opisanych *loci*. Niestety taka sytuacja reprezentuje powszechnie występującą pułapkę badań GWAS [88,114] i rzadkie

polimorfizmy mogą się niejednakowo wiązać z nieodkrytymi rzadkimi wariantami, mutacjami strukturalnymi lub innymi interakcjami, które można bardziej bezpośrednio wiązać z patogenezą choroby [40,86].

Związek pomiędzy UM a PChN nie został ostatecznie potwierdzony ani wyjaśniony [34].

3. CEL PRACY

Celem badania była próba potwierdzenia związku pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi a przebiegiem PChN. Ocenie poddano użyteczność diagnostyczną surowiczego stężenia UM poprzez realizację celów szczegółowych:

1. oznaczenie i analizę porównawczą stężenia UM w surowicy krwi chorych z PChN oraz w grupie osób z prawidłową funkcją nerek,
2. ocenę relacji pomiędzy stężeniem UM w surowicy a retencyjnymi wskaźnikami funkcji nerek: kreatyniny oraz cystatyny C,
3. poszukiwanie związku pomiędzy zmianą stężenia UM w surowicy pacjentów a stadium zaawansowania PChN ocenianym za pomocą eGFR, ze szczególnym uwzględnieniem oceny wartości diagnostycznej testu dla dyskryminacji poszczególnych stadiów PChN,
4. poszukiwanie zależności pomiędzy zmianą surowiczego stężenia UM oraz pomiarem wybranych wskaźników stanu zapalnego (fibrynogen, hsCRP, IL-6, IL-8, IL-18), gospodarki wapniowo-fosforanowej (Ca, Pi, iPTH, FGF-23), stanu odżywienia (albumina, cholesterol całkowity) oraz parametrami krwi obwodowej,
5. ocena związku między stężeniem UM w surowicy a występowaniem powikłań sercowo-naczyniowych ocenianych stężeniem propeptydu natriuretycznego (NT-proBNP) w surowicy krwi pacjentów z PChN.

4. MATERIAŁ I METODY

4.1 Charakterystyka badanej grupy chorych

Grupę badanych stanowiło 79 chorych (38 kobiet i 51 mężczyzn) z PChN w stadium I–IV, pozostających pod stałą kontrolą Poradni Nefrologicznej przy Klinice Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Średni wiek pacjentów w badanej grupie wynosił 60 ± 17 lat. Najmłodszy pacjent miał 19 lat, najstarszy 87. Grupa kontrolna liczyła 30 osób zbliżonych wiekowo (16 kobiet, 14 mężczyzn).

Kryteria włączenia do badania obejmowały kobiety i mężczyzn po 18. roku życia chorych z PChN w stadiach II–IV.

Kryteriami wykluczenia były: brak zgody na udział w badaniu, ciąża i laktacja, rozpoznane choroby nowotworowe, przebyte albo aktywne wirusowe zapalenie wątroby typu B lub C, ostry stan zapalny.

Udział pacjentów w badaniu był dobrowolny. Każdy pacjent podpisywał zgodę na wgląd w historię choroby, pobranie krwi, wykonanie badań laboratoryjnych i analizowanie wyników tych badań. Projekt badawczy uzyskał aprobatę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego KBET/212/B/2010.

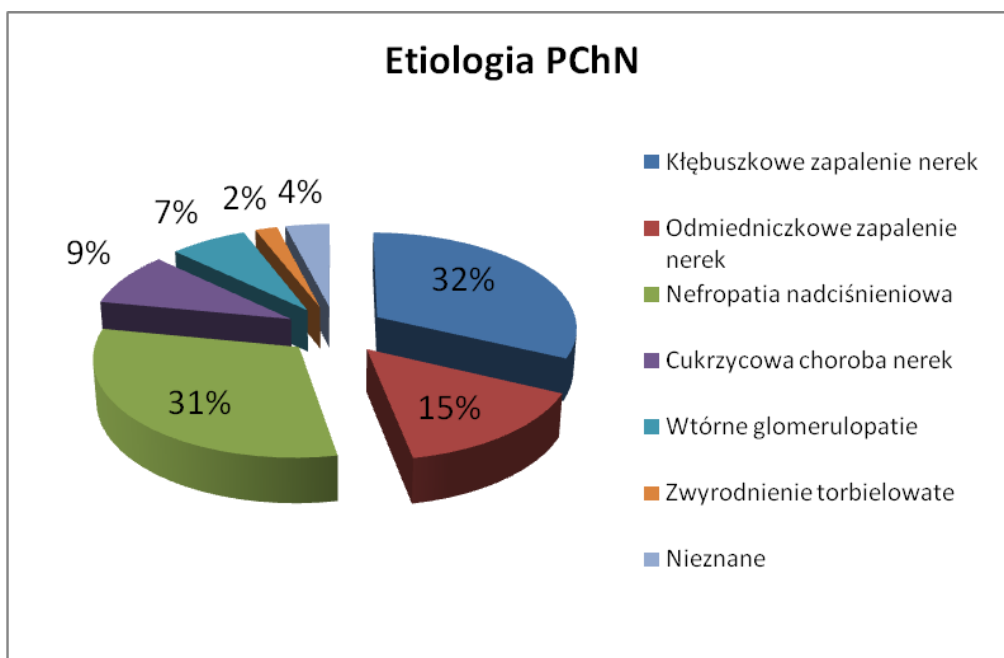
W czasie rutynowej wizyty pacjenta w poradni nefrologicznej przeprowadzano wywiad oraz badanie podmiotowe i przedmiotowe z pomiarem wzrostu, masy ciała i ciśnienia tętniczego. Wykonano rutynowe dla monitorowania PChN badania laboratoryjne. Na podstawie uzyskanych informacji ustalano przyczynę choroby, jej przebieg (ze szczególnym uwzględnieniem przebytych zdarzeń sercowo-naczyniowych) oraz sposób leczenia. Dodatkowo w zabezpieczonej równolegle próbce surowicy krwi wykonano oznaczenia stężenia UM i innych parametrów immunochemicznych (omówienie w dalszej części tekstu).

4.2 Przyczyny PChN

Przyczyny PChN wymieniono w tabeli 1., a odsetek przyczyn PChN przedstawiono graficznie na rycinie 1.

Tabela 1. Przyczyny PChN w badanej grupie chorych

przyczyna choroby nerek	liczba pacjentów n	%
kłębuszkowe zapalenie nerek	29	32
odmiedniczkowe zapalenie nerek	13	15
nefropatia nadciśnieniowa	28	31
cukrzycowa choroba nerek	8	9
wtórne glomerulopatie	6	7
zwyrodnienie torbielowate	2	2
nieznana	4	4



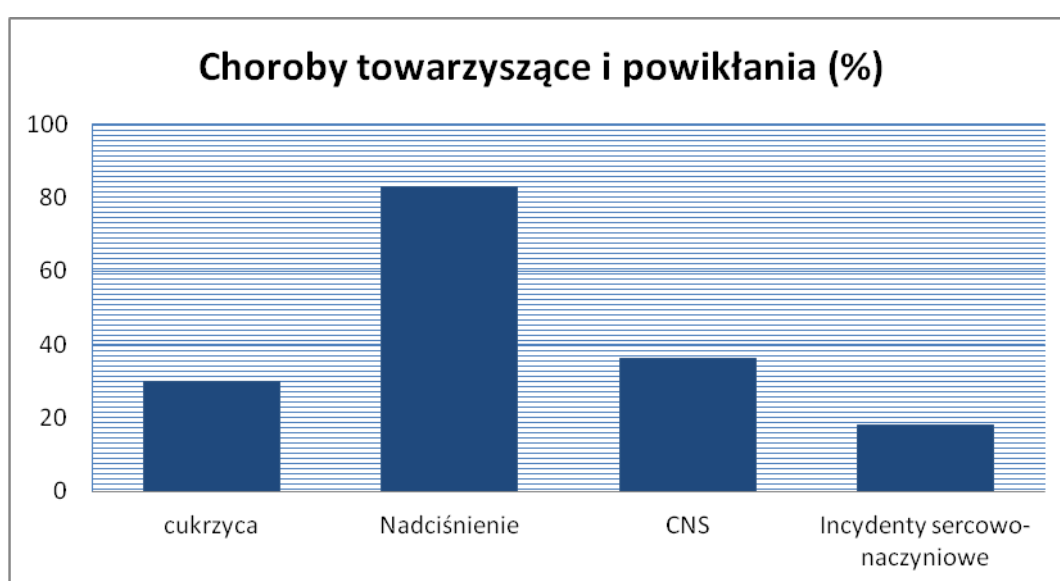
Rycina 1. Wykres ilustrujący odsetek przyczyn PChN w badanej grupie chorych

4.3 Powikłania PChN

U zakwalifikowanych do badania pacjentów stwierdzono powikłania oraz choroby towarzyszące typowe dla przebiegu PChN: cukrzycę, nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca oraz występowanie zdarzeń sercowo-naczyniowych. Ich charakterystykę przedstawiono w tabeli 2. i na rycinie 2.

Tabela 2. Charakterystyka badanej grupy pod względem występowania chorób towarzyszących i powikłań

choroba	liczba pacjentów n	%
cukrzyca	27	30
nadciśnienie tętnicze	75	83
choroba niedokrwienna serca (ChNS)	32	36
zdarzenia sercowo-naczyniowe	16	18



Rycina 2. Wykres ilustrujący występowanie chorób towarzyszących i powikłań w badanej grupie chorych

4.4 Pomiar i ocena ciśnienia tętniczego

Pomiaru ciśnienia tętniczego dokonywano w trakcie wizyty kontrolnej w poradni nefrologicznej. Po 10-minutowym odpoczynku pacjenta w pozycji siedzącej dwukrotnie dokonywano pomiaru ciśnienia tętniczego (z 5-minutową przerwą między pomiarami) za pomocą ciśnieniomierza sprężynowego Big-Ben firmy Rister. Wartość ciśnienia tętniczego przedstawiono jako średnią z dwóch pomiarów w postaci: średniego ciśnienia tętniczego (MAP), wyliczanego według wzoru: $MAP = DBP + 1/3 PP$, oraz ciśnienia tętna (PP), gdzie $PP = SBP - DBP$; SBP – ciśnienie skurczowe, DBP – ciśnienie rozkurczowe.

Wartości ciśnienia tętniczego otrzymane w grupie badanej przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Wartości ciśnienia tętniczego obserwowane w badanej grupie pacjentów

parametr	jednostka	średnia ± SD	min – maks.
SBP	mm Hg	130,0 ± 130,0	100,0 – 160,0
DBP	mm Hg	80,0 ± 8,0	60,0 – 110,0
PP	liczba uderzeń/s	51,0 ± 10,0	30,0 – 75,0
MAP	mm Hg	96,0 ± 9,0	77,0 – 123,0

4.5 Ocena wskaźnika masy ciała (BMI)

Wskaźnik masy ciała (*body mass index* – BMI) wyznaczano na podstawie wzoru Queteleta: $BMI = \text{masa ciała [kg]} / (\text{wzrost [m]})^2$. Masę ciała, wzrost i wskaźnik BMI przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Wartości wskaźnika masy ciała (BMI) oraz masy ciała i wzrostu zmierzone w badanej grupie pacjentów

parametr	jednostka	średnia ± SD	min – maks.
BMI	masa ciała [kg]/(wzrost [m]) ²	26,7 ± 4,9	18,3 – 39,8
masa ciała	kg	77,8 ± 15,4	46,5 – 117,6
wzrost	cm	1,70 ± 0,10	1,52 – 1,95

4.6 Pozyskiwanie i przechowywanie materiału do badań

Przed wizytą kontrolną w poradni nefrologicznej pacjentom pobierano „na czczo” krew (do badań rutynowych oraz analiz immunochemicznych), a także mocz do oceny albuminurii/białkomoczu. Krew przeznaczoną do analiz immunochemicznych *ex tempore* wirowano przez 10 minut z prędkością 4000 obrotów/min, a następnie otrzymaną surowicę/osocze porcjowano i zamrażano w temperaturze -80°C do czasu wykonania analiz.

4.7 Rutynowe badania laboratoryjne

Rutynowe badania laboratoryjne wykonano w Zakładzie Diagnostyki Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie w ramach okresowej opieki nad pacjentem.

Tabela 5. Rutynowe badania laboratoryjne – badania biochemiczne surowicy/osocza krwi oraz moczu

parametr	metoda oznaczania (analizator)	jednostki	wartości referencyjne
glukoza	metoda z heksokinazą (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	3,3–5,6
albumina	kolorymetryczna z zielenią bromokrezolową (Cobas 6000, Roche)	g/l	35–52
białko całkowite	biuretowa (Cobas 6000, Roche)	g/l	66–87
kreatynina	kinetyczna z alkalicznym pikrynianem (Cobas 6000, Roche) metoda standaryzowana względem IDMS	μmol/l	♀ 44,0–80,0 ♂ 62,0–106,0
potas	ISE, pośrednia (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	3,5–5,1
wapń	kolorymetryczna z kompleksem o-krezoftaleiny w środowisku zasadowym (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	2,15–2,55
wapń zjonizowany	wyliczany ze stężenia wapnia i białka w surowicy (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	0,98–1,13
fosforany	z fosfomolibdenianem amonu i kwasem siarkowym (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	0,81–1,45
cholesterol całkowity	enzymatyczna CHOD-POD (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	3,2–5,2
triglicerydy	enzymatyczna, GPO-PAP (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	<2,26
kwas moczowy	kolorymetryczna z urykazą (Cobas 6000, Roche)	μmol/l	♀ 143–340 ♂ 202–416
mocznik	kinetyczna z ureazą i GLDH (Cobas 6000, Roche)	mmol/l	2,76–8,07
białko w moczu	kolorymetryczna z kompleksem molibdenian/fiolet pirokatecholu (Vitros 5.1 FS, Ortho Clinical Diagnostics, Johnson and Johnson Company)	g/24 h	<200
iPTH	metoda elektrochemiluminescencyjna, ECLIA (Cobas 6000, Roche)	pg/ml	15–65
hs CRP	metoda immunonefelometryczna (BN II, Siemens)	mg/l	<3
NT-proBNP	metoda elektrochemiluminescencyjna, ECLIA (Cobas 6000, Roche)	pg/ml	<125
fibrynogen	pomiar czasu powstawania skrzepu po dodaniu nadmiaru trombiny (BCS, Siemens)	g/l	1,8–3,5
25(OH)D	metoda elektrochemiluminescencyjna, ECLIA (Cobas E 411, Roche Diagnostics, Hitachi High-Technologies Corporation)	ng/ml	30–70

Tabela 6. Rutynowe badania laboratoryjne – morfologia krwi obwodowej. Analiza wykonywana na analizatorze SYSMEX firmy Roche (Niemcy).

parametr	jednostki	wartości referencyjne	%
WBC	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 4,0–10,0	
RBC	$10^6/\mu\text{l}$	♀ 3,5–5,5 ♂ 4,5–6,5	
HGB	g/dl	♀ 11,0–15,0 ♂ 12,0–17,0	
HCT	%	♀ 37–47 ♂ 40–54	
PLT	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 125–340	
neutrofile	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 2,4–7,0	58–66
limfocyty	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 0,8–4,0	20–40
monocyty	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 0,16–0,8	4–8
eozynofile	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 0,04–0,3	1–3
bazofile	$10^3/\mu\text{l}$	♀/♂ 0,0–0,1	0–1

4.8 Analiza immunochemiczna

Analizę immunochemiczną przeprowadzano w Zakładzie Diagnostyki Katedry Biochemii Klinicznej UJ CM (kierownik katedry: prof. dr hab. n. med. Bogdan Solnica). Oznaczenia stężenia UM i cytokin prozapalnych wykonano z użyciem komercyjnych zestawów odczynników do oznaczeń z wykorzystaniem techniki ELISA i z odczytem na spektrofotometrze ELx808 firmy Bio Tek[®] Instruments, Inc. Vermont, USA. Oznaczenie stężenia cystatyny C wykonano za pomocą analizatora immunochemicznego Maxmat firmy Maxmat S.A. Montpellier, Francja, i odczynników dedykowanych dla tego aparatu.

Tabela 7. Charakterystyka badań immunochemicznych wykonanych u pacjentów z PChN

parametr (jednostki)	nazwa zestawu, metoda, producent	czułość analityczna testu	zakres wartości prawidłowych*
uromodulina (ng/ml)	Human Uromodulin ELISA BioVendor-Laboratori medicina a.s. Brno, Republika Czeska Nr kat. RD 191163200R	0,12	37–501*
interleukina-6 (pg/ml)	Human IL-6 Immunoassay Quantikine HS ELISA R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, UK Nr kat. HS 600B	0,039	0,447–9,96*
interleukina-8 (pg/ml)	Human CXCL/IL-8 Immunoassay Quantikine ELISA R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, UK Nr kat. D8000C	3,5	≤31,2*
interleukina-18 (pg/ml)	Human IL-18 ELISA Kit MBL, Woburn 01801, MA, USA Nr kat. 7620	12,5	45–330*
pentraksyna 3 (ng/ml)	Human Pentraxin 3/TSG-14 Immunoassay Quantikine ELISA R&D Systems Europe Ltd, Abingdon, UK Nr kat. DPTX30	0,025	ND–1,18*
FGF-23 (RU/ml)	Human FGF-23 (C-term) ELISA Kit Immutopics, Inc, San Clemente, CA 92673, USA Nr kat. 60-6100	1,5	<180**
cystatyna C (ng/ml)	Maxmat, Maxmat S.A. Montpellier, Francja Immuno-turbidymetryczna	<0,08	0,4–1,2**
*Wartości uzyskane od niewyselekcjonowanych dawców krwi (zamieszczone w protokole producenta odczynników **Wartości referencyjne ND – <i>non detected</i> , wartości mieszczące się poniżej czułości testu			

4.9 Ocena filtracji kłębuszkowej

Na podstawie wieku, płci i masy ciała, a także wyników oznaczeń stężenia kreatyniny i cystatyny C w surowicy pacjentów wyliczono szacowane wartości GFR zgodnie z obowiązującymi wzorami estymacji (tab. 8.).

Tabela 8. Wzory stosowane do estymacji filtracji kłębuszkowej (eGFR) [63]

oparte o oznaczanie stężenia kreatyniny w surowicy krwi			
nazwa		równanie: wyliczony GFR (eGFR)	
Cockcrofta-Gaulta		$e\text{Klirens kreat (ml/min)} = (140 - \text{wiek w latach}) \times (\text{masa ciała w kg}/72 \times \text{Kreat}_{\text{sur}}) \times (0,85, \text{ jeśli kobieta})$	
MDRD (oznaczenie stężenia kreatyniny wystandaryzowane wobec IMDS)		$e\text{GFR [ml/min/1,73 m}^2] = 175 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}})^{-1,154} \times (\text{wiek w latach})^{-0,203} \times (0,742, \text{ jeśli kobieta}) \times (1,212, \text{ jeśli Afroamerykanin})$	
2009 CKD-EPI			
pleć	stężenie kreatyniny w surowicy	równanie: wyliczony GFR (eGFR)	
kobieta	$\leq 0,7 \text{ mg/dl}$ ($\leq 62 \mu\text{mol/l}$)	$144 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-0,329} \times 0,993^{\text{Wiek}} [\times 1,159 \text{ rasa czarna}]$	
kobieta	$> 0,7 \text{ mg/dl}$ ($> 62 \mu\text{mol/l}$)	$144 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Wiek}} [\times 1,159 \text{ rasa czarna}]$	
mężczyzna	$\leq 0,9 \text{ mg/dl}$ ($\leq 80 \mu\text{mol/l}$)	$141 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-0,411} \times 0,993^{\text{Wiek}} [\times 1,159 \text{ rasa czarna}]$	
mężczyzna	$> 0,9 \text{ mg/dl}$ ($> 80 \mu\text{mol/l}$)	$141 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-1,209} \times 0,993^{\text{Wiek}} [\times 1,159 \text{ rasa czarna}]$	
oparte o oznaczanie stężenia cystatyny C w surowicy krwi (2012 CKD-EPI)			
pleć	stężenie cystatyny C w surowicy	równanie: wyliczony GFR (eGFR)	
kobieta/mężczyzna	$\leq 0,8 \text{ mg/l}$	$133 \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,499} \times 0,996^{\text{Wiek}} [\times 0,932, \text{ jeśli kobieta}]$	
kobieta/mężczyzna	$> 0,8 \text{ mg/l}$	$133 \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-1,328} \times 0,996^{\text{Wiek}} [\times 0,932, \text{ jeśli kobieta}]$	
oparte o oznaczanie stężenia kreatyniny i cystatyny C w surowicy krwi (2012 CKD-EPI)			
pleć	stężenie kreatyniny	stężenie cystatyny C	równanie: wyliczony GFR (eGFR)
kobieta	$\leq 0,7 \text{ mg/dl}$ ($\leq 62 \mu\text{mol/l}$)	$\leq 0,8 \text{ mg/l}$ $> 0,8 \text{ mg/l}$	$130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-0,248} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$ $130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-0,248} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$
kobieta	$> 0,7 \text{ mg/dl}$ ($> 62 \mu\text{mol/l}$)	$\leq 0,8 \text{ mg/l}$ $> 0,8 \text{ mg/l}$	$130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-0,601} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$ $130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,7)^{-0,601} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$
mężczyzna	$\leq 0,9 \text{ mg/dl}$ ($\leq 80 \mu\text{mol/l}$)	$\leq 0,8 \text{ mg/l}$ $> 0,8 \text{ mg/l}$	$130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-0,207} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$ $130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-0,207} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$
mężczyzna	$> 0,9 \text{ mg/dl}$ ($> 80 \mu\text{mol/l}$)	$\leq 0,8 \text{ mg/l}$ $> 0,8 \text{ mg/l}$	$130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-0,601} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,375} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$ $130 \times (\text{Kreat}_{\text{sur}}/0,9)^{-0,601} \times (\text{CysC}_{\text{sur}}/0,8)^{-0,711} \times 0,995^{\text{Wiek}} [\times 1,08 \text{ rasa czarna}]$
eGFR wyrażony w jednostkach ml/min dla wzoru Cockcrofta-Gaulta oraz ml/min/1,73 m ² dla pozostałych wzorów; Kreat _{sur} – stężenie kreatyniny w surowicy wyrażone w mg/dl; wiek (lata); eKlirens – szacowany klirens kreatyniny; IDMS (<i>isotope dilution mass spectrometry</i>) – spektroskopia mas rozcieńczenia izotopowego; wysokość (m); Kreat _{sur} – stężenie kreatyniny w surowicy (mg/dl lub μmol/l); CysC _{sur} – stężenie cystatyny C w surowicy (mg/l)			

4.10 Metody analizy statystycznej

W przypadku zmiennych ilościowych wyniki prezentowane w pracy przedstawiono w postaci median i zakresów międzykwartylowych (IQR) oraz średnich \pm SD. Normalność rozkładów oceniono testem Shapiro-Wilka. Zmienne jakościowe przedstawiano jako liczbę przypadków wraz z odsetkiem odpowiedniej grupy. Różnice pomiędzy grupami oceniano odpowiednio za pomocą testu t-Studenta lub Manna-Whitneya. W przypadku więcej niż dwóch grup używano testu Kruskala-Wallisa wraz z odpowiednim testem *post hoc* (porównanie parami zgodnie z metodą Conovera). Do oceny tabel licznosci stosowano test χ^2 Pearsona. W celu zbadania zależności pomiędzy stężeniem w surowicy UM a stężeniami kreatyniny, cystatyny C (jak również innych analizowanych parametrów krwi), a także wzorami eGFR wyliczano nieparametryczne korelacje rang Spearmana pomiędzy parametrami. W wybranych przypadkach przeprowadzono także prostą i wielokrotną analizę regresji liniowej; zmienne o rozkładzie prawoskośnym zostały zlogarytmowane przed analizą. Użyteczność diagnostyczną surowiczego stężenia UM w identyfikacji poszczególnych stadiów GFR (ocenianych wzorem CKD-EPI_{krea-cysC}2012) badano za pomocą analizy krzywej ROC (*receiver operating characteristic*). Skuteczność diagnostyczną stężenia UM oceniano na podstawie wartości pola powierzchni pod krzywą (*area under the curve* – AUC). Wyniki uznawano za znamienne statystycznie przy $p < 0,05$. Wszystkie obliczenia przeprowadzono za pomocą pakietu kalkulacyjnego STATISTICA v 10 (StatSoft, Tulsa, USA).

5. WYNIKI

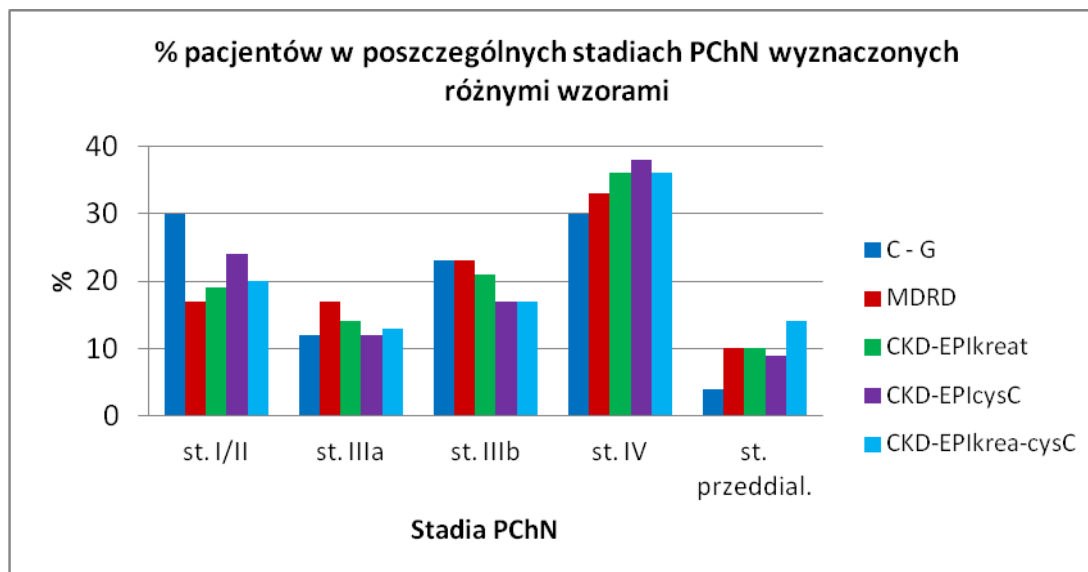
5.1 Ocena stadium PChN na podstawie wszystkich obowiązujących wzorów estymacji filtracji kłębuszkowej

Do porównawczej oceny stopnia zaawansowania PChN w grupie badanych chorych wykorzystano wszystkie dotychczas poznane i stosowane równania estymacji GFR: wzory Cockcrofta-Gaulta (C-G), MDRD, CKD-EPI_{krea} 2009, CKD-EPI_{cysC} i CKD-EPI_{krea-cysC} 2012 (równania przedstawione w tabeli 8., w rozdziale „Materiał i metody”). Podział na stadia PChN i liczebności pacjentów w poszczególnych stadiach przedstawiono w tabeli 9. i na rycinie 3.

Tabela 9. Podział i liczebność pacjentów w poszczególnych stadiach PChN. eGFR wyliczony w oparciu o wzory: Cockcrofta-Gaulta (C-G), MDRD, CKD-EPI_{krea}2009, CKD-EPI_{cysC}2012, CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

stadium	C-G		MDRD		CKD-EPI 2009		CKD-EPI _{cyst} 2012		CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
I/II	27	30	15	17	17	19	22	24	17	20
IIIa	11	12	15	17	13	14	11	12	13	13
Iii	21	23	21	23	19	21	15	17	15	17
IV	27	30	30	33	32	36	34	38	32	36
V*	4	4	9	10	9	10	8	9	13	14

*Stadium przeddializacyjne



Rycina 3. Procentowy udział pacjentów z badanej grupy zakwalifikowanych do poszczególnych stadiów PChN wyznaczanych różnymi wzorami estymacji

5.2 Charakterystyka badanej grupy chorych z uwzględnieniem stadium PChN w oparciu o wzór estymacji filtracji kłębuszkowej CKD-EPI_{krea-cysC}2012

Szczegółową charakterystykę badanej grupy pacjentów z określeniem stadium choroby nerek przeprowadzono z użyciem równania estymacji CKD-EPI_{krea-cysC}, jako najlepszego sposobu szacowania GFR, jednocześnie uznając tak wyliczoną wartość eGFR za wartość odniesienia dla oceny użyteczności diagnostycznej stężenia UM w surowicy krwi (tab. 10.).

Tabela 10. Charakterystyka badanej grupy pod względem płci i wieku w oparciu o eGFR wyliczane ze wzoru CKD-EPI_{krea-cysC}2012 [63]

stadium	2012 CKD-EPI ml/min/1,73 m ²	N	płeć		wiek śr ±SD
			kobiety	mężczyźni	
wszyscy chorzy		79	38	51	60,0 ±17,5
I i II	>60	17	11	6	36,7 ±16,0
IIIa	45–59	14	7	7	65,6 ±10,6
IIIb	30–44	18	7	11	70,6 ±8,7
IV	15–29	32	9	23	62,4 ±15,4
stadium przeddializacyjne	<15	9	4	5	65,2 ±11,1

5.3 Ocena częstości występowania współistniejących chorób sercowo-naczyniowych w badanej grupie chorych w poszczególnych stadiach PChN

Badana populacja pacjentów z PChN cierpi z powodu powikłań sercowo-naczyniowych w postaci m.in. choroby niedokrwiennej serca (ChNS) oraz incydentów sercowo-naczyniowych. Częstość występowania ChNS oraz incydentów sercowo-naczyniowych w poszczególnych stadiach PChN przedstawiono w tabelach 11. i 12. oraz na rycinie 4.

Tabela 11. Częstość występowania ChNS w poszczególnych stadiach PChN

stadium	liczba chorych z PChN	liczba chorych z ChNS*	% chorych z ChNS*
I/II	17	1	5,9
IIa	14	6	42,9
IIIb	18	10	55,6
IV	32	11	34,4
V**	9	4	44,4

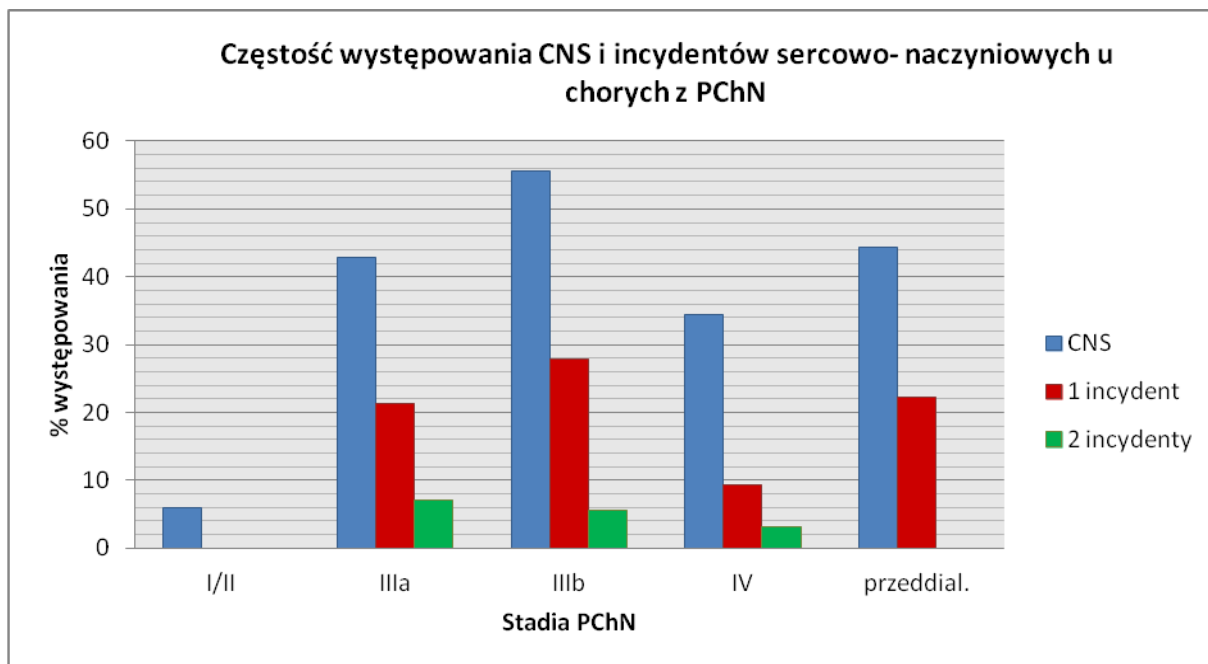
*ChNS – choroba niedokrwiennej serca

**Stadium przeddializacyjne lub rozpoczęcie hemodializoterapii

Tabela 12. Występowanie zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych z PChN w poszczególnych stadiach choroby

stadium	liczba chorych z PChN	liczba chorych z 1 incydemem		liczba chorych z 2 incydentami	
		n	%	n	%
I/II	17	0	0	0	0
IIa	14	3	21,4	1	7,1
III	18	5	27,8	1	5,6
IV	32	3	9,4	1	3,1
V*	9	2	22,2	0	0

*Stadium przeddializacyjne lub rozpoczęcie hemodializoterapii



Rycina 4. Występowanie ChNS i incydentów sercowo-naczyniowych w badanej grupie chorych

5.4 Ocena wybranych parametrów biochemicznych krwi oraz morfologii krwi obwodowej przeprowadzona w ramach rutynowej diagnostyki laboratoryjnej w badanej grupie chorych

Oceny stanu zdrowia pacjentów z PChN w dużej mierze dokonano na podstawie wyników badań laboratoryjnych. W tabeli 13. podano średnie stężenia (\pm SD) oraz mediany (dolny–górnny kwartył) parametrów biochemicznych krwi i moczu oznaczanych w trybie badań rutynowych u pacjentów z PChN. Otrzymane wyniki badań odnoszono do zakresów wartości referencyjnych (tabela 5. w rozdziale „Materiał i metody”). Wśród wybranych parametrów biochemicznych zaobserwowano zwiększenie stężenia kreatyniny, mocznika i kwasu moczowego jako wskaźników zmniejszonej filtracji kłębuszkowej, zwiększone stężenie iPTH, charakterystyczne dla wtórnej nadczynności przytarczyc w przebiegu PChN, oraz zwiększone stężenie fibrynogenu i CRP (wskaźniki stanu zapalnego). Do oceny występowania dysfunkcji lewej komory serca, niewydolności serca, rokowania lub monitorowania leczenia wykorzystuje się oznaczanie stężenia propeptydu natriuretycznego typu B (NT-proBNP). U chorych z PChN zwiększone stężenie NT-proBNP może być związane z przeciążeniem objętościowym serca, przeciążeniem i przerostem lewej komory lub stopniem zaawansowania niewydolności serca, które zwiększają się wraz z postępem choroby. U części badanych chorych stwierdzono białkomocz. Całą badaną populację

charakteryzuje niedobór witaminy D, wyrażony zmniejszonym stężeniem 25-hydroksywitaminy D.

W badaniu morfologicznym krwi obwodowej zaobserwowano przede wszystkim zmniejszenie wartości hematokrytu (tab. 14.; wartości referencyjne podano w tabeli 6. w rozdziale „Materiał i metody”).

Tabela 13. Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górnny kwartył) parametrów biochemicznych krwi i moczu wykonywanych w trybie badań rutynowych u pacjentów z PChN

parametr (jednostki)	średnia \pmSD	mediana	dolny–górnny kwartył
albumina (g/l)	39,4 \pm 5,8	40,0	36,0–43,0
białko całkowite (g/l)	66,6 \pm 8,5	67,5	61,0–73,0
glukoza (mmol/l)	5,75 \pm 1,99	5,10	4,60–6,40
cholesterol całkowity (mmol/l)	4,83 \pm 1,42	4,55	3,95–5,40
triglicerydy (mmol/l)	1,80 \pm 0,91	1,70	1,10–2,20
kreatynina (μ mol/l)	194 \pm 120	175	109–265
mocznik (mmol/l)	14,6 \pm 9,5	12,8	7,5–17,9
kwas moczowy (μ mol/l)	385 \pm 129	366	304–451
wapń całkowity (mmol/l)	2,32 \pm 0,17	2,30	2,21–2,40
wapń zjonizowany (mmol/l)	0,99 \pm 0,11	0,99	0,93–1,07
fosforany (mmol/l)	1,20 \pm 0,24	1,15	1,06–1,28
potas (mmol/l)	4,54 \pm 0,55	4,50	4,21–4,82
iPTH (pg/ml)	106,9 \pm 98,8	74,19	46,3–138,0
fibrynogen (g/l)	4,41 \pm 1,18	4,20	3,60–5,30
hsCRP (mg/l)	4,34 \pm 6,94	2,13	0,80–4,97
NT-proBNP (pg/ml)	1840 \pm 5365	415	99–1102
25(OH)D (ng/ml)	14,60 \pm 10,48	12,64	6,26–18,43
białkomocz dobowy (g/24 h)	2,419 \pm 3,828	0,885	0–2,619

Tabela 14. Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górny kwartył) morfologii krwi obwodowej wykonywanej w trybie badań rutynowych u pacjentów z PChN

parametr (jednostki)	średnia \pm SD	mediana	dolny–górny kwartył
WBC ($10^3/\mu\text{l}$)	7,24 \pm 2,31	7,08	5,52–8,38
RBC ($10^6/\mu\text{l}$)	4,21 \pm 0,66	4,14	3,80–4,79
HGB (g/dl)	12,5 \pm 2,1	12,2	11,1–14,2
HCT (%)	37,4 \pm 5,6	36,7	33,6–42,3
PLT ($10^3/\mu\text{l}$)	227 \pm 63	213	188–262
neutrofile ($10^3/\mu\text{l}$)	4,51 \pm 2,00	4,29	3,21–5,20
limfocyty ($10^3/\mu\text{l}$)	1,97 \pm 0,72	1,89	1,40–2,34
monocyty ($10^3/\mu\text{l}$)	0,57 \pm 0,22	0,51	0,40–0,70
eozynofile ($10^3/\mu\text{l}$)	0,18 \pm 0,11	0,156	0,10–0,28
bazofile ($10^3/\mu\text{l}$)	0,01 \pm 0,02	0,00	0,0–0,0

5.5 Oznaczanie stężenia wybranych parametrów immunochemicznych krwi ze szczególnym uwzględnieniem zmiany stężenia UM w zależności od stadium choroby nerek

Ogólną ocenę stanu zdrowia pacjentów w badanej grupie uzupełniono o dodatkowe parametry oznaczane metodami immunochemicznymi. Oprócz stężenia UM w surowicy krwi oznaczono stężenie cystatyny C, czynnika wzrostu fibroblastów (FGF-23), interleukin: IL-6, IL-8, IL-18, oraz pentraksyny PTX3. Średnie wartości stężeń (\pm SD) i mediany (dolny–górny kwartył) oznaczanych substancji przedstawiono w tabeli 15. Uzyskane wartości stężeń odnoszono do wartości prawidłowych podanych w tabeli 7. w rozdziale „Materiał i metody”.

Tabela 15. Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górnny kwartył) parametrów immunochemicznych krwi wykonane w badanej grupie pacjentów

parametr (jednostki)	średnia \pmSD	mediana	dolny–górnny kwartył
cystatyna C (ng/l)	2,019 \pm 1,011	1,920	1,200–2,550
uromodulina (ng/ml)	78,45 \pm 65,98	56,01	33,5–103,91
IL-6 (pg/ml)	3,330 \pm 3,594	2,347	1,232–3,402
IL-8 (pg/ml)	55,38 \pm 58,02	35,09	25,47–52,87
IL-18 (pg/ml)	507,4 \pm 246,4	459,7	360,1–575,5
PTX3 (ng/ml)	1,187 \pm 1,615	0,852	0,636–1,239
FGF-23 (RU/ml)	249,6 \pm 608,1	98,7	45,8–207

Po porównaniu stężeń badanych parametrów z grupą kontrolną lub wartościami referencyjnymi zaobserwowano zwiększenie stężenia cystatyny C, wskaźnika funkcji nerek świadczącego o zmniejszonej GFR. Odnotowano również w różnym stopniu zwiększone stężenie FGF-23, które u części pacjentów nadal mieściło się w zakresie wartości prawidłowych. Oznaczone stężenia parametrów zapalnych odzwierciedlały w różnym stopniu nasilony proces zapalny, przy czym znamienne zwiększenie dotyczyło IL-18, której stężenie niemal u każdego pacjenta przekraczało zakres referencyjny.

W tabeli 16. przedstawiono kliniczną i biochemiczną charakterystykę badanej populacji z podziałem ze względu na płeć. Potwierdzono znamienne statystycznie różnice pomiędzy kobietami i mężczyznami dotyczące średniego ciśnienia rozkurczowego (wyższe ciśnienie rozkurczowe potwierdzono u mężczyzn) oraz stężeń kreatyniny, cystatyny C, mocznika i albuminy (w każdym przypadku większe stężenia odnotowano u mężczyzn). Różnice związane z płcią występowały w przypadku wyznaczonych wartości eGFR: CKD-EPI_{krea-cysC} 2012 oraz stężenia PTX3, przy czym w tych przypadkach mniejsze wartości stwierdzano u kobiet. Zaobserwowano nieznamiennie większe stężenia UM w surowicy krwi kobiet niż u mężczyzn.

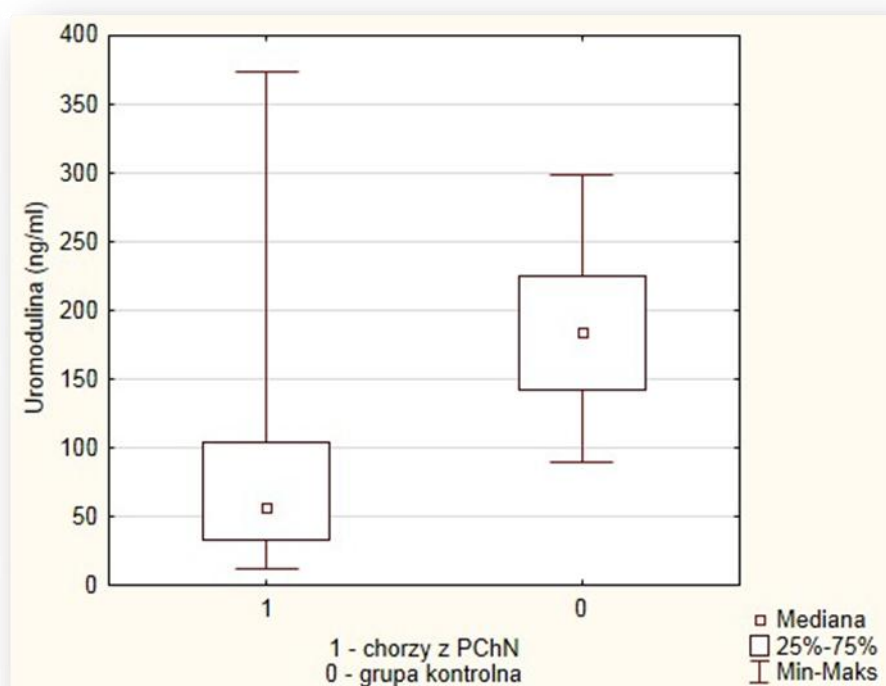
Tabela 16. Demograficzna, kliniczna i biochemiczna charakterystyka badanej populacji z uwzględnieniem podziału pacjentów na kobiety i mężczyzn

zmienna	mediana (dolny–górnny kwartył) albo średnia ±SD		p
	kobiety (n=38)	mężczyźni (n=51)	
wiek (lata)	57,9 ±5,1	61,5 ±16,2	0,3399
BMI	24,6 (21,2–29,2)	26,1 (24,3–29,8)	0,1861
średnie ciśnienie skurczowe	129 ±14	131 ±12	0,5626
średnie ciśnienie rozkurczowe	78 ±6	81 ±9	0,0498
uromodulina (ng/ml)	64,32 (38,78–125,49)	52,55 (31,09–99,54)	0,0617
kreatynina (μmol/l)	112 (72–183)	198 (157–310)	0,0000
cystatyna C (ng/ml)	1,645 (1,010–2,340)	2,020 (1,290–2,555)	0,0463
2012 CKD-EPI _{krea-cysC}	42 (23–83)	29 (18–43)	0,0244
mocznik (mmol/l)	8,4 (5,6–16,2)	14,1 (10,5–21,1)	0,0058
kwas moczowy (μmol/l)	339 (304–431)	386 (318–451)	0,2300
albumina (g/l)	38,0 ±5,1	40,4 ±6,1	0,0483
cholesterol całkowity (mmol/l)	4,75 (4,00–5,40)	4,45 (3,86–5,40)	0,5158
triglicerydy (mmol/l)	1,58 (1,10–2,10)	1,70 (1,2–2,2)	0,4012
wapń całkowity (mmol/l)	2,31 ±0,14	2,33 ±0,19	0,8907
fosfor (mmol/l)	1,15 (1,08–1,33)	1,14 (1,05–1,26)	0,3107
iPTH (pg/ml)	72,2 (30,4–146,8)	79,5 (48,2–126,9)	0,5447
FGF 23 (RU/ml)	102,7 (32,8–208,0)	98,7 (54,5–153,5)	0,8805
CRP (mg/l)	1,68 (0,60–3,77)	2,51 (1,20–5,07)	0,1857
IL-6 (pg/ml)	2,229 (0,977–3,402)	2,428 (1,352–3,457)	0,4420
IL-8 (pg/ml)	35,54 (23,57–53,72)	35,1 (25,9–51,6)	0,9126
IL-18 (pg/ml)	452,2 (325,9–580,1)	462,7 (386,2–567,2)	0,2806
PTX3 (ng/ml)	0,937 (0,806–1,449)	0,760 (0,532–1,228)	0,0169
NT-proBNP (pg/ml)	367 (155–512)	510 (81–1371)	0,4386
25(OH)D	10,15 (5,05–15,58)	15,34 (7,58–20,31)	0,0732

Porównano stężenie UM w surowicy pacjentów z PChN oraz w grupie kontrolnej, a badania wykazały, że stężenie UM w surowicy krwi chorych z PChN jest znamienne mniejsze niż w grupie kontrolnej (tab. 17., ryc. 5.).

Tabela 17. Porównanie stężenia UM w grupie pacjentów z PChN oraz w grupie kontrolnej z oceną statystyczną różnic

uromodulina (ng/ml)	PChN	grupa kontrolna	p
średnia ±SD	78,0 ±65,0	190,5 ±58,5	0,0000
mediana (min–maks.)	56,0 (12,3–374,1)	191,2 (89,1–299,1)	



Rycina 5. Stężenie UM w odniesieniu do grupy kontrolnej osób z prawidłową funkcją nerek

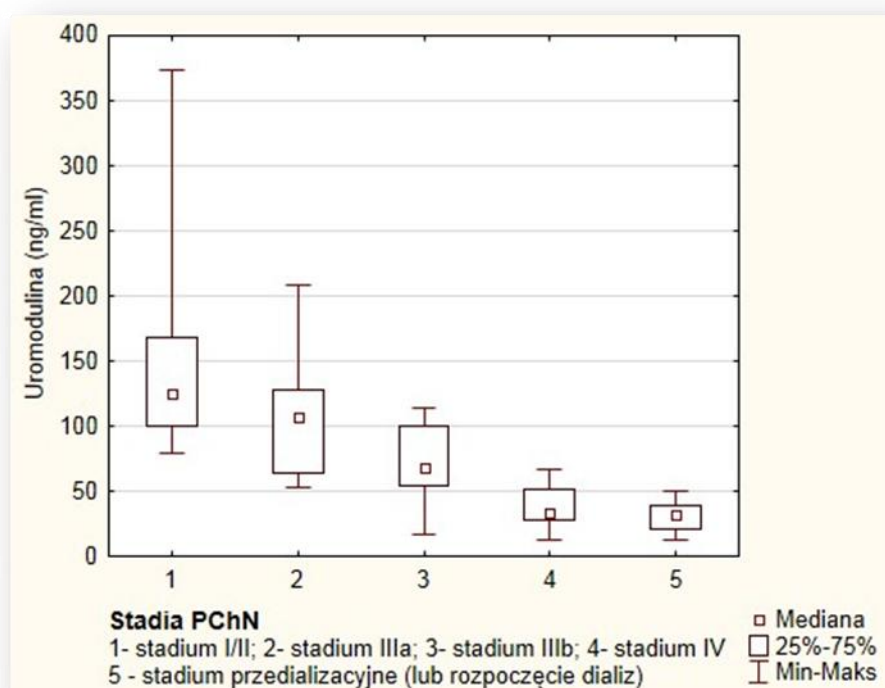
Ze względu na duże zróżnicowanie wartości stężeń UM w grupie pacjentów przeanalizowano zmiany stężenia UM w różnych stadiach PChN. W tym celu wyliczono wartości mediany (dolny–górny kwartył) dla grup pacjentów zakwalifikowanych do poszczególnych stadiów PChN: stadium I/II – GFR >60 ml/min/1,73 m²; stadium IIIa – GFR 59–45 ml/min/1,73 m²; stadium IIIb – GFR 44–30 ml/min/1,73 m²; stadium IV – GFR 29–15 ml/min/1,73m²; stadium przeddializacyjne – GFR <15 ml/min/1,73 m². Wyniki obliczeń przedstawiono w tabeli 18. oraz na rycinie 6.

Wykazano, że stężenie UM w surowicy również różni się znamienne w różnych stadiach PChN, co wskazuje na stopniowe zmniejszanie stężenia UM w przebiegu PChN,

przy czym u części pacjentów pozostających w stadium I/II choroby nerek stwierdzono większe stężenia tego białka w surowicy niż w grupie kontrolnej.

Tabela 18. Stężenie UM w poszczególnych stadiach PChN (wartości wyrażone w ng/ml). Stadia PChN ustalano w oparciu o eGFR wyliczony ze wzoru CKD-EPI_{krea-cvsc} 2012.

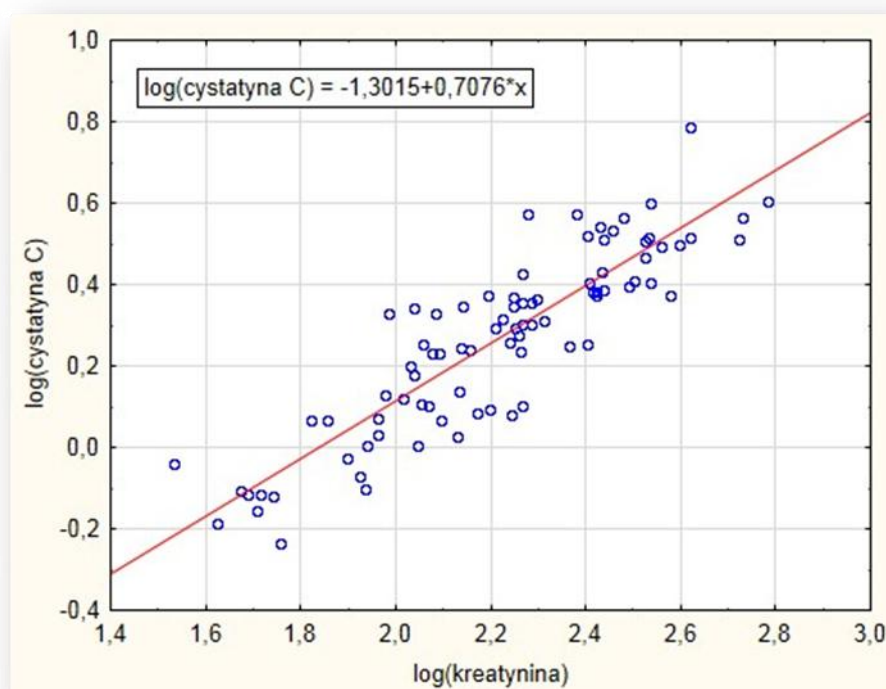
stadium	średnia ±SD	mediana	dolny–górnny kwartył
cała grupa	78,45 ±65,98	56,01	33,50–103,9
stadium I i II	159,11 ±88,7	125,49	99,65–167,80
stadium IIIa	119,06 ±48,60	112,62	91,10–127,48
stadium Iii	69,81 ±25,04	64,60	53,84–86,79
stadium IV	36,25 ±14,04	33,37	28,36–49,18
stadium przeddializacyjne	30,26 ±12,05	31,48	21,19–38,53



Rycina 6. Zmiany stężenia UM w zależności od stadium choroby nerek

5.6 Ocena zależności pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi a stężeniem kreatyniny i cystatyny C oraz eGFR wyrażonymi wzorami CKD-EPI_{krea}2009, CKD-EPI_{cysC}2012, CKD-EPI_{krea-cysC}2012

Kreatynina i cystatyna C to dwa parametry osocza służące do oceny filtracji kłębuszkowej i do wyliczania szacowanego GFR (eGFR). Istnieje ścisła zależność pomiędzy stężeniem kreatyniny i cystatyny C, którą w modelu korelacji porządku rang Spearmana charakteryzuje $r = 0,89$ oraz $p = 0,0000$. Zależność tę przedstawiono graficznie na rycinie 7.



Rycina 7. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia cystatyny C a logarytmem stężenia kreatyniny w grupie pacjentów z PChN

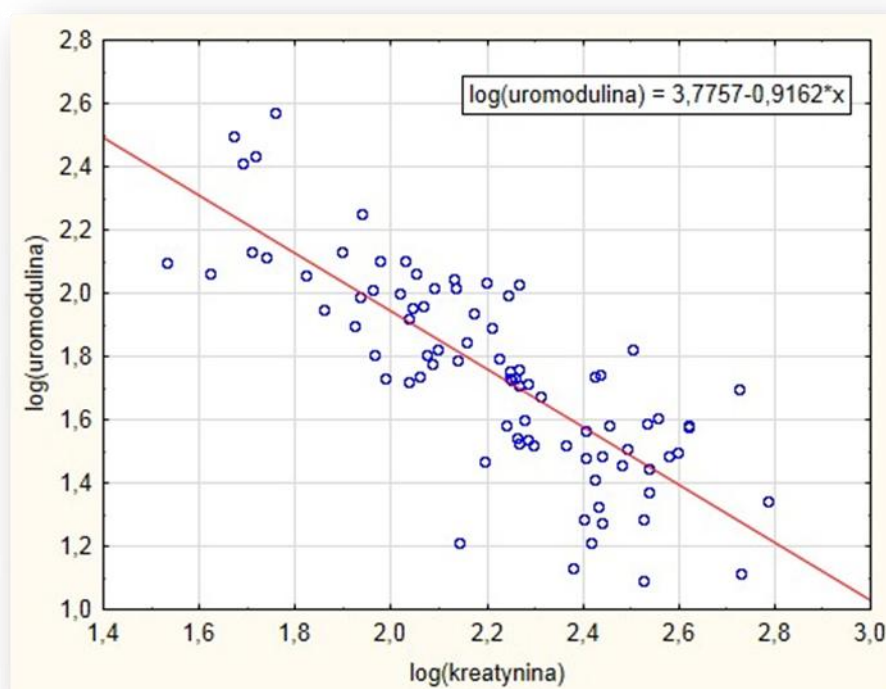
W poszukiwaniu zależności pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi pacjentów a stopniem zaawansowania choroby nerek podjęto próbę oceny korelacji pomiędzy surowiczymi stężeniami UM oraz wskaźnikami funkcji nerek: stężeniami kreatyniny i cystatyny C, a także eGFR wyrażonym wzorami CKD-EPI_{krea}2009, CKD-EPI_{cysC} oraz CKD-EPI_{krea-cysC}2012. Wyniki przedstawiono w tabeli 19. oraz na rycinach 8.–12.

Analiza statystyczna wykazała występowanie silnej i statystycznie znamiennej zależności pomiędzy analizowanymi parametrami, w której stężenie UM ujemnie korelowało ze stężeniami kreatyniny i cystatyny C w surowicy oraz dodatnio ze wszystkimi

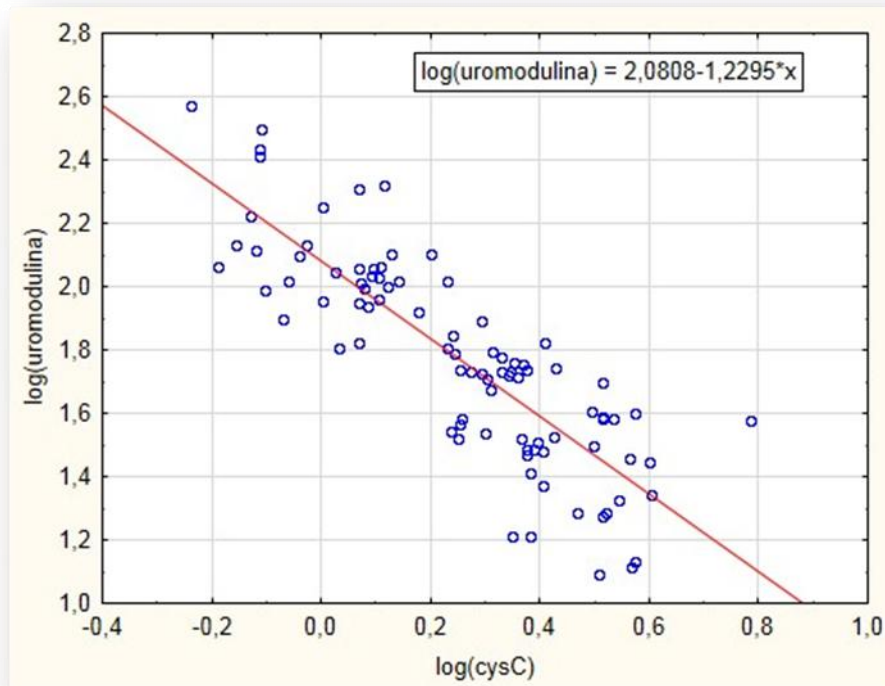
zastosowanymi wzorami estymacji GFR, co wskazuje silny dodatni związek stężenia UM z funkcją nerek.

Tabela 19. Korelacje porządku rang Spearmana dla stężenia UM oraz wskaźników filtracji kłębuszkowej

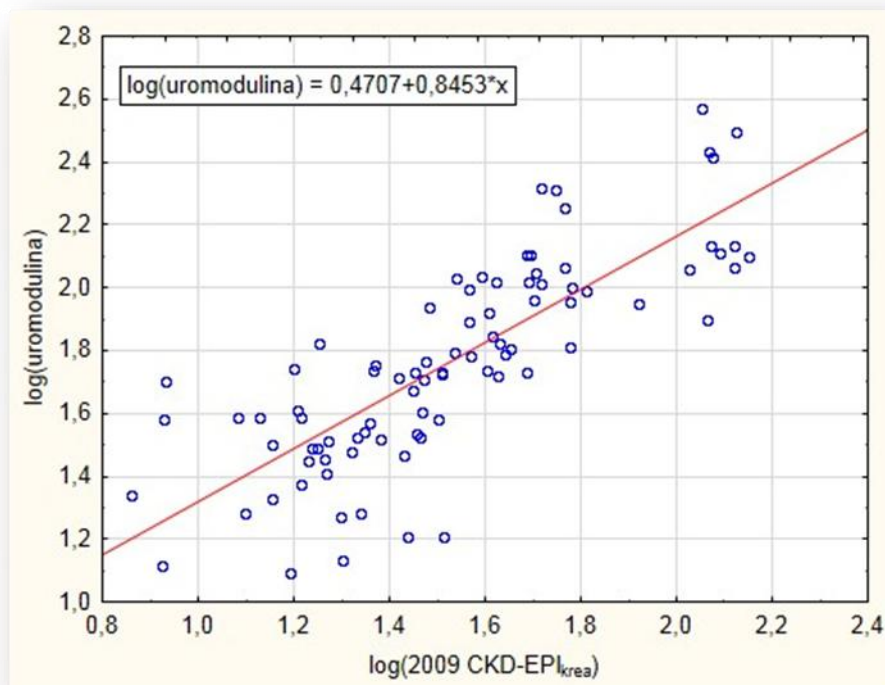
wskaźnik filtracji kłębuszkowej	uromodulina	
	r (Spearmana)	p (poziom istotności)
kreatynina	-0,81	0,0000
cystatyna C	-0,86	0,0000
CKD-EPI _{krea} 2009	0,85	0,0000
CKD-EPI _{cysC} 2012	0,86	0,0000
CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	0,87	0,0000



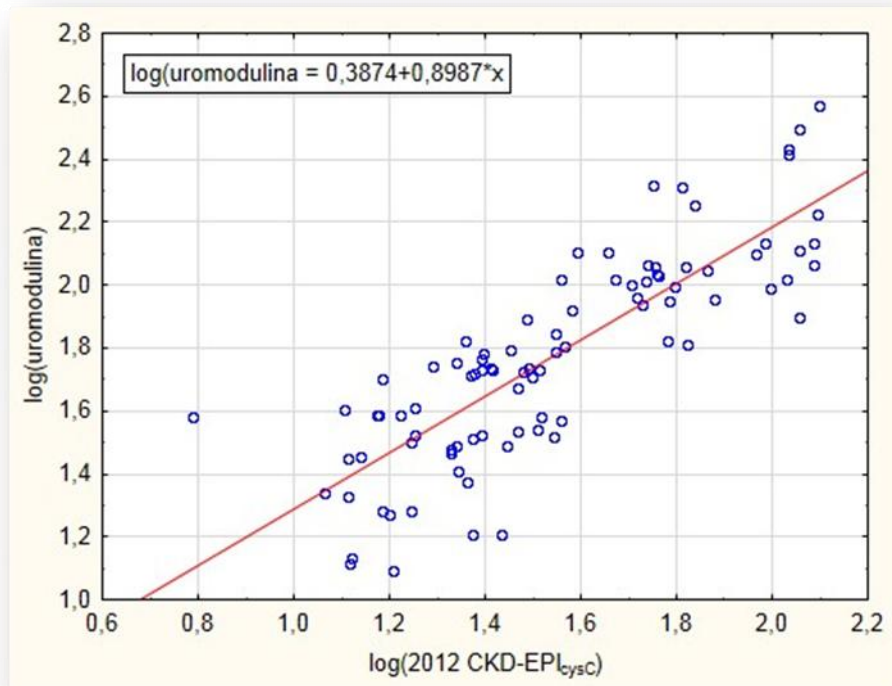
Rycina 8. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia kreatyniny w grupie pacjentów z PChN



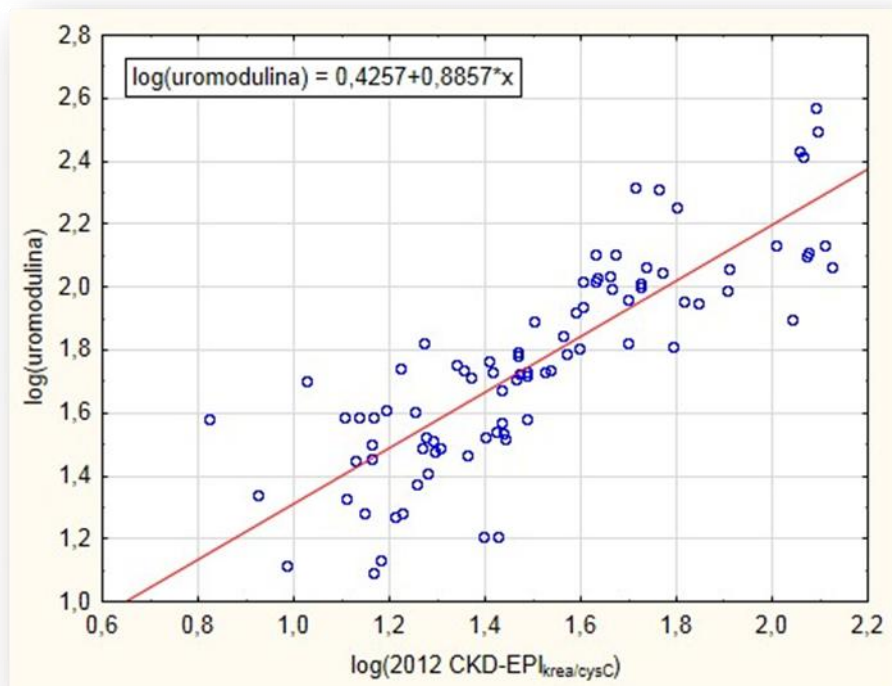
Rycina 9. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia cystatyny C w grupie pacjentów z PChN



Rycina 10. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPI_{krea}2009 w grupie pacjentów z PChN



Rycina 11. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPI_{cysC}2012 w grupie pacjentów z PChN



Rycina 12. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPI_{krea-cysC}2012 w grupie pacjentów z PChN

5.7 Ocena związków pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi a wybranymi parametrami antropometrycznymi i biochemicznymi w odniesieniu do analogicznych relacji tych parametrów z kreatyniną, cystatyną C i CKD-EPI_{krea-cysC}2012

Stężenie UM ujemnie koreluje ze średnim ciśnieniem rozkurczowym oraz średnim ciśnieniem tętna. Podobnie ujemnie ze średnim ciśnieniem tętna koreluje wartość eGFR wyznaczona przez CKD-EPI_{krea-cysC}, natomiast stężenie cystatyny C dodatnio koreluje z wartością średniego ciśnienia tętna (tab. 20.).

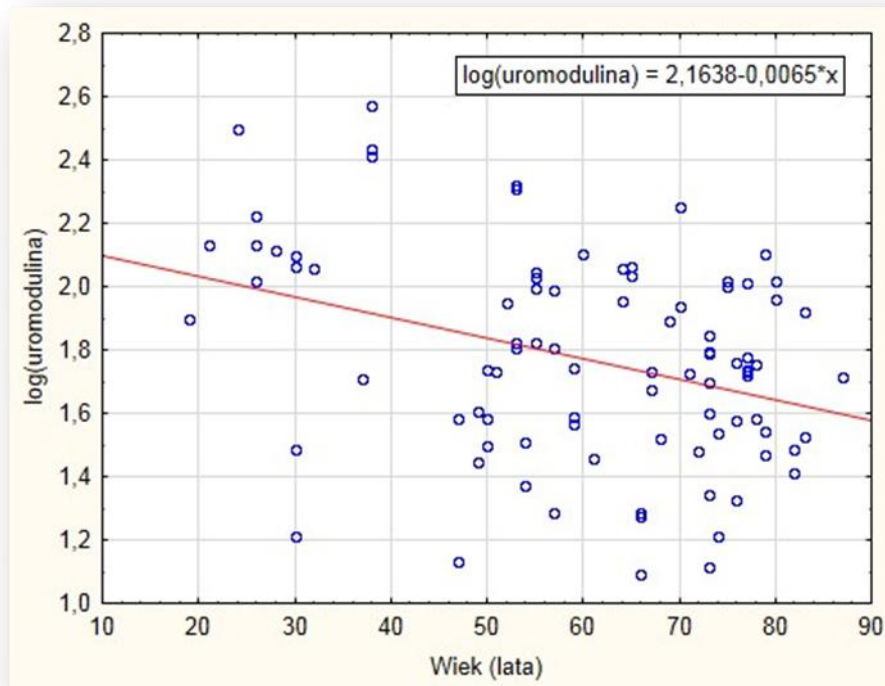
Podobną analizę przeprowadzono w odniesieniu do zależności między surowiczym stężeniem UM oraz analizowanymi wskaźnikami funkcji nerek a wiekiem, masą ciała, wzrostem i BMI pacjentów z PChN (tab. 21., ryc. 13.–16.). Wykazano, że stężenie UM, podobnie jak wyliczony eGFR, znamienne zmniejsza się z wiekiem, a stężenie cystatyny C zwiększa się z wiekiem, co może wyrażać dodatkowo utratę funkcji nerek z wiekiem.

Tabela 20. Korelacje porządku rang Spearmana między stężeniem UM a ciśnieniem tętniczym pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

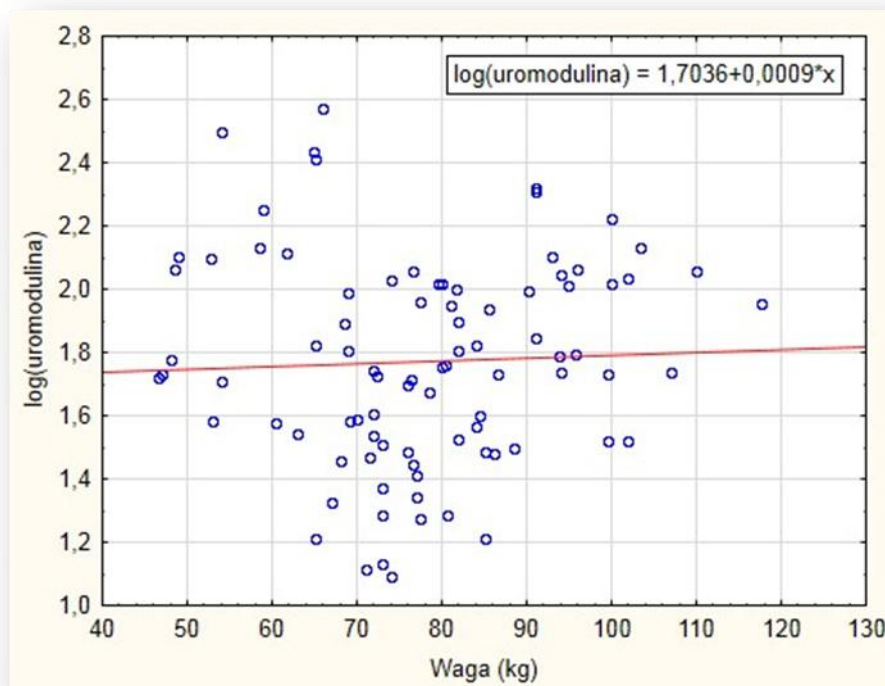
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
SBP	-0,25	0,0229	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DBP	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PP	-0,33	0,0019	NS	NS	0,27	0,0149	-0,25	0,0269
MAP	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Tabela 21. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a wiekiem, masą ciała, wzrostem i BMI pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

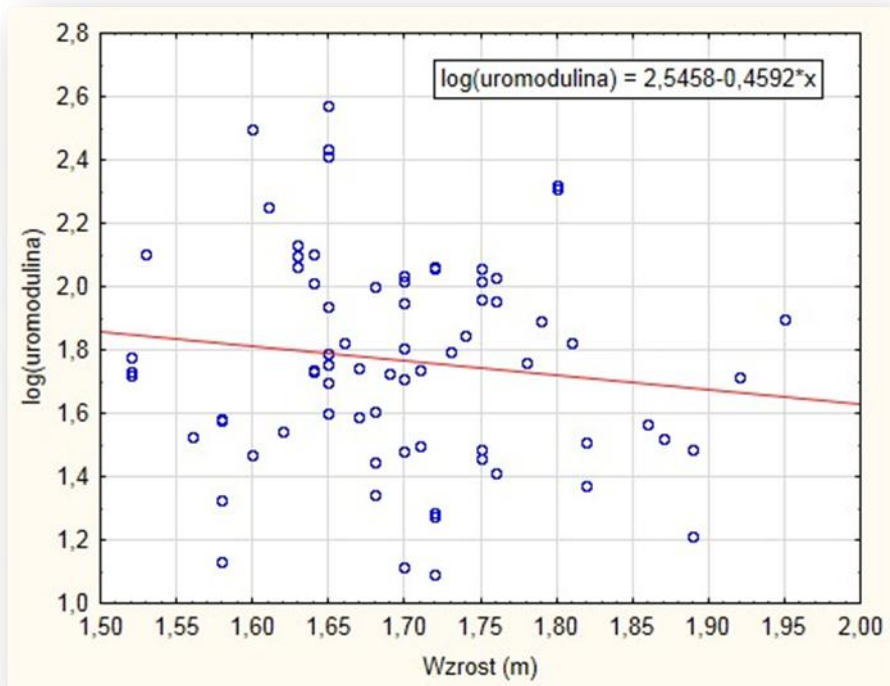
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
wiek	-0,30	0,0045	NS	NS	0,32	0,0022	-0,27	0,0101
masa ciała	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
wzrost	NS	NS	0,32	0,0068	NS	NS	NS	NS
BMI	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS



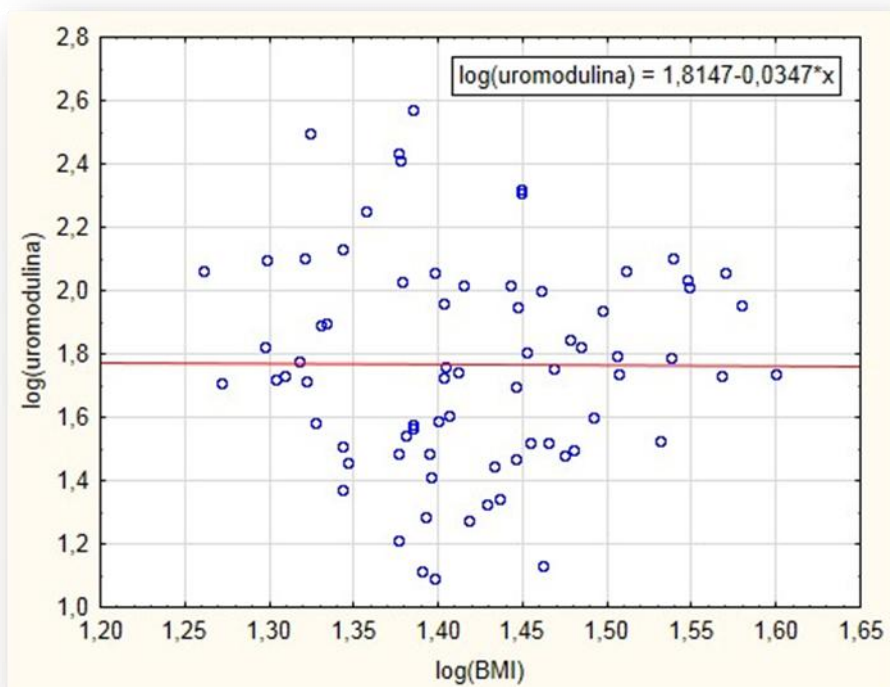
Rycina 13. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a wiekiem pacjenta w grupie chorych z PChN



Rycina 14. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a masą ciała pacjenta w grupie chorych z PChN



Rycina 15. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a wzrostem pacjentów z PChN



Rycina 16. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem BMI pacjenta w grupie chorych z PChN

5.8 Analiza regresji wielokrotnej do oceny wpływu wieku i płci na zależności pomiędzy stężeniem UM a eGFR

Związki pomiędzy UM a eGFR (CKD-EPI_{krea-cysC} 2012) pozostają niezmiennie, gdy dopasowano model regresji liniowej ze stężeniem UM jako zmienną zależną oraz płcią i wiekiem jako zmiennymi niezależnymi. Wyniki analizy przedstawiono w tabeli 22. Wykazano dodatnią i znamioną zależność pomiędzy UM i eGFR_{cysC} ($\beta=0,73$; $p < 0,0001$), niezależną od płci, wieku i BMI pacjenta.

Tabela 22. Zależność między stężeniem UM a wartością eGFR z uwzględnieniem wpływu płci i wieku. Analiza regresji liniowej wielokrotnej dla zmiennej zależnej log(GFR).

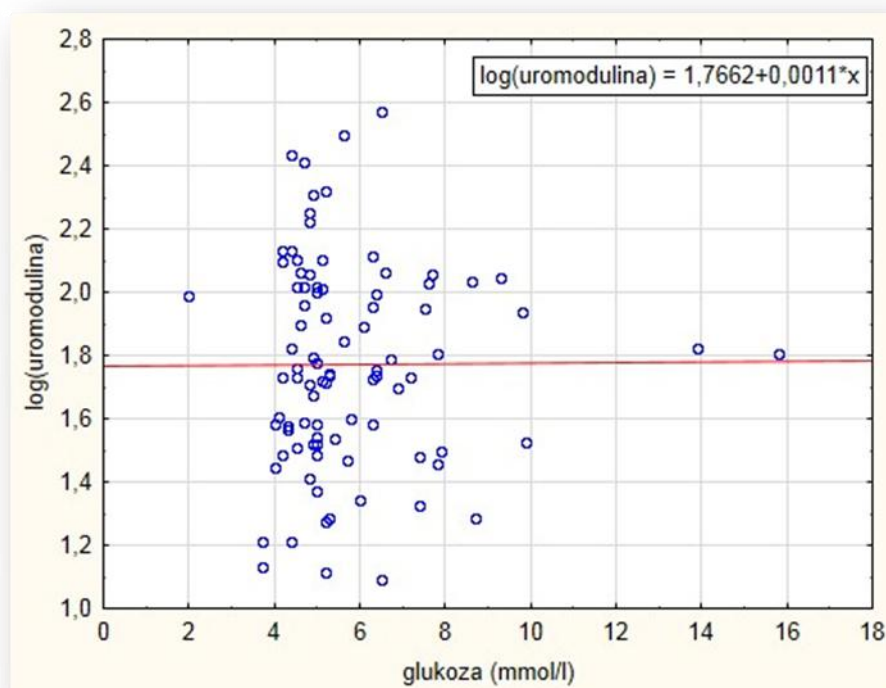
skorygowany R^2 dla modelu = 0,68 (68%), $p < 0,0001$		
zmienna objaśniająca	$\beta \pm SE$	p
log(uromodulina)	0,73 \pm 0,07	<0,0001
wiek	-0,21 \pm 0,07	0,0053
płeć	0,07 \pm 0,04	0,3125
BMI	0,07 \pm 0,04	0,8922

5.9 Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami stanu odżywienia

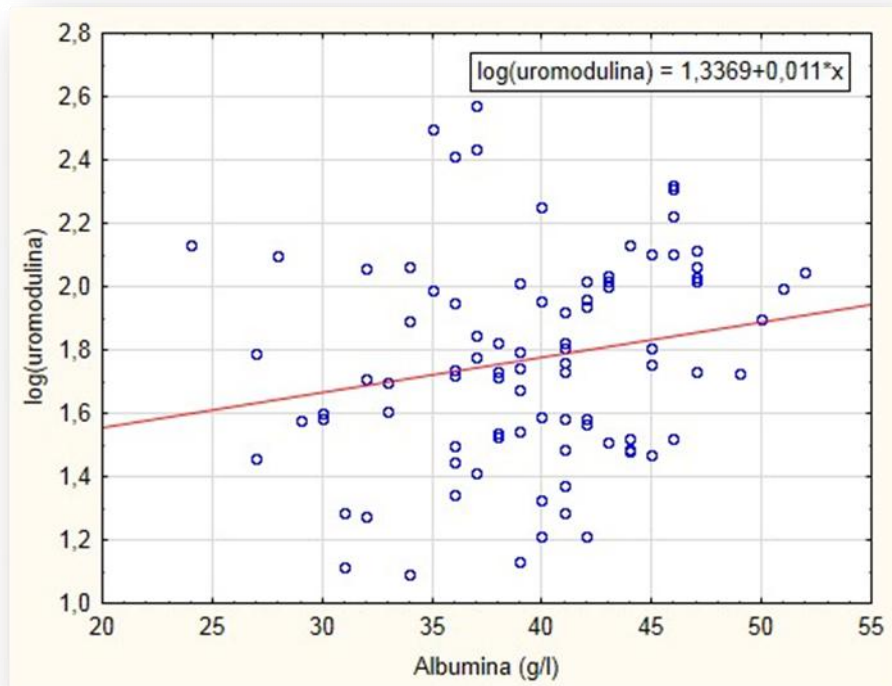
Częstość występowania niedożywienia zwiększa się wraz z progresją PChN, a w okresie leczenia nerkozastępczego niedożywienie rozpoznaje się u ponad 50% pacjentów. Badania epidemiologiczne wykazały, że niedożywienie wiąże się z częstszym występowaniem chorób sercowo-naczyniowych, zwiększoną liczbą hospitalizacji, gorszą jakością życia oraz z gorszym rokowaniem u pacjentów z PChN [120]. Podjęto analizę relacji pomiędzy stężeniem UM w surowicy a stężeniami albuminy i cholesterolu całkowitego jako parametrów oceniających stan odżywienia. Dla porównania podobną analizę przeprowadzono w odniesieniu do kreatyniny, cystatyny C i CKD-EPI_{krea-cysC}2012. Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy surowiczym stężeniem UM a stężeniem albuminy i cholesterolu całkowitego. Podobną zależność potwierdzono dla eGFR, zatem większe stężenie UM i wyższy wskaźnik filtracji kłębuszkowej wiążą się z lepszym stanem odżywienia wyrażonym stężeniem albuminy i cholesterolu. Dodatkowo stężenie UM dodatnio koreluje ze stężeniem białka całkowitego. Analizowane zależności przedstawiono w tabeli 23. i na rycinach 17.–21.

Tabela 23. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem glukozy, parametrami stanu odżywienia oraz stężeniem triglicerydów we krwi pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC} 2012.

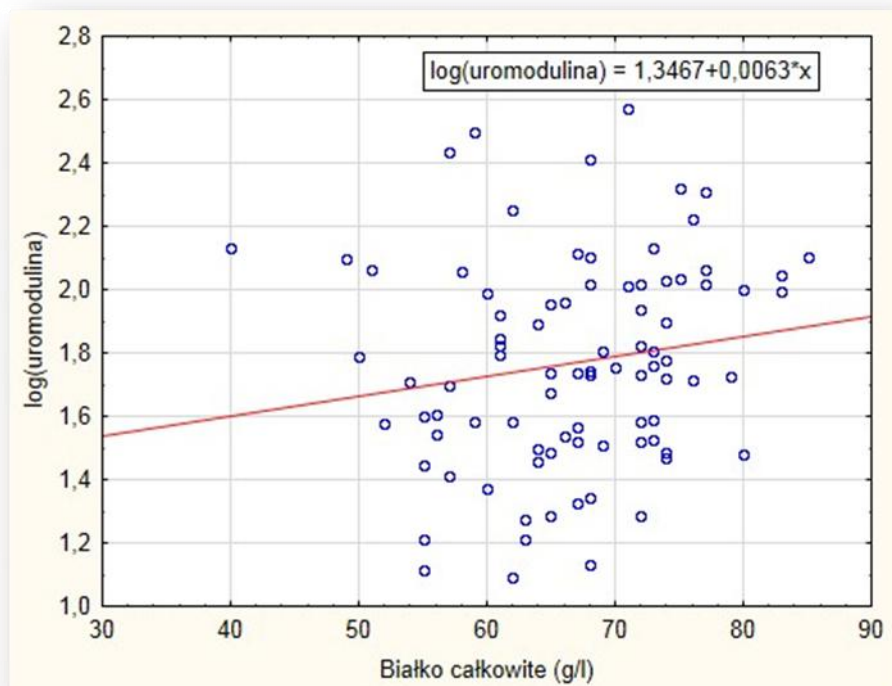
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
glukoza	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
albumina	0,22	0,0349	NS	NS	-0,29	0,0063	0,22	0,0381
białko całkowite	0,22	0,0437	NS	NS	NS	NS	NS	NS
cholesterol	0,33	0,0018	NS	NS	-0,24	0,0256	0,24	0,0254
triglicerydy	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS



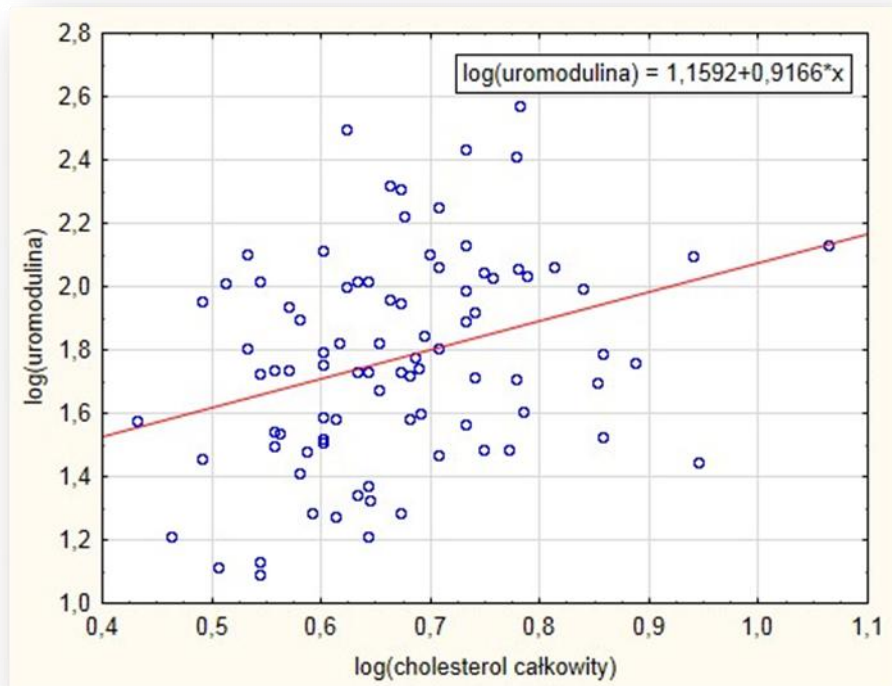
Rycina 17. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem glukozy w surowicy chorych z PChN



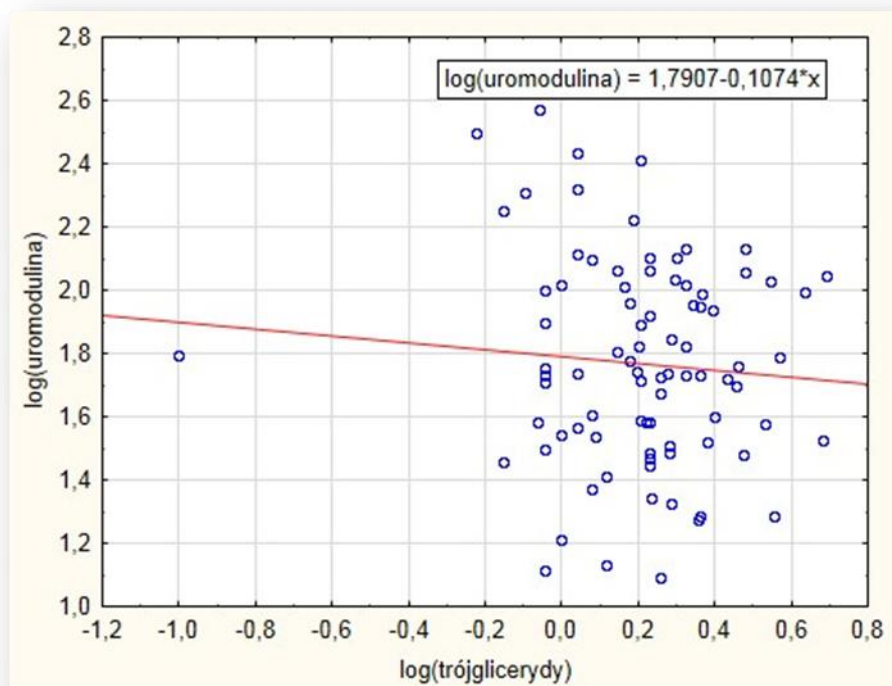
Rycina 18. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem albuminy w surowicy chorych z PChN



Rycina 19. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem białka całkowitego w surowicy chorych z PChN



Rycina 20. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia cholesterolu w surowicy pacjentów z PChN



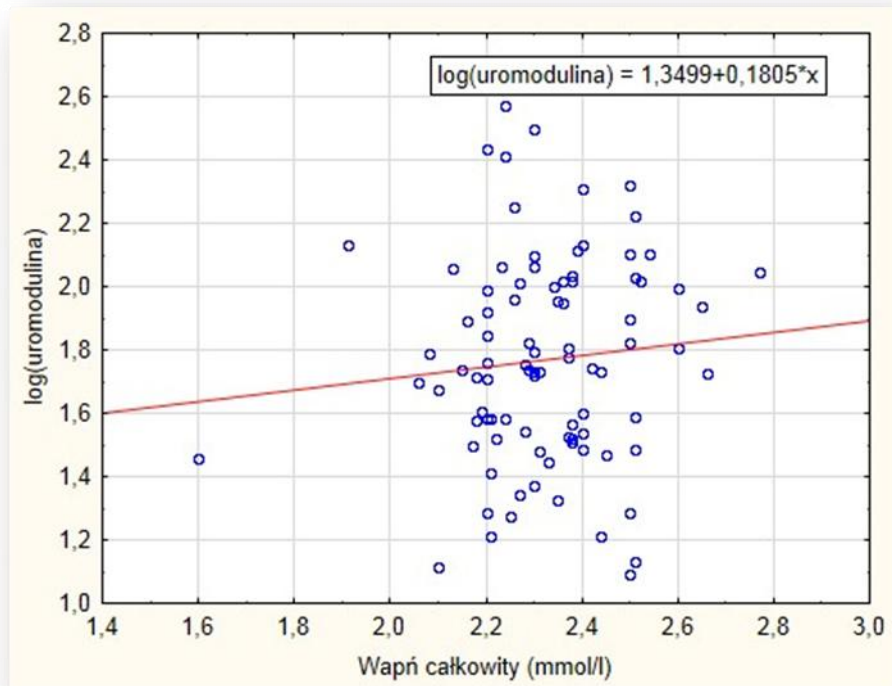
Rycina 21. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia triglicerydów w surowicy pacjentów z PChN

5.10 Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej

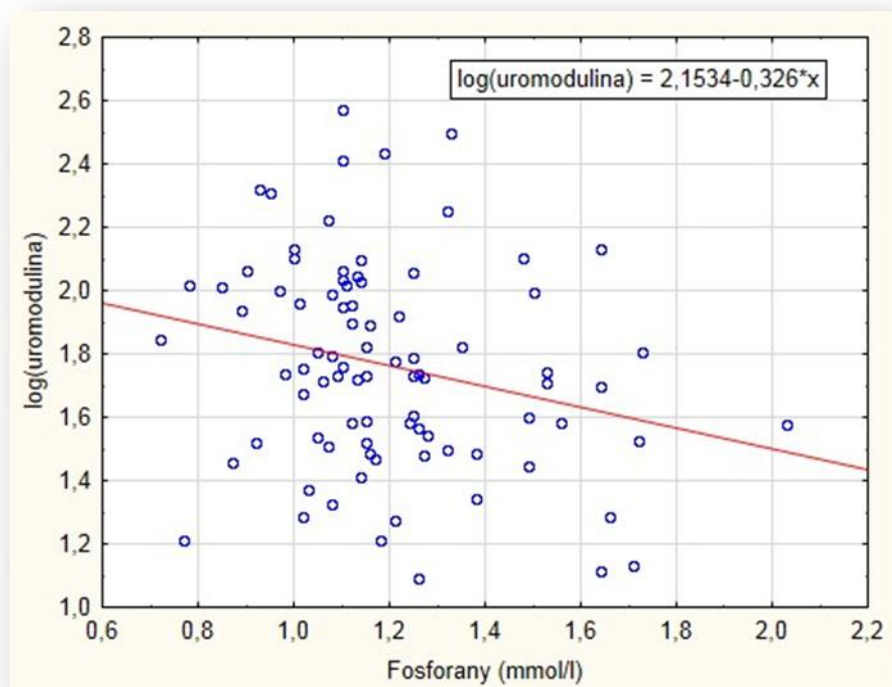
Wtórna nadczynność przytarczyc stanowi jedno z ważniejszych zaburzeń endokrynych towarzyszących PChN od jej wczesnych stadiów aż do okresu leczenia nerkozastępczego. Nadmierne wydzielanie parathormonu jest przyczyną rozwoju chorób kości, zaburzeń mineralnych, zwapnień w naczyniach i w sercu oraz nadciśnienia tętniczego. Wszystko to przyczynia się do zwiększenia ryzyka sercowo-naczyniowego i w konsekwencji prowadzi do zwiększenia śmiertelności chorych. Całokształt zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej i ich następstw klinicznych określany jest obecnie pojęciem „powikłania mineralne i kostne (PMK) towarzyszące przewlekłej chorobie nerek” (PChN-PMK)[96]. Przeprowadzono analizę związku pomiędzy stężeniem UM w surowicy i stężeniami parametrów gospodarki mineralnej, a wyniki przedstawiono w tabeli 24. oraz na rycinach 22.–25. Zaobserwowano, że wraz ze zmniejszeniem stężenia UM zwiększa się stężenie fosforanów, parathormonu oraz FGF-23, a zależności te charakteryzują się silną znamiennością statystyczną.

Tabela 24. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

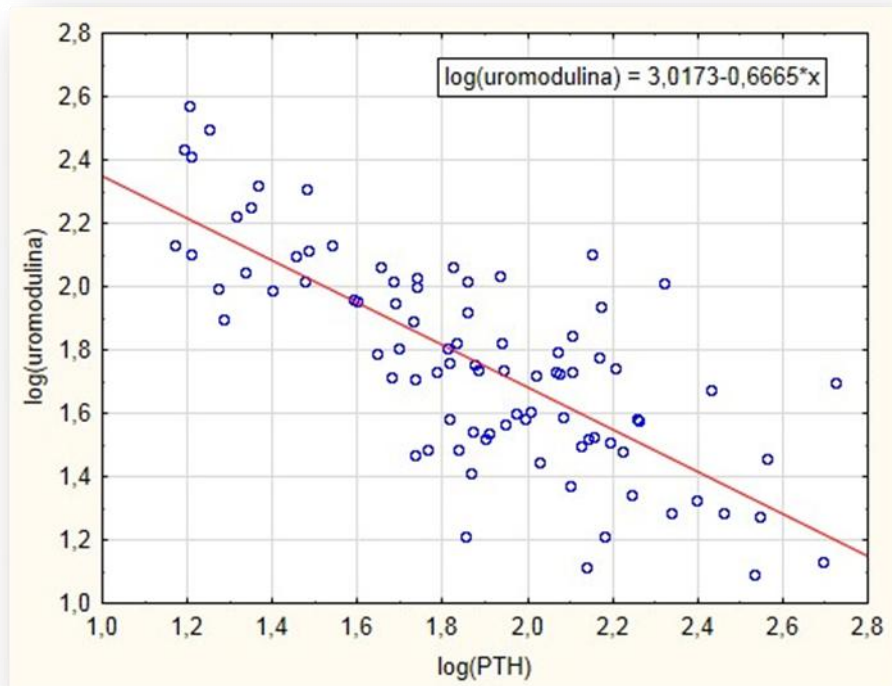
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
wapń całkowity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
fosforany	-0,26	0,0158	0,32	0,0031	0,35	0,0009	-0,35	0,0008
iPTH	-0,72	0,0000	0,68	0,0000	0,78	0,0000	-0,77	0,0000
FGF-23	-0,66	0,0000	0,65	0,0000	0,78	0,0000	-0,75	0,0000



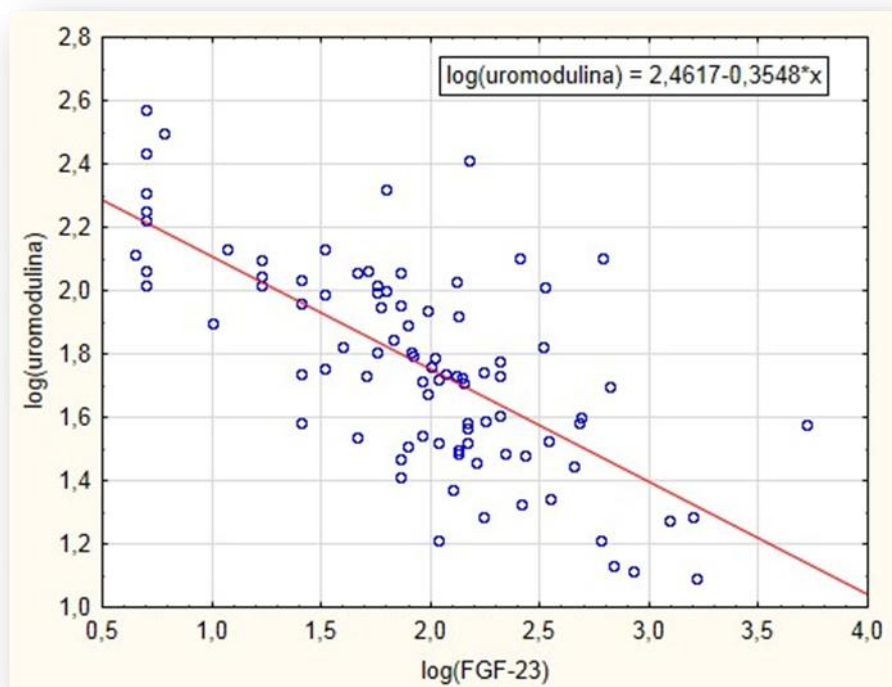
Rycina 22. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem wapnia całkowitego w surowicy pacjentów z PChN



Rycina 23. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem fosforanów w surowicy pacjentów z PChN



Rycina 24. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia iPTH w surowicy pacjentów z PChN



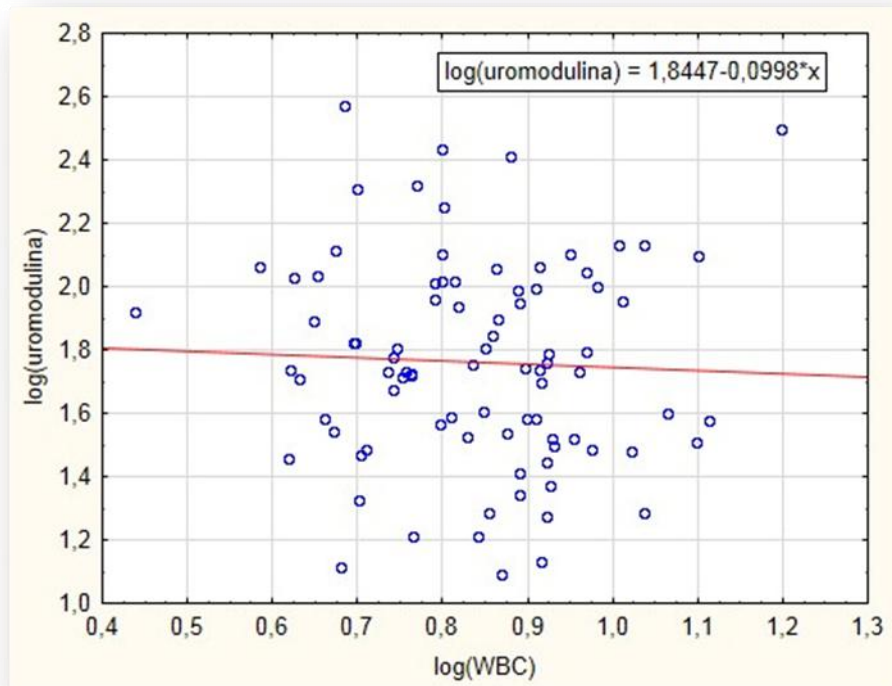
Rycina 25. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia FGF-23 w surowicy pacjentów z PChN

5.11 Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami morfologii krwi obwodowej

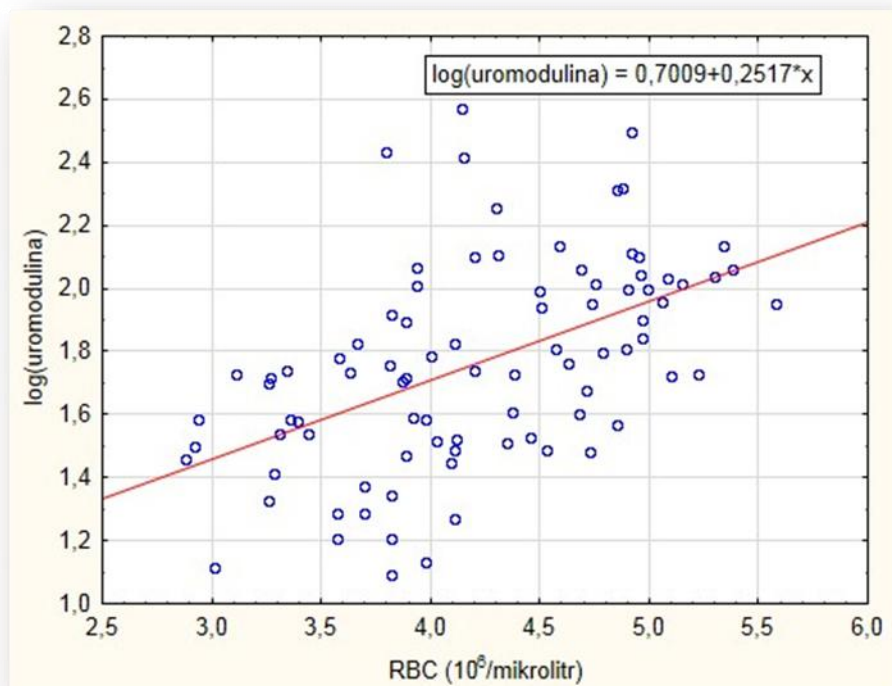
Niedokrwistość stanowi ważny problem kliniczny u chorych z PChN. Występuje we wczesnych stadiach choroby nerek, a nieleczona prowadzi do wielu powikłań, zwłaszcza uszkodzenia układu sercowo-naczyniowego, ponieważ zwiększa ryzyko wystąpienia przerostu lewej komory i niewydolności serca, a także śmiertelność i chorobowość z przyczyn sercowo-naczyniowych; wydłuża również czas hospitalizacji chorych. Rozpoznanie niedokrwistości u pacjentów z PChN dokonuje się na podstawie oznaczenia stężenia hemoglobiny, hematokrytu oraz stężenia erytropoetyny i parametrów gospodarki żelazowej [27]. W niniejszej pracy badano związki pomiędzy stężeniem UM w surowicy a parametrami morfologii krwi obwodowej i wykazano, że surowicze stężenie UM znamienne dodatnio koreluje z liczbą erytrocytów, stężeniem hemoglobiny i hematokrytem. Analogiczne zależności zaobserwowano dla eGFR wyrażonego wzorem CKD-EPI_{krea-cysC}2012. Wyniki przedstawiono w tabeli 25., a zilustrowano na rycinach 26.–30.

Tabela 25. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami morfologii krwi obwodowej pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC} 2012.

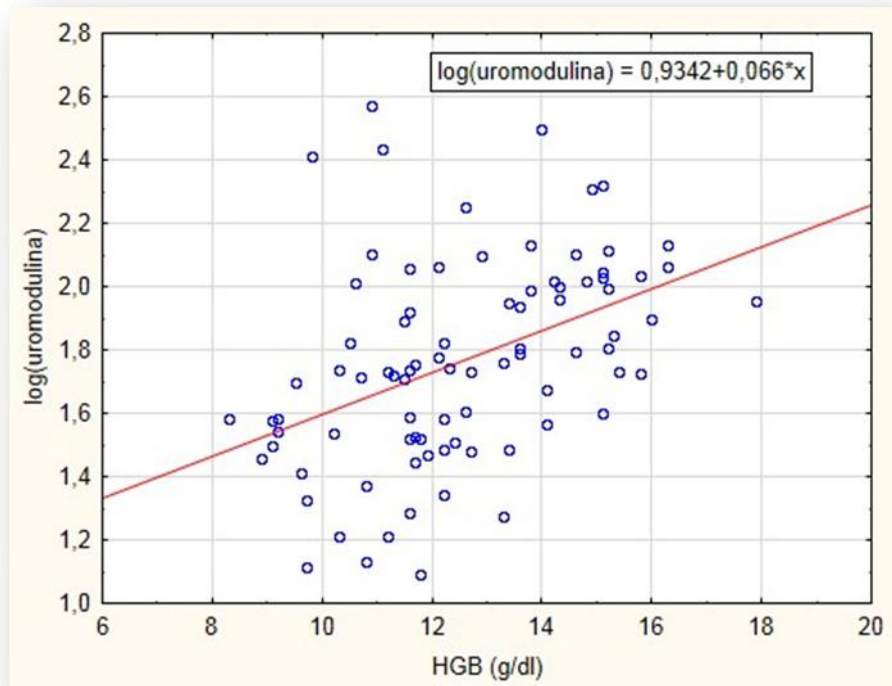
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
WBC	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
RBC	0,56	0,0000	-0,45	0,0000	-0,57	0,0000	0,59	0,0000
HGB	0,46	0,0000	-0,39	0,0002	-0,49	0,0000	0,52	0,0000
HCT	0,49	0,0000	-0,43	0,0000	-0,51	0,0000	0,54	0,0000
PLT	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS



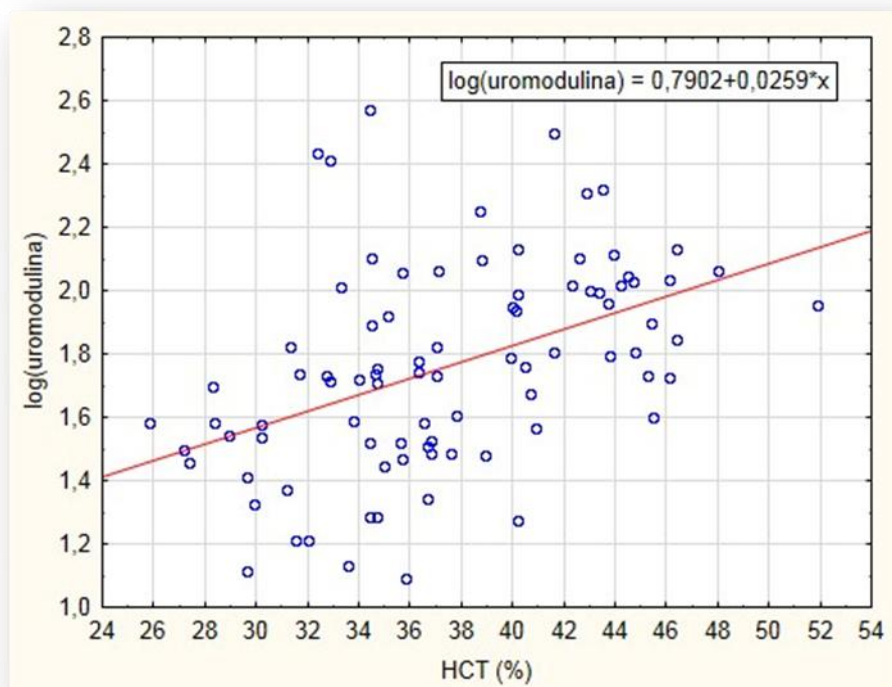
Rycina 26. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem wartości leukocytozy krwi obwodowej pacjentów z PChN



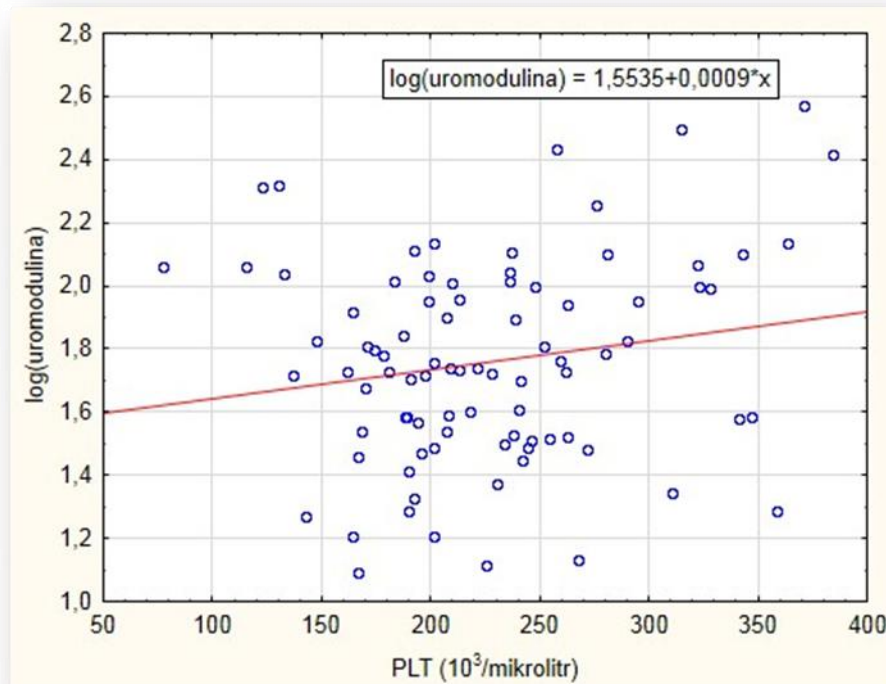
Rycina 27. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a liczbą erytrocytów we krwi pacjentów z PChN



Rycina 28. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem hemoglobiny we krwi pacjentów z PChN



Rycina 29. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a wartością hematokrytu krwi pacjentów z PChN



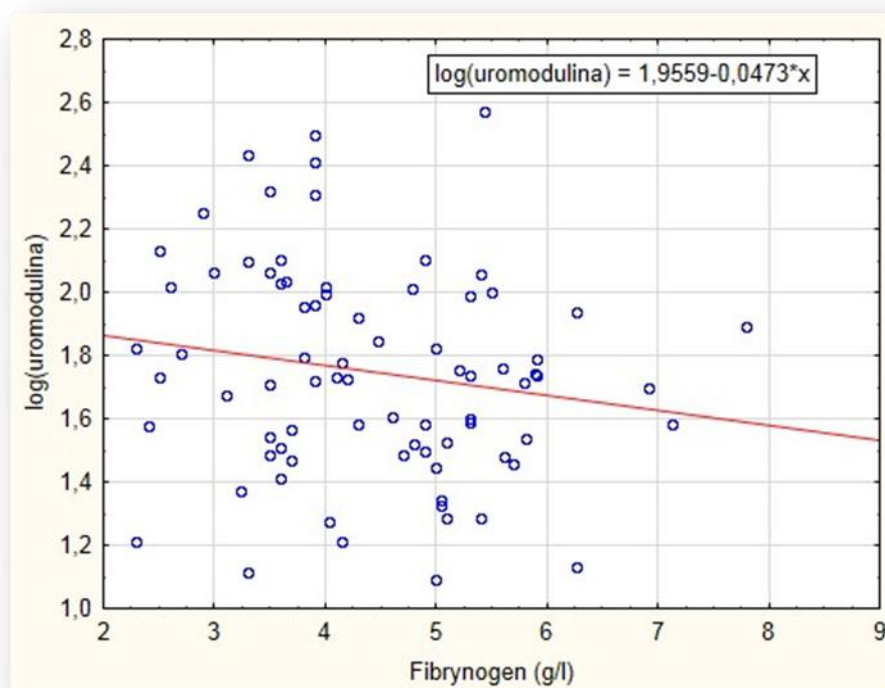
Rycina 30. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a liczbą płytek we krwi pacjentów z PChN

5.12 Ocena związków pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami zapalnymi

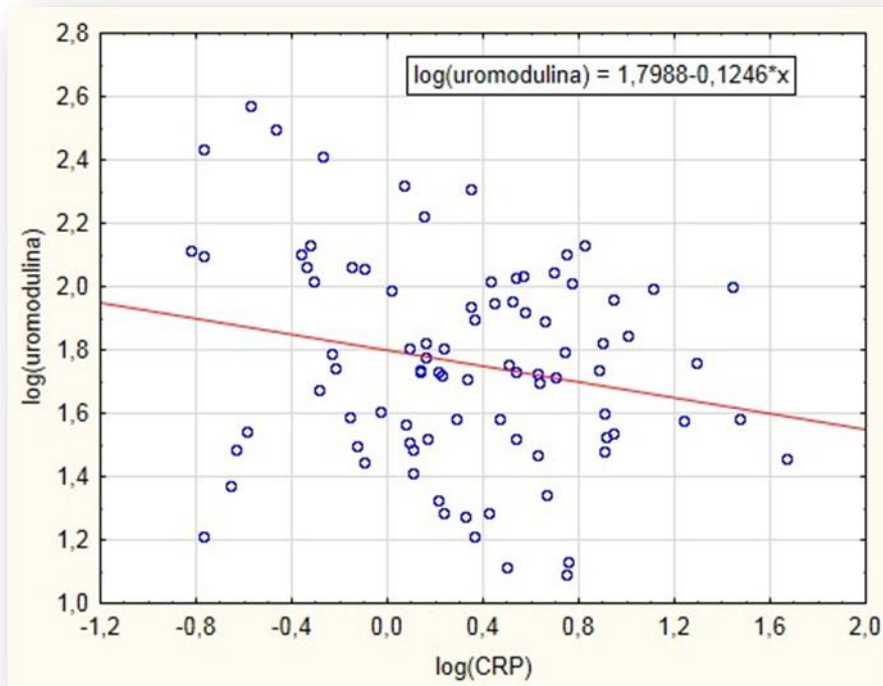
Przewlekły stan zapalny w przebiegu PChN przyczynia się do zwiększenia chorobowości i śmiertelności pacjentów. Do wskaźników zapalenia w PChN należą m.in. stężenia białka C-reaktywnego, fibrynogenu, pentraksyny i cytokin prozapalnych IL-6, IL-8 oraz IL-18. Zapalenie przyczynia się do progresji choroby nerek, a także zwiększa śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych poprzez stymulację powstawania zwapnień naczyniowych i dysfunkcję śródbłonna. Przewlekły stan zapalny charakteryzujący pacjentów z PChN wiąże się z nieprawidłową geometrią lewej komory serca oraz rozwijającą się niewydolnością serca. W analizie związku pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami stanu zapalnego wykazano znamiennej statystycznie odwrotną zależność pomiędzy wartością stężenia UM a IL-6 i IL-18. Takiej zależności nie wykazano dla pozostałych wskaźników stanu zapalnego: fibrynogenu, CRP, IL-8 ani pentraksyny (tab. 26., ryc. 31.–36.).

Tabela 26. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami zapalnymi u pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

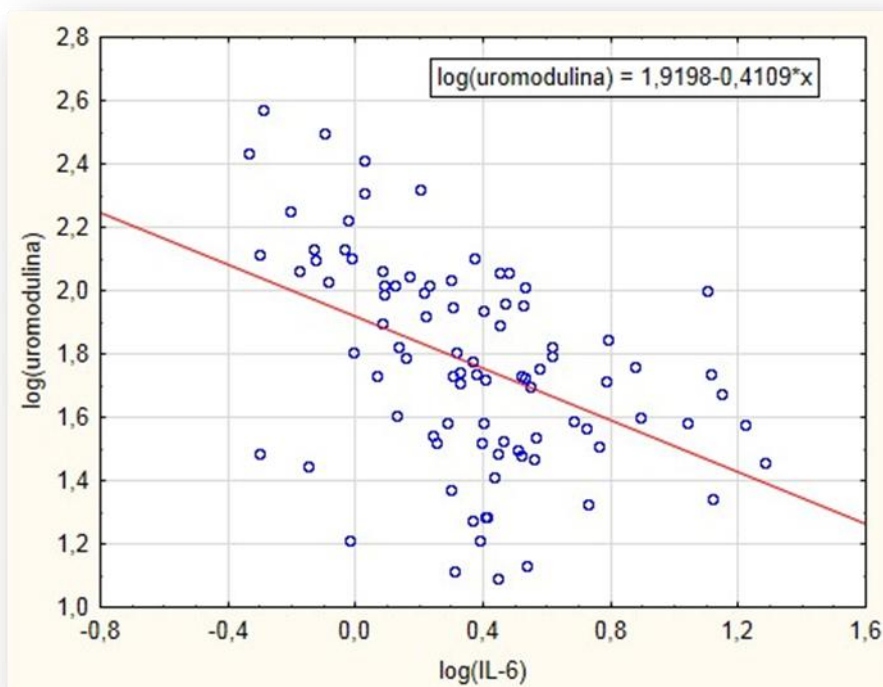
badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
fibrynogen	NS	NS	NS	NS	0,33	0,0034	-0,31	0,0054
hs CRP	NS	NS	NS	NS	0,26	0,0139	-0,23	0,0354
IL-6	-0,48	0,0000	0,40	0,0001	0,54	0,0000	-0,52	0,0000
IL-8	NS	NS	NS	NS	0,22	0,0387	NS	NS
IL-18	-0,29	0,0051	0,34	0,0016	0,45	0,0000	-0,42	0,0001
PTX3	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS



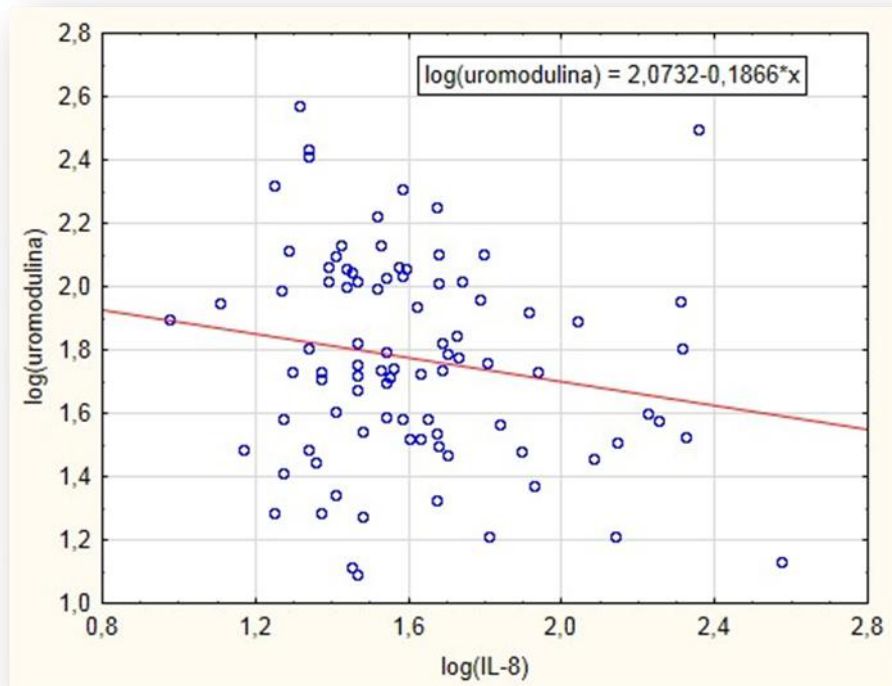
Rycina 31. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem fibrynogenem w osoczu krwi pacjentów z PChN



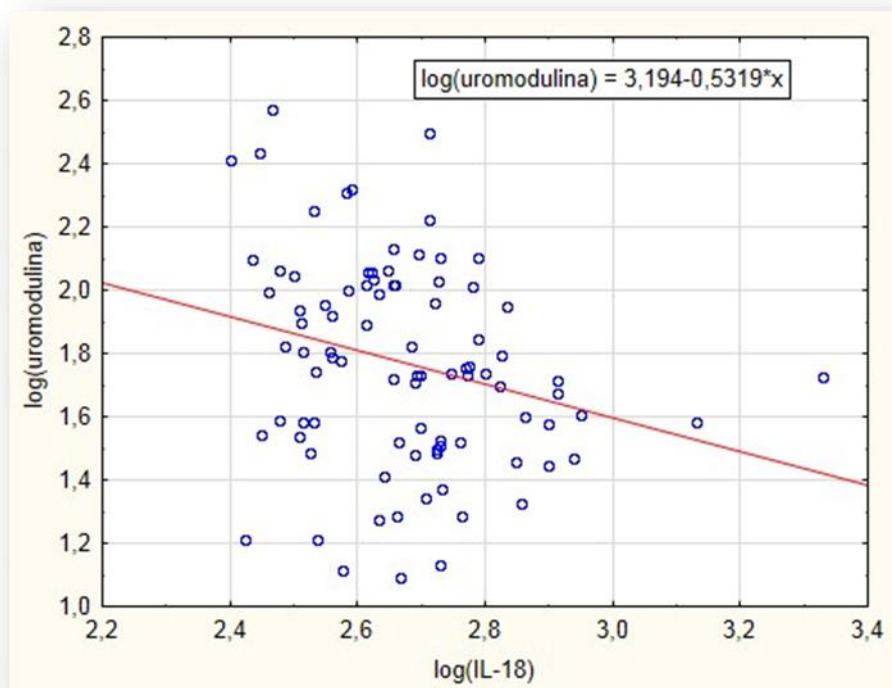
Rycina 32. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia CRP w surowicy krwi pacjentów z PChN



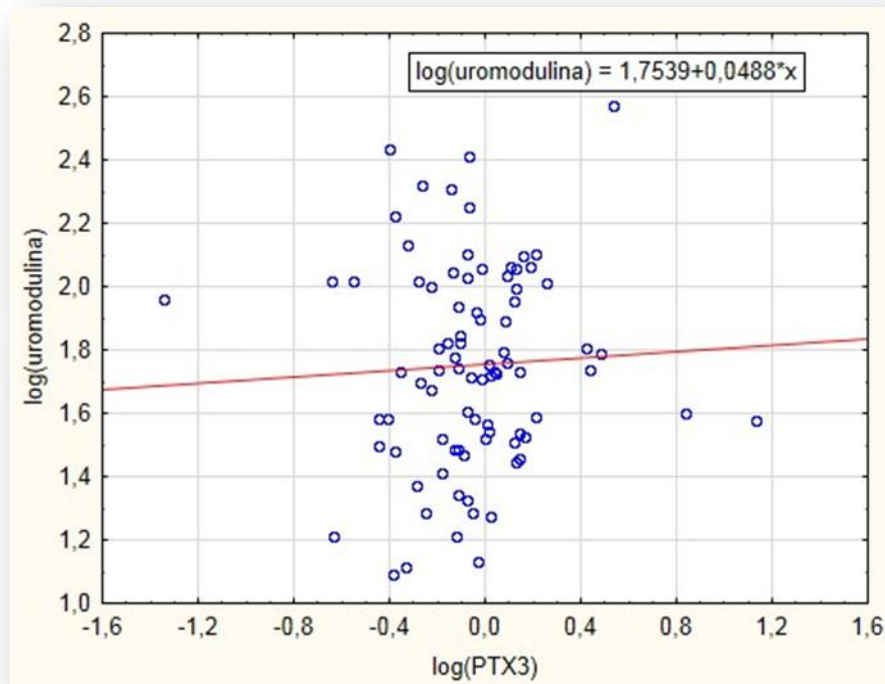
Rycina 33. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia IL-6 w surowicy krwi pacjentów z PChN



Rycina 34. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia IL-8 w surowicy krwi pacjentów z PChN



Rycina 35. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia IL-18 w surowicy krwi pacjentów z PChN



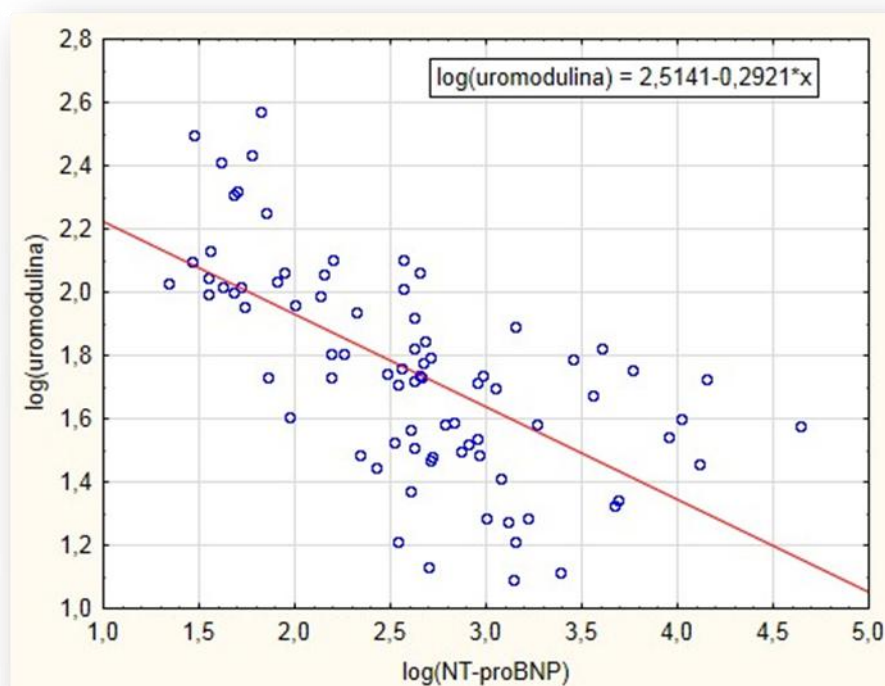
Rycina 36. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia pentraksyny w surowicy krwi pacjentów z PChN

5.13 Ocena związku pomiędzy surowiczym stężeniem UM a stężeniem propeptydu natriuretycznego (NT-proBNP)

Propeptyd natriuretyczny NT-proBNP nie tylko jest markerem użytecznym w rozpoznawaniu niewydolności serca i różnicowaniu przyczyn wystąpienia nagłej duszności, ale ma również duże znaczenie w prognozowaniu zdarzeń sercowo-naczyniowych. W PChN pomimo względnie większych wartości stężenia tego parametru niż w populacji ogólnej obserwuje się ilościową zależność od stopnia zaawansowania choroby nerek. Peptydy natriuretyczne są wartościowym narzędziem w wykrywaniu przerostu lewej komory serca, dysfunkcji skurczowej i rozkurczowej lewej komory, choroby wieńcowej, a także przewidywaniu zdarzeń sercowo-naczyniowych [150]. W analizowanej pracy wykazano znamiennej i silną ujemną korelację pomiędzy surowiczym stężeniem UM a stężeniem NT-proBNP. Podobne zależności wykazano dla GFR wyrażonej wzorem $CKD-EPI_{krea-cysC}$ 2012. Wyniki analizy przedstawiono w tabeli 27. i na rycinie 37.

Tabela 27. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem NT-proBNP w surowicy krwi pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
NT-proBNP	-0,68	0,0000	0,59	0,0000	0,71	0,0000	-0,72	0,0000



Rycina 37. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia NT-proBNP w surowicy krwi pacjentów z PChN

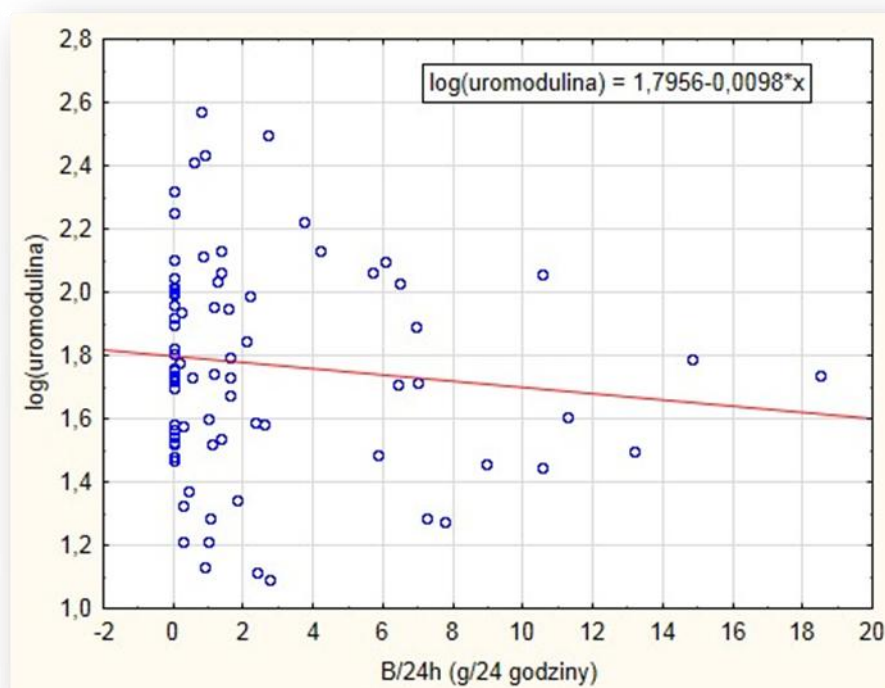
5.14 Ocena związku pomiędzy surowiczym stężeniem UM a białkomoczem dobowym

Białkomocz jest jednym z najważniejszych objawów PChN. Nadmierna utrata białka z moczem jest niezależnym wskaźnikiem prognostycznym progresji choroby nerek i powikłań w postaci wystąpienia epizodów sercowo-naczyniowych, naczyniowo-mózgowych i zgonu.

Surowicze stężenie UM, podobnie jak stężenie cystatyny C i wartość eGFR, nie wykazują związku z występowaniem białkomoczu u pacjentów z PChN (tab. 28., ryc. 38.).

Tabela 28. Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem NT-proBNP oraz białkoczem dobowym u pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C i eGFR w oparciu o CKD-EPI_{krea-cysC}2012.

badany parametr	uromodulina		kreatynina		cystatyna C		CKD-EPI _{krea-cysC}	
	r	p	r	p	r	p	r	p
B/24 h	NS	NS	0,26	0,0224	NS	NS	NS	NS



Rycina 38. Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a białkoczem dobowym u pacjentów z PChN

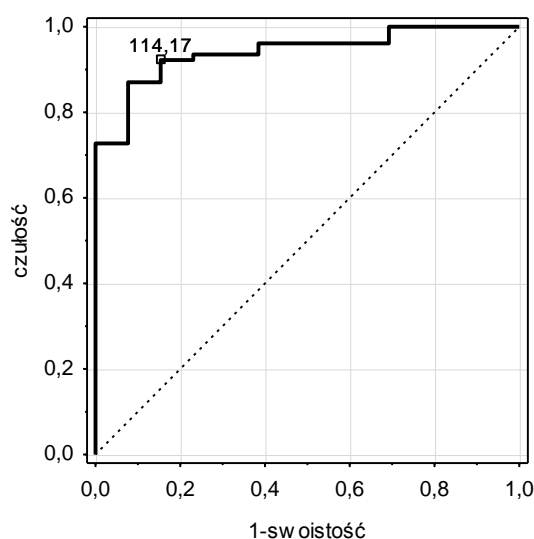
5.15 Ocena użyteczności diagnostycznej stężenia UM w surowicy do klasyfikacji stadiów PChN

Krzywe ROC (*receiver operating characteristic*) są narzędziem statystycznym służącym do oceny poprawności przeprowadzanej klasyfikacji. Od lat 70. ubiegłego stulecia krzywe ROC są techniką analizy danych służącą do oceny dokładności diagnostycznej testu laboratoryjnego (w laboratoriach klinicznych). W niniejszej pracy podjęto próbę przeprowadzenia klasyfikacji stadiów PChN na podstawie stężenia UM w surowicy chorych. Wyznaczono wartości graniczne stężenia UM dla poszczególnych stadiów PChN. Za umowną

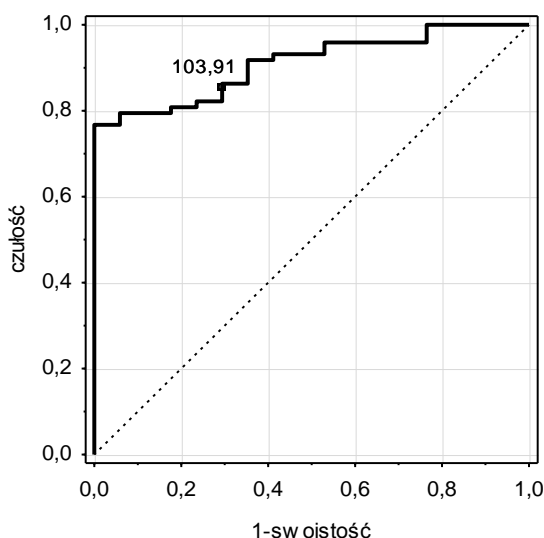
metodę referencyjną klasyfikacji stadiów PChN przyjęto wartości GFR otrzymane ze wzoru CKD-EPI_{krea-cysC} 2012.

Analizę krzywych ROC wykorzystano do oceny efektywności wybranych stężeń UM w odróżnianiu poszczególnych stadiów PChN w porównaniu z klasyfikacją stadiów przeprowadzoną na podstawie równania CKD-EPI_{krea-cysC} 2012.

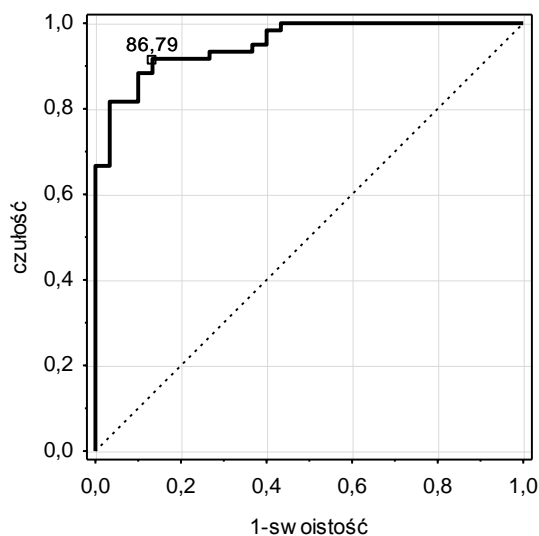
Dla każdego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia, a analizę w całym zakresie przedstawiono graficznie za pomocą krzywych ROC.



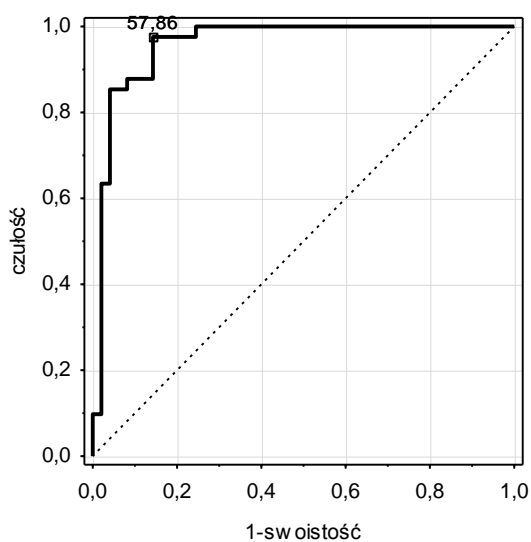
Rycina 39. Rozpoznanie II stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (114,17 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu.



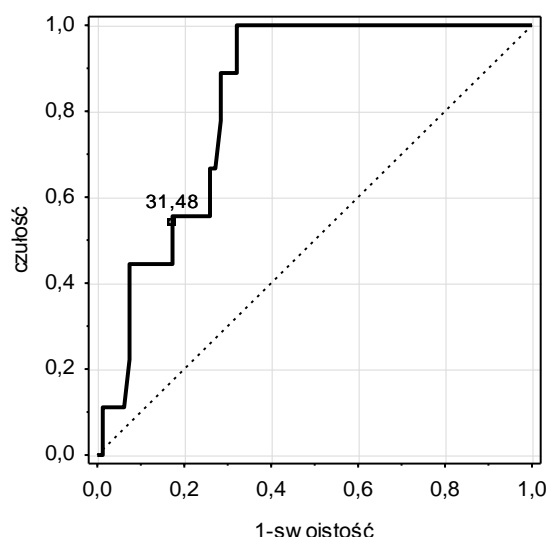
Rycina 40. Rozpoznanie III stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (103,91 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu.



Rycina 41. Rozpoznanie IIIb stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (86,69 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu.



Rycina 42. Rozpoznanie IV stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (57,86 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu.



Rycina 43. Rozpoznanie stadium przeddializacyjnego PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (31,48 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu.

Do oceny wartości diagnostycznej testu wykorzystano wyliczone wartości: czułości i swoistości diagnostycznej testu (oznaczenia stężenia UM we krwi) dla wybranej wartości odcięcia oraz pola powierzchni pod krzywymi ROC do oceny skuteczności dyskryminacji poszczególnych stadiów PChN (tab. 29.).

Tabela 29. Charakterystyka użyteczności diagnostycznej oznaczeń stężenia UM w surowicy w dyskryminacji poszczególnych stadiów PChN

stadium PChN	wartość odcięcia stężenia uromoduliny (ng/ml)	czułość	swoistość	pole powierzchni pod krzywą ROC
II	114,17	0,922	0,846	0,941 (0,889–0,993)
IIIa	103,91	0,863	0,706	0,910 (0,850–0,969)
IIIb	86,79	0,917	0,867	0,953 (0,914–0,991)
IV	57,86	0,976	0,857	0,958 (0,916–1,000)
przeddializacyjne	31,48	0,556	0,827	0,829 (0,732–0,925)

6. DYSKUSJA

Przedstawione badanie dotyczy oceny surowiczego stężenia UM u osób z PChN w stadium I–IV. W pracy wykazano, że stężenie UM w surowicy chorych było znamienne mniejsze niż u osób w grupie kontrolnej ($78,0 \pm 65,0$ ng/ml vs $190,5 \pm 58,5$ ng/ml). Najważniejszym spostrzeżeniem okazało się potwierdzenie stopniowego zmniejszania się stężenia UM w przebiegu choroby nerek, po zakwalifikowaniu pacjentów do poszczególnych stadiów PChN na podstawie eGFR wyliczonego ze wzoru 2012 CKD-EPI_{kreat-cysC}. Surowicze stężenie UM zmniejszało się wraz ze zmniejszeniem wartości eGFR, a zatem zachowywało się przeciwnie do surowicznych klasycznych wskaźników oceniających funkcję wydalniczą nerek (kreatyniny, cystatyny C), których stężenie zwiększa się wraz z postępującą utratą czynnych nefronów. Wykazano, że stężenie UM w surowicy pacjentów korelowało ujemnie z retencyjnymi wskaźnikami funkcji nerek oraz dodatkowo ze wszystkimi zastosowanymi w analizie wzorami oszacowania GFR. Uzyskane zależności pomiędzy stężeniem UM w surowicy a pozostałymi badanymi parametrami można uznać za „bardzo duże” w skali Guilforda, a poziom istotności w każdym przypadku wynosił $p=0,0000$.

Przewlekła choroba nerek, zgodnie z definicją, związana jest z postępującą utratą funkcji nerek, a zatem w tym przypadku można uznać, że zmniejszone stężenie UM w surowicy odzwierciedla obecność i postęp choroby nerek.

Kotten i wsp. [65,67,102] w swoich badaniach potwierdzili, że zarówno nerkowe wydalanie UM, jak i polimorfizmy w genie *UMOD* związane są z zachorowalnością na PChN. Uznano więc, że istnieje wzajemny związek pomiędzy UM a występowaniem PChN. Niestety, ze względu na małą liczebność przebadanych grup możliwość interpretacji wyników większości badań związanych z zastosowaniem UM jako potencjalnego biomarkera funkcji nerek i narzędzia prognostycznego dla PChN jest dość ograniczona [151]. Większość opublikowanych do tej pory prac odwołujących się do funkcji nerek i stężeń UM koncentrowała się wydalaniu UM z moczem oraz na jego związku z PChN i eGFR [34,92,151]. Zaobserwowano, że wraz ze zmniejszeniem GFR zmniejsza się wydalanie UM z moczem [83,144]. Thornley i wsp. [144] uznali, że ze względu na stopniowe zmniejszanie się GFR w przebiegu PChN dobowe nerkowe wydalanie UM może odzwierciedlać zarówno

zmniejszającą się liczbę czynnych nefronów, jak i zmniejszoną ekspresję tego białka spowodowaną chorobą. Autorzy ci zasugerowali konieczność wprowadzenia korekty wydalania UM z moczem względem liczby pozostałych czynnych nefronów, co miałyby polegać na zastosowaniu współczynnika: 24-godzinne wydalanie UM/wartość GFR ($\mu\text{g UM/ml GFR}$). W taki sposób skorygowane wydalanie dobowe UM (wyrażone w $\mu\text{g/ml GFR}$) okazało się większe u osób z PChN [144]. Zatem choć całkowite wydalanie UM zmniejszało wraz ze zmniejszeniem liczby czynnych nefronów obserwowanym w PChN, to ilość UM wydzielana przez pojedynczy funkcjonujący nefron się zwiększała. Niektórzy uważają, że zastosowanie oznaczenia 24-godzinnego wydalania UM znormalizowanego względem GFR jest najlepszym wskaźnikiem wykorzystującym ocenę wydalania UM z moczem [34].

Niewiele z dotychczas opublikowanych badań dotyczyło relacji pomiędzy funkcją nerek a stężeniem UM w surowicy [24,25,58,108,117,144]. Warto również dodać, że publikowane wyniki często pozostają w sprzeczności w ocenie relacji pomiędzy stężeniem UM i funkcją nerek [58,108,117]. Thornley i wsp. [144] wykazali zwiększenie osoczonego stężenia UM u 65 pacjentów z PChN i zaobserwowali korelację pomiędzy zmierzonym klirensem endogennej kreatyniny oraz stężeniem UM. Jednocześnie ci sami badacze nie wykazali żadnej zależności pomiędzy surowiczym stężeniem UM i klirensem kreatyniny u 26 zdrowych osób. Dawnay i Cattel [25] potwierdzili, że u pacjentów anefrycznych występowały nieoznaczalne ilości UM w osoczu, a u niektórych hemodializowanych chorych z zachowanymi nerkami stężenie UM w osoczu było mniejsze niż u osób zdrowych. Autorzy ci wykazali również zmniejszone stężenie UM w surowicy po usunięciu jednej nerki i zwiększenie stężenia UM u pacjentów po przeszczepieniu nerki. Kontrowersyjną w porównaniu z innymi pracami opublikowali w 2010 roku Prajczler i wsp. [108], którzy przebadali stężenie UM w surowicy i moczu 14 zdrowych osób i 77 pacjentów z PChN (w tym 7 osób z FJHN). Autorzy ci, tak jak i inni, zaobserwowali wprawdzie, że zmniejszonemu eGFR towarzyszy zmniejszone wydalanie UM z moczem, ale podobnej zależności nie wykazali dla stężenia UM w surowicy, podkreślali natomiast istnienie „trendu” w kierunku większych stężeń UM u osób z mniejszym eGFR. Nie wykazali również wyraźnej i jednoznacznej zależności pomiędzy surowiczym stężeniem UM a stężeniem kreatyniny w surowicy. U pacjentów z FJHN, rzadką dziedziczną autosomalnie chorobą genetyczną spowodowaną mutacją w genie *UMOD*, która powoduje wewnątrzkomórkową akumulację zmutowanego białka, zaobserwowano skrajnie małe ilości UM w moczu [58,108]. W ostatnio opublikowanej pracy Risch i wsp. [117] przebadali liczącą 289 kohortę osób w starszym wieku, subiektywnie zdrowych, i wykazali,

że surowicze stężenia UM zmniejszały się wraz z pogarszaniem się funkcji nerek (co pozostaje w zgodzie z wynikami niniejszej pracy). Autorzy potwierdzili, że stężenie UM w surowicy zwiększało się wraz z poprawą funkcji nerek i zachowywało się przeciwnie do konwencjonalnych markerów funkcji nerek (kreatynina, mocznik, cystatyna C), których stężenie zwiększa się wskutek retencji spowodowanej zmniejszeniem GFR [117]. Ponieważ stężenie UM korelowało dodatnio z eGFR, Risch i wsp. uznali, że zmniejszone stężenie UM jest wyrazem i konsekwencją występowania PChN. W podsumowaniu swojej pracy wnioskowali, że w populacji zdrowych starszych osób zmniejszony eGFR odzwierciedla naturalną związaną z procesem starzenia się utratę czynnych nefronów, a ich badanie stanowi najdokładniejszą jak dotąd analizę związku pomiędzy funkcją nerek a stężeniem UM w surowicy [117]. Wyniki uzyskane w niniejszej pracy w całości potwierdzają spostrzeżenia Rischa i wsp.

Pomimo obiecujących wyników badań należy przyznać, że niewiele wiadomo na temat znaczenia stężenia UM w surowicy, tak jak nie wyjaśniono związku przyczynowego pomiędzy UM a występowaniem PChN [34]. Po odcięciu proteolitycznym z powierzchni komórki UM jest uwalniana do światła kanalika, gdzie tworzy żel na powierzchni komórek [16]. W mniejszym stopniu UM jest uwalniana również w rejonie boczno-podstawnym komórki do tkanki śródmiąższowej [3,58]. Mechanizm i znaczenie boczno-podstawnego uwalniania UM nie zostały w całości poznane [34], choć wydaje się, że zwiększeniu wydalania UM do moczu może towarzyszyć dodatkowo zwiększenie uwalniania boczno-podstawnego UM, co może się przejawiać zwiększeniem stężenia UM w surowicy krwi u tych chorych, co również wykazali w swoim badaniach Thornley i wsp. [144] oraz Prajczler i wsp. [108]. Nadal nie wyjaśniono jednak, czy UM obecna w tkance śródmiąższowej pochodzi z moczu, czy z sekrecji boczno-podstawnej z komórek kanalikowych [58]. W istocie źródło UM krążącej w surowicy jest w pewnym sensie zagadkowe, ponieważ UM w komórkach TAL podlega fizjologicznej sekrecji apikalnej (luminalnej), a nie bazolateralnej. Inną możliwością wydzielania UM do krwi może być zwrotny wyciek (*backleakage*) UM ze światła kanalików do tkanki śródmiąższowej [81].

W niniejszej pracy zaobserwowano szeroki zakres stężenia UM w surowicy u chorych pozostających na wczesnych etapach choroby nerek (I i II stadium PChN). Zakres ten obejmował zarówno wartości zmniejszone, prawidłowe, jak i przekraczające te uzyskane u osób zdrowych (wartości maksymalne w grupie chorych 374,1, a w grupie zdrowych 299,1; ryc. 5. i 6.). Wydaje się, że wyniki te są zgodne z wynikami innych badań dotyczących wydalania UM z moczem. Eksperymenty przeprowadzane u szczurów wykazały, że

wydalanie UM stopniowo się zwiększa po zaindukowaniu cukrzycy streptozotocyną [112,145] w sposób niezależny od masy nerek [145]. Te spostrzeżenia eksperymentalne znalazły swoje potwierdzenie u chorych na cukrzycę, u których GFR jest zwiększone wskutek hiperfiltracji, oraz u pacjentów na wczesnych stadiach PChN z zachowanym prawidłowym GFR. U osób tych stwierdzono zwiększone 24-godzinne wydalanie UM [107,148,163], przy czym w zaawansowanej chorobie dobowe wydalanie UM ulega zmniejszeniu [146,147], co może odzwierciedlać zmniejszoną liczbę czynnych nefronów. Tłumaczy to również odkrycie Kottgen i wsp. [66], którzy wykazali, że zwiększenie stężenia UM w moczu poprzedza początek choroby. Komentując wyniki uzyskane przez Rischa i wsp. [117], warto dodać, że fizjologicznym objawem starzenia się organizmu jest utrata czynnych nefronów, w związku z czym po 40. roku życia obserwuje się zmniejszenie GFR o około 1 ml/rok, co zaobserwowano w badanej kohorcie subiektywnie zdrowych osób w starszym wieku.

W przedstawianej pracy zaobserwowano, że stężenie UM we krwi znamienne ujemnie koreluje z wiekiem pacjenta (podobnie jak stężenie kreatyniny i cystatyny C – dodatnio, a eGFR – ujemnie, korelują z wiekiem chorego). Jak wiadomo, z wiekiem pogarsza się funkcja nerek, a także zwiększa się częstość występowania choroby nerek, co może się wiązać ze zwiększeniem stężenia kreatyniny i cystatyny C oraz zmniejszeniem GFR. Surowicze stężenie UM natomiast nie koreluje z masą ciała pacjenta, wzrostem ani wskaźnikiem BMI. Dodatkowo w badaniu przeprowadzono analizę regresji liniowej wielokrotnej między stężeniem UM (zmienna zależna) a eGFR, płcią, wiekiem oraz BMI jako zmiennymi niezależnymi. Wyniki wykazały, że związki pomiędzy surowicznym stężeniem UM a eGFR (2012 CKD-EPI_{kreat-cysC}) pozostają znamienne niezależnie od płci, wieku i BMI pacjenta. Zatem potencjalnie możemy dysponować wskaźnikiem do oceny filtracji kłębuszkowej o wartości diagnostycznej zbliżonej do eGFR, niezależnym od podstawowych parametrów demograficznych.

Jedynym opracowaniem, w którym przeprowadzono podobną analizę, jest opublikowane w 2014 roku badanie Rischa i wsp. [117], którzy w grupie subiektywnie zdrowych osób starszych uzyskali analogiczne wyniki, a związki pomiędzy stężeniem UM w surowicy i eGFR_{cysC} pozostały niezmiennie po włączeniu do modelu regresji wielokrotnej takich zmiennych, jak wiek, płeć, BMI i palenie tytoniu [117].

Pomimo ogromnego postępu dokonanego w leczeniu nefroprotekcyjnym, stosowanej farmakoterapii oraz technik leczenia nerkozastępczego śmiertelność wśród chorych z PChN nadal utrzymuje się na bardzo wysokim poziomie. Najczęstszą przyczyną zgonu w tej grupie pacjentów są choroby układu sercowo-naczyniowego (choroba wieńcowa, choroba naczyń

obwodowych, zaburzenia rytmu serca, przeciążenie objętościowe oraz przerost lewej komory serca). Przyczyną takiego stanu rzeczy jest współwystępowanie u chorych z PChN klasycznych czynników ryzyka (takich jak płeć, wiek, nadciśnienie tętnicze, czynniki genetyczne) z czynnikami zależnymi od istniejącego uszkodzenia funkcji nerek (takimi jak przewlekły proces zapalny, stres oksydacyjny, dysfunkcja śródbłonna naczyń, aktywacja układu współczulnego, przeciążenie objętościowe lewej komory serca, wpływ toksyn mocznicowych, zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej, niedożywienie białkowo-kaloryczne oraz niedokrwistość). Wydaje się, że u chorych z zaawansowaną PChN to właśnie nietradycyjne czynniki ryzyka odgrywają kluczową rolę w rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego i związanej z nimi dużej śmiertelności [135].

W pracy przeanalizowano związki pomiędzy surowiczym stężeniem UM a parametrami: zapalnymi, krwi obwodowej, gospodarki wapniowo-fosforanowej, statusu odżywienia oraz NT-proBNP.

Zaobserwowano, że u chorych z PChN zmniejszeniu stężenia UM towarzyszy zwiększenie stężenia cytokin prozapalnych IL-6 i IL-18. Jednocześnie wykazano brak związku pomiędzy stężeniem UM a parametrami ogólnoustrojowej reakcji zapalnej: fibrynogenem i CRP, jak również PTX3.

Od dawna postuluje się rolę UM w reakcji zapalnej towarzyszącej chorobom nerek. Uważa się, że UM reaguje z komórkami układu odpornościowego, m.in. poprzez niespecyficzne wiązanie części węglowodanowej z receptorami na powierzchni tych komórek. Wykazano, że wiązanie UM z neutrofilami indukuje syntezę IL-8, prowokuje wybuch tlenowy i degranulację [41,42] oraz stymuluje chemotaksję i fagocytozę [43], a monocyty pod wpływem UM są indukowane do wydzielania IL-1 β , IL-6 i TNF- α [44]. UM zwiększa ponadto ekspresję receptora dla IL-2 oraz HLA klasy II na limfocytach i stymuluje proliferację komórek [44]; stymuluje także dojrzewanie niedojrzałych komórek dendrytycznych drogą sygnałowania *Toll-like receptor 4* [45]. Inkubacja krwi żyłnej z UM powoduje zależne od dawki zwiększenie syntezy i wydzielania TNF- α , IL-1 β , IL-6 i IL-8 przez leukocyty [46]. W swojej pracy Prajczner i wsp. [108] wykazali, że duże stężenie UM w surowicy wiązało się z większym stężeniem w surowicy prozapalnych cytokin TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 oraz czynnika wzrostu śródbłonna naczyń (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), ale nie czynnika wzrostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor* – HGF). Autorzy sugerowali, że UM, która wkracza do tkanki śródmiąższowej nerek, może reagować z komórkami układu odpornościowego i stymulować odpowiedź zapalną, która następnie sprzyja dalszemu uszkodzeniu cewek. Ale z drugiej strony wykazano, że zmniejszonemu

wydalaniu UM z moczem towarzyszy atrofia kanalików i śródmiąszowa infiltracja zaobserwowana w biopsji nerek, co wskazywałoby na działanie przeciwzapalne tego białka [33]. Należy również wspomnieć, że UM może mieć właściwości nefroprotektoryjne, co wykazano u myszy, u których niedokrwienie nerek i reperfuzja stymulowały ekspresję UM [82]. Ponadto w modelu myszy ze znokautowanym genem *UM* obserwowano większą martwicę kanalików i reakcję zapalną, a także większe upośledzenie czynności nerek niż u myszek szczepu dzikiego [69]. Postuluje się dwoistą rolę zwiększenia uwalniania UM do warstwy śródmiąszowej (i/lub surowicy): stymulowanie odpowiedzi prozapalnej i pogłębianie urazu [81,108] lub działanie przeciwzapalne [32,33], znaczenie fizjologiczne bazolateralnego uwalniania UM nie zostało jednak jak dotąd wyjaśnione.

Interleukina-6 (IL-6) jest jedną z najważniejszych cytokin o działaniu pro- i przeciwzapalnym. Jest wydzielana głównie przez monocyty i makrofagi pod wpływem IL-1 oraz innych cytokin prozapalnych. Zaobserwowano, że IL-6 jest wydzielana z uszkodzonej, niestabilnej blaszki miażdżycowej w przebiegu ostrego zespołu wieńcowego. Uważa się, że stężenie IL-6 odzwierciedla nasilenie dysfunkcji śródbłonna i stanowi niezależny czynnik ryzyka zgonu u chorych z PChN [100]. Natomiast występująca w moczu IL-18 jest biomarkerem uszkodzenia kanalików nerkowych i prawdopodobnie stanowi informację prognostyczną o ciężkości i ryzyku zgonu w wyniku AKI. Jej stężenie w moczu zwiększa się u pacjentów z rozwiniętym AKI spowodowanym niedokrwieniem. Wykazano ponadto nadekspresję IL-18 w kanalikach nerkowych w cukrzycowej chorobie nerek [151]. Niewiele wiadomo o roli IL-18 w przebiegu PChN, natomiast zwiększenie jej stężenia w surowicy wiąże się z występowaniem niestabilnej blaszki miażdżycowej. Długoterminowe obserwacje wykazały zależność zwiększonego stężenia IL-18 ze śmiertelnością całkowitą oraz ze śmiertelnością z przyczyn sercowo-naczyniowych [36].

Wyniki niniejszej pracy wskazują wyraźnie, że zmniejszeniu stężenia UM w surowicy towarzyszy reakcja zapalna związana ze zwiększonym stężeniem IL-6 i IL-18, ale nie z ogólnoustrojową reakcją zapalną związaną z produkcją wątrobowych białek ostrej fazy: fibrynogenu i CRP. Nie rozstrzygnięto, czy obydwie cytokiny korelują ze stężeniem UM *per se*, czy raczej pozostają w związku z postępującą chorobą nerek, ponieważ przedstawione korelacje są podobne do zależności pomiędzy eGFR i obydwoma cytokinami.

Stężenie UM (podobnie jak wartość eGFR) ujemnie koreluje ze stężeniem fosforu nieorganicznego, iPTH i FGF-23. Współczynniki korelacji oraz zakres istotności statystycznej wskazują na bardzo silną zależność.

Wraz ze zmniejszeniem czynności wydalniczej we wczesnych stadiach PChN następuje zwiększenie wydzielania FGF-23 przez osteocyty oraz PTH przez komórki przytarczyc, a w miarę dalszego zmniejszenia filtracji pojawiają się kolejno: zwiększenie stężenia fosforu i zmniejszenie stężenia wapnia w surowicy. Zwiększenie stężenia FGF-23 w surowicy w przebiegu PChN wydaje się wyprzedzać zwiększenie stężenia PTH, który wykrywa się dopiero przy wartościach GFR w przedziale <60 ml/min/1,73 m²; pojawia się przy niewielkim upośledzeniu eGFR (stadium II–III PChN), gdy stężenie fosforanów w surowicy wciąż pozostaje w zakresie wartości prawidłowych, i uważa się, że jest jednym z najwcześniejszych biochemicznych markerów zmniejszenia filtracji kłębuszkowej [30]. Stężenie FGF-23 zwiększa się równolegle ze zmniejszeniem filtracji kłębuszkowej <90 ml/min/1,73 m², niezależnie od wieku, płci, wysokości ciśnienia tętniczego, występowania cukrzycy oraz BMI. Zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej w przebiegu PChN mają niemal zawsze charakter złożony i prowadzą do wtórnej (a w bardziej zaawansowanych stadiach choroby – trzeciorzędowej) nadczynności przytarczyc, hipokalcemii, hiperfosfatemii i niedoboru 1,25-dihydroksycholekalcyferolu. Klinicznie zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej w przebiegu PChN prowadzą do zaburzeń mineralizacji kostnej (osteodystrofia), pojawienia się zwapnień pozakostnych, a przede wszystkim do powikłań w zakresie układu sercowo-naczyniowego [63,95].

Przeanalizowano korelacje pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi oraz parametrami morfologii krwi obwodowej i wykazano, że wraz ze zmniejszaniem się stężenia UM zmniejszają się: liczba erytrocytów we krwi, stężenie hemoglobiny i hematokryt. Występowanie podobnych zależności potwierdzono dla eGFR i analogicznych parametrów hematologicznych.

American Heart Association (AHA 2003) [125] opublikowało raport naukowy na temat danych potwierdzających, że chorzy z PChN stanowią grupę największego ryzyka rozwoju chorób układu sercowo-naczyniowego, a tym samym wymagają agresywnej terapii prewencyjnej w celu zredukowania ich ciężkości. Choroby układu sercowo-naczyniowego są główną przyczyną zgonów pacjentów poddawanych dializoterapii, a śmiertelność jest 10–30 razy większa niż w populacji ogólnej (po uwzględnieniu wpływu płci, rasy i cukrzycy) [38]. U chorych z niewydolnością serca od lat poszukuje się biomarkerów, które byłyby obiektywnymi wskaźnikami przebiegu procesów patologicznych, skuteczności zastosowanego leczenia oraz rokowania. Na szczególną uwagę zasługują: peptyd natriuretyczny typu B (BNP) i N-końcowy propeptyd natriuretyczny typu B (NT-proBNP). W grupie chorych z PChN (zwłaszcza z GFR <60 ml/min/1,73 m²) należy się spodziewać

większych wartości tych biomarkerów niż u chorych bez PChN. Do potencjalnych przyczyn zwiększenia stężenia peptydów natriuretycznych zalicza się ich nadmierne wydzielanie oraz upośledzoną ich biodegradację wskutek niewydolności nerek. Stężenia peptydów natriuretycznych w surowicy krwi zwiększają się wraz z postępem choroby nerek, niemniej jednak zastosowanie oznaczenia tych markerów w rozpoznawaniu niewydolności serca u chorych z PChN jest umiarkowane, a trudności nastęca właściwy dobór wartości progowych stężenia BNP i NT-proBNP dla diagnozowania niewydolności serca w poszczególnych stadiach PChN [6].

Wstępna analiza potwierdziła silną odwrotną zależność pomiędzy zmniejszeniem stężenia UM w surowicy a zwiększeniem stężenia pro-BNP. Zależność ta może wskazywać na rolę UM jako surogatowego wskaźnika oceny funkcji nerek (GFR) i tym samym związanego ze zwiększeniem ryzyka sercowo-naczyniowego.

Dodatni związek pomiędzy surowiczymi stężeniami UM i NT-proBNP może wskazywać na występowanie zależności pomiędzy zmniejszaniem się stężenia UM i występowaniem chorób układu sercowo-naczyniowego u pacjentów z PChN. Na zależność pomiędzy stężeniem UM w moczu i zmniejszeniem światła tętnic nerkowych wskazują wyniki pracy Prejbisza i wsp., opublikowanej w 2015 roku na łamach *Kidney International* [109]. Autorzy opisali i przeanalizowali mutację w genie *UMOD* dotyczącą zmiany pojedynczego aminokwasu w cząsteczce UM u pacjenta oraz u członków jego rodziny. Mutacji towarzyszyły: nadciśnienie spowodowane obustronnym zwężeniem tętnic nerkowych, hiperurykemia i PChN. Prejbisz i wsp. postulują, że występująca już w dzieciństwie hiperurykemia towarzysząca mutacji w genie *UMOD* może powodować proliferację mięśni gładkich w obrębie ściany tętnic nerkowych, skutkując zwężeniem tętnic i powstaniem reninozależnego nadciśnienia tętniczego [109].

Niedokrwistość, jako powikłanie PChN, pojawia się u 90% chorych, gdy filtracja kłębuszkowa maleje poniżej 50–70 ml/min/1,73 m² (stadia II i III), i towarzyszy na stałe pacjentom z PChN, gdy GFR wynosi 25–30 ml/min/1,73 m². Zwiększa ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych (a zwłaszcza przerostu lewej komory i niewydolności serca) oraz chorobowość i śmiertelność z przyczyn sercowo-naczyniowych; wydłuża również czas hospitalizacji chorych [27].

Wyniszczenie białkowo-kaloryczne (*protein-energy wasting* – PEW) lub zespół MIA (*malnutrition inflammation atherosclerosis*) często towarzyszą PChN, a ich występowanie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zgonu z powodu chorób sercowo-naczyniowych. Uważa się, że w przebiegu PChN i wiążącej się z tym utraty funkcji filtracyjnych przez nerki

następuje uszkodzenie śródbłonna naczyń oraz nasilenie stanu zapalnego, kwasica, zmiany w sygnalizacji insuliny i anoreksja, a wszystkie te zaburzenia wspólnie przyczyniają się do ujemnego bilansu białkowo-energetycznego i rozwoju zespołu MIA. Do wskaźników zespołu MIA zalicza się między innymi zmniejszone stężenia albuminy, prealbuminy i cholesterolu. W surowicy chorych ze stwierdzonymi cechami niedożywienia często występują również zwiększone stężenia mediatorów stanu zapalnego: białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP), fibrynogenu i niektórych cytokin prozapalnych: IL-1, IL-4, IL-6 oraz TNF- α . Klinicznie MIA rozwija się u chorych w każdym stadium PChN. Zwiększone stężenia wykładników stanu zapalnego (takich jak CRP, IL-6, fibrynogen) występują już we wczesnych stadiach PChN, osiągając istotnie większe wartości u chorych z GFR <60 ml/min/1,73 m², co stanowi uzasadnienie dla wczesnych działań profilaktycznych i terapeutycznych [13,135]. Niedożywienie białkowo-energetyczne zwiększa się w przebiegu PChN.

W analizowanej pracy wykazano dodatnią korelację pomiędzy stężeniem UM w surowicy, podobnie jak wartością eGFR, a stężeniem albuminy i cholesterolu w surowicy. Można więc przyjąć, że im większe stężenie UM i większe GFR, tym lepszy stan odżywienia pacjentów z PChN.

Występowanie białkomoczu jest ważnym z punktu widzenia rokowniczego problemem towarzyszącym PChN [63,114]. Nie stwierdzono związku pomiędzy surowicznym stężeniem UM a występowaniem albuminurii w badanej grupie chorych z PChN. Dane z piśmiennictwa wskazują, że wydalanie UM z moczem u chorych na cukrzycę i z chorobą nerek nie koreluje z mikroalbuminurią [107,163].

W podsumowaniu tej części dyskusji należy podkreślić, że stwierdzane korelacje surowiczego stężenia UM i wybranych parametrów odzwierciedlają podobne związki pomiędzy eGFR a analizowanymi parametrami. Można więc sądzić, że stężenie UM w surowicy odzwierciedla postęp PChN w sposób analogiczny do tego, w jaki eGFR określa stadium choroby nerek.

Od lat 70. ubiegłego wieku krzywe ROC są techniką analizy danych służącą do oceny użyteczności dokładności diagnostycznej testów laboratoryjnych. W niniejszej pracy podjęto próbę przeprowadzenia klasyfikacji stadiów PChN na podstawie stężenia UM w surowicy chorych. Wyznaczono wartości graniczne stężenia UM dla poszczególnych stadiów PChN. Za umowną metodę referencyjną klasyfikacji stadiów PChN przyjęto wartości GFR otrzymane ze wzoru 2012 CKD-EPI_{krea-cysC}. Wzór ten jest obecnie najlepszym równaniem estymacji GFR [63]. Analizę krzywych ROC wykorzystano do oceny efektywności wybranych stężeń

UM w odróżnianiu poszczególnych stadiów PChN w porównaniu z klasyfikacją stadiów na podstawie równania CKD-EPI_{krea-cysC}2012. Dla każdego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia, natomiast analizę w całym zakresie przedstawiono graficznie za pomocą krzywych ROC.

Zgodnie z zasadą konstruowania krzywych ROC uważa się, że im większe jest pole pod krzywą, tym dokładniej klasyfikuje się pacjentów do poszczególnych grup, czyli tym większa moc diagnostyczna testu. Większość testów używanych w diagnostyce reprezentuje moc diagnostyczną wyrażającą się wielkościami AUC 0,8–0,95. AUC dla dyskryminacji poszczególnych stadiów PChN na podstawie stężenia UM w surowicy dla stadiów II–IV mieściło się w zakresie 0,910–0,958, natomiast dla wyróżnienia stadium przeddializacyjnego wynosiło 0,829. Na stosunkowo małą wartość AUC dla wyróżnienia stadium przeddializacyjnego miała prawdopodobnie wpływ mała liczebność tej grupy (9 osób). Przedstawiona w pracy wstępna analiza krzywych ROC pozwala na wnioskowanie o potencjalnie dużej użyteczności diagnostycznej oznaczania surowiczego stężenia UM do klasyfikacji stadium PChN.

Podobną analizę charakterystyki diagnostycznej dla rozpoznania eGFR_{cysC} dla kreatyniny, azotu mocznika oraz stosunku kreatynina/UM przeprowadzili Risch i wsp. [117]. W analizie tej pole pod krzywą dla oznaczania stężenia UM w surowicy wynosiło 0,78 i było porównywalne z AUC kreatyniny.

Ograniczenia

Analizowana praca ma pewne ograniczenia, do których w pierwszej kolejności należy zaliczyć niewielką grupę zakwalifikowanych chorych z PChN. Do oceny eGFR nie zastosowano metody referencyjnej, a jedynie najlepszy dostępny wzór estymacji GFR (2012 CKD-EPI_{krea-cysC}). Przedstawione badanie jest badaniem przekrojowym, a zatem nie można określić przyczynowości pomiędzy stężeniem UM a funkcją nerek, a jedynie współwystępowanie zmian. Dostępna laboratoryjnie immunoenzymatyczna metoda oznaczania stężenia UM, podobnie jak inne komercyjnie dostępne metody oznaczania stężenia tego białka, nie została dostatecznie wystandaryzowana, co ogranicza możliwość porównania otrzymanych wyników z wynikami innych autorów. Znacznym utrudnieniem w interpretacji uzyskanych wyników oznaczeń stężenia UM jest natura tego białka. UM wykazuje dużą skłonność do agregacji i potencjalną niestabilność powstałych kompleksów białkowych, co – jak wykazano – może być przyczyną powstania sprzecznych wyników oznaczenia stężenia UM w moczu [147,158]. Youhanna i wsp. zbadali stabilność próbki

moczu oraz stabilność oznaczenia stężenia UM w moczu i wykazali, że otrzymane wyniki oznaczeń podlegają wpływom procedury: wirowania i wytrząsania na wortexie, jak również warunkom i czasowi przechowywania moczu. Autorzy opracowali optymalne warunki preparatyki i przechowywania moczu do oznaczania stężenia UM [158]. Podobne interferencje mogą występować w przypadku oznaczania stężenia UM w surowicy krwi, a zatem do pełnego wykorzystania oznaczeń stężenia UM w surowicy konieczne będzie opracowanie dokładnej, jednolitej metody pobierania krwi, wirowania i przechowywania próbek surowicy do czasu wykonania oznaczenia.

7. WNIOSKI KOŃCOWE

1. Przewlekła choroba nerek związana jest z postępującą utratą funkcji nerek, a zatem można uznać, że zmniejszające się wraz ze zmniejszaniem się wskaźnika filtracji kłębuszkowej eGFR stężenie UM w surowicy odzwierciedla obecność i postęp choroby nerek. Na potwierdzenie tej hipotezy wykazano, że surowicze stężenie UM znamienne i ujemnie koreluje ze stężeniem retencyjnych wskaźników funkcji nerek: kreatyniny i cystatyny C, oraz dodatnio ze wszystkimi zastosowanymi w analizie wzorami szacowania GFR.
2. Analiza regresji wieloczynnikowej wykazała, że silna zależność pomiędzy stężeniem UM a eGFR pozostaje niezależna od wieku, płci i BMI. Powyższa analiza wskazuje, że surowicze stężenie UM może stanowić potencjalny wskaźnik oceny filtracji kłębuszkowej o wartości diagnostycznej zbliżonej do eGFR (CKD-EPI_{krea-cysC}), niezależny od podstawowych parametrów demograficznych.
3. Analiza statystyczna krzywych ROC dla wyznaczania poszczególnych stadiów PChN na podstawie stężenia UM w surowicy krwi świadczy o potencjalnie dużej użyteczności diagnostycznej wyniku oznaczenia surowiczego stężenia UM do klasyfikacji stadiów choroby nerek.
4. W pracy wykazano identyczną zależność (pod względem kierunku zmian oraz wartości r i p) dla stężenia UM oraz wartości eGFR w odniesieniu do parametrów zapalnych, wskaźników stanu odżywienia, gospodarki wapniowo-fosforanowej, stężenia NT-proBNP oraz parametrów krwi obwodowej. Pozostaje do rozstrzygnięcia, czy wartości wybranych parametrów korelują ze stężeniem UM *per se*, czy pozostają w związku z postępującą chorobą nerek wyrażoną poprzez zmniejszenie zarówno stężenia UM, jak i GFR.
5. Reasumując, na podstawie uzyskanych wyników badań i analiz surowicze stężenie UM można uznać za potencjalny nowy biowskaźnik służący do oceny funkcji wydalniczej nerek, niezależny od płci, wieku i masy mięśniowej, tożsamy z informacją zawartą w tradycyjnych wskaźnikach funkcji nerek (kreatynina, cystatyna C, eGFR) lub ją uzupełniający.

8. PIŚMIENNICTWO

1. Astor B.C., Hallan S.I., Miller E.R. 3rd et al.: Glomerular filtration rate, albuminuria, and risk of cardiovascular and all-cause mortality in the US population. *Am J Epidemiol.* 2008; 167: 1226-34.
2. Bachmann S., Dawney A.B., Bouby N. et al.: Tamm-Horsfall protein excretion during chronic alterations in urinary concentration and protein intake in the rat. *Ren Physiol Biochem.* 1991; 14: 236-45.
3. Bachmann S., Koeppen-Hagemann I., Kriz W.: Ultrastructural localization of Tamm-Horsfall glycoprotein (THP) in rat kidney as revealed by protein A-gold immunocytochemistry. *Histochemistry* 1985; 83: 531-8.
4. Bachmann S., Metzger R., Bunnemann B.: Tamm-Horsfall protein-mRNA synthesis is localized to the thick ascending limb of Henle's loop in rat kidney. *Histochemistry* 1990; 94: 517-23.
5. Bachmann S., Mutig K., Bates J. et al.: Renal effects of Tamm-Horsfall protein (uromodulin) deficiency in mice. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 288: F559-67.
6. Banasiak W., Więcek A., Jankowska E.A. i wsp.: Problemy w diagnostyce i leczeniu chorych z niewydolnością serca i z chorobami współistniejącymi: odcinek 10: niewydolność serca a przewlekła choroba nerek. *Med Prakt.* 2014; 10: 39-56.
7. Bates J.M., Raffi H.M., Prasad K. et al.: Tamm-Horsfall protein knockout mice are more prone to urinary tract infection: rapid communication. *Kidney Int.* 2004; 65: 791-7.
8. Bernascone I., Janas S., Ikehata M. et al.: A transgenic mouse model for uromodulin associated kidney diseases shows specific tubulo-interstitial damage, urinary concentrating defect and renal failure. *Hum Mol Genet.* 2010; 19: 2998-3010.
9. Bingham C., Ellard S., van't Hoff W.G. et al.: Atypical familial juvenile hyperuricemic nephropathy associated with a hepatocyte nuclear factor-1beta gene mutation. *Kidney Int.* 2003; 63: 1645-51.
10. Bleyer A.J., Hart T.C., Shihabi Z. et al.: Mutations in the uromodulin gene decrease urinary excretion of Tamm-Horsfall protein. *Kidney Int.* 2004; 66: 974-7.

11. Bleyer A.J., Hart T.C.: Familial juvenile hyperuricaemic nephropathy. *QJM* 2003; 96: 867-8.
12. Blirup-Jensen S., Grubb A., Lindstrom V. et al.: Standardization of cystatin C: development of primary and secondary reference preparations. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008; 241: 67-70.
13. Bonanni A., Mannucci I., Verzola D. et al.: Protein-Energy Wasting and Mortality in Chronic Kidney Disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2011, 8, 1631-54.
14. Caims H.S., Dawnay A., Woolfson R.G., Unwin R.J.: Evaluation of therapy for cast nephropathy: failure of colchicine to alter urinary Tamm Horsfall glycoprotein excretion in normal subjects. *Exp Nephrol.* 1994; 2: 257-8.
15. Cavallone D., Malagolini N., Monti A. et al.: Variation of high mannose chains of Tamm-Horsfall glycoprotein confers differential binding to type 1-fimbriated *Escherichia coli*. *J Biol Chem.* 2004; 279: 216-22.
16. Cavallone D., Malagolini N., Serafini-Cessi F.: Mechanism of release of urinary Tamm-Horsfall glycoprotein from the kidney GPI-anchored counterpart. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001; 280: 110-4.
17. Chakraborty J., Below A.A., Solaiman D.: Tamm-Horsfall protein in patients with kidney damage and diabetes. *Urol Res.* 2004; 32: 79-83.
18. Chambers J.C., Zhang W., Lord G.M. et al.: Genetic loci influencing kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2010; 42: 373-5.
19. Chen W.C., Lin H.S., Tsai F.J., Li C.W.: Effects of Tamm-Horsfall protein and albumin on the inhibition of free radicals. *Urol Int.* 2001; 67: 305-9.
20. Cockcroft D.W., Gault M.H.: Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31-41.
21. Coresh J., Stevens L.A.: Kidney function estimating equations: where do we stand? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006; 15: 276-84.
22. Dahan K., Devuyst O., Smaers M. et al.: A cluster of mutations in the *UMOD* gene causes familial juvenile hyperuricemic nephropathy with abnormal expression of uromodulin. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14: 2883-93.
23. Davies D.F., Shock N.W.: Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. *J Clin Invest.* 1950; 29: 496-507.
24. Dawnay A., McLean C., Cattell W.R.: The development of a radioimmunoassay for Tamm-Horsfall glycoprotein in serum. *Biochem J.* 1980;185: 679-87.

25. Dawnay A.B., Cattell W.R.: Serum Tamm-Horsfall glycoprotein levels in health and in renal disease. *Clin Nephrol.* 1981; 15: 5-8.
26. Devuyt O., Dahan K., Pirson Y.: Tamm-Horsfall protein or uromodulin: new ideas about an old molecule. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 1290-4.
27. Donderski R., Kardymowicz A., Manitius J.: Niedokrwistość nerkopochodna. Wybrane aspekty diagnostyki i terapii. *Choroby Serca i Naczyń* 2009; 6: 82-93.
28. Dou W., Thompson-Jaeger S., Lauderkind S.J. et al.: Defective expression of Tamm-Horsfall protein/uromodulin in COX-2-deficient mice increases their susceptibility to urinary tract infections. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005; 289: F49-60.
29. Dulawa J., Kokot M., Kokot F.: Effects of furosemide, propranolol and nifedipine on urinary excretion of Tamm - Horsfall protein in patients with arterial hypertension. *Pol Arch Med Wewn.* 1992; 88: 212-8.
30. Earley A., Miskulin D., Lamb E.J. et al.: Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2012; 156: 785-95.
31. Easton R.L., Patankar M.S., Clark G.F. et al.: Pregnancy-associated changes in the glycosylation of Tamm-Horsfall glycoprotein. Expression of sialyl Lewis(x) sequences on core 2 type O-glycans derived from uromodulin. *J Biol Chem.* 2000; 275: 21928-38.
32. El-Achkar T.M., McCracken R., Rauchman M. et al.: Tamm-Horsfall protein-deficient thick ascending limbs promote injury to neighboring S3 segments in an MIP-2-dependent mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2011; 300: F999-1007.
33. El-Achkar T.M., Wu X.R., Rauchman M. et al.: Tamm-Horsfall protein protects the kidney from ischemic injury by decreasing inflammation and altering TLR4 expression. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2008; 295: F534-44.
34. El-Achkar T.M., Wu X.R.: Uromodulin in kidney injury: An instigator, bystander, or protector? *Am J Kidney Dis.* 2012; 59: 452-6.
35. Fairley J.K., Owen J.E., Birch D.F.: Protein composition of urinary casts from healthy subjects and patients with glomerulonephritis. *Br Med J.* 1983; 287: 1838-40.
36. Fassett R.G., Venuthurupalli S.K., Gobe G.C. et al.: Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int.* 2011; 80: 806-21.
37. Fletcher A.P., McLaughlin J.E., Ratcliffe W.A. et al.: The chemical composition and electron microscopic appearance of a protein derived from urinary casts. *Biochim Biophys Acta* 1970; 214: 299-308.

38. Folley R.N., Parfrey P.S., Sarnak M.J.: Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1998; 5: S112-9.
39. Glauser A., Hochreiter W., Jaeger P. et al.: Determinants of urinary excretion of Tamm-Horsfall protein in non-selected kidney stone formers and healthy subjects. *Nephrol Dial Transplant.* 2000; 15: 1580-7.
40. Goldstein DB.: Common genetic variation and human traits. *N Engl J Med.* 2009; 360: 1696-8.
41. Gottschalk A.: Carbohydrate residue of a urine mucoprotein inhibiting influenza virus haemagglutination. *Nature* 1952; 170: 662-3.
42. Grams M.E., Juraschek S.P., Selvin E. et al.: Trends in the prevalence of reduced GFR in the United States: a comparison of creatinine- and cystatin C-based estimates. *Am J Kidney Dis.* 2013; 62: 253-60.
43. Gresh L., Fischer E., Reimann A. et al.: A transcriptional network in polycystic kidney disease. *EMBO J.* 2004; 23: 1657-68.
44. Grubb A., Blirup-Jensen S., Lindstrom V. et al.: First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48: 1619-21.
45. Gudbjartsson D.F., Holm H., Indridason O.S. et al.: Association of variants at UMOD with chronic kidney disease and kidney stones-role of age and comorbid diseases. *PLoS Genet.* 2010; 6: e1001039. doi: 10.1371/journal.pgen.1001039.
46. Guidi E., Giglioni A., Cozzi M.G., Minetti E.E.: Which urinary proteins are decreased after angiotensin converting-enzyme inhibition? *Ren Fail.* 1998; 20: 243-8.
47. Guzman R.E., Datta K., Khan N.K.: Obstructive protein cast nephropathy in cynomolgus monkeys treated with small organic molecules. *Vet Pathol.* 2008; 45: 945-8.
48. Hallan S., Astor B.C., Lydersen S.: Estimating glomerular filtration rate in the general population: the second Health Survey of Nord Trondelag (HUNT II). *Nephrol Dial Transplant.* 2006; 21: 1525-33.
49. Hallan S.I., Gansevoort R.T.: Moderator's view: Estimating glomerular filtration rate – the past, present and future. *Nephrol Dial Transplant.* 2013; 28: 1404-6.
50. Hart T.C., Gorry M.C., Hart P.S. et al.: Mutations of the UMOD gene are responsible for medullary cystic kidney disease 2 and familial juvenile hyperuricaemic nephropathy. *J Med Genet.* 2002; 39: 882-92.
51. Hession C., Decker J.M., Sherblom A.P. et al.: Uromodulin (Tamm-Horsfall glycoprotein): a renal ligand for lymphokines. *Science* 1987; 237: 1479-84.

52. Horton J.K., Davies M., Topley N. et al.: Activation of the inflammatory response of neutrophils by Tamm-Horsfall glycoprotein. *Kidney Int.* 1990; 37: 717-26.
53. Hoyer J.R., Sisson S.P., Vernier RL.: Tamm-Horsfall glycoprotein: ultrastructural immunoperoxidase localization in rat kidney. *Lab Invest.* 1979; 41: 168-73.
54. Huang Z.Q., Kirk K.A., Connelly K.G. et al.: Bence Jones proteins bind to a common peptide segment of Tamm-Horsfall glycoprotein to promote heterotypic aggregation. *J Clin Invest.* 1993; 92: 2975-83.
55. Inker L.A., Eckfeldt J., Levey A.S. et al.: Expressing the CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) cystatin C equations for estimating GFR with standardized serum cystatin C values. *Am J Kidney Dis.* 2011; 58: 682-4.
56. Inker L.A., Schmid C.H., Tighiouart H. et al.: Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 2012; 367: 20-9.
57. Iorember F., Vehaskari V.: Uromodulin: old friend with new roles in health and disease. *Pediatr Nephrol.* 2014; 29 (7): 1151-8.
58. Jennings P., Aydin S., Kotanko P. et al.: Membrane targeting and secretion of mutant uromodulin in familial juvenile hyperuricemic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18: 264-73.
59. Jouret F., Debaix H., Devuyst O.: A catalog of gene expression in the developing kidney. *Kidney Int.* 2004; 66: 867-8.
60. Jovine L., Qi H., Williams Z. et al.: The ZP domain is a conserved module for polymerization of extracellular proteins. *Nat Cell Biol.* 2002; 4: 457-61.
61. Kemter E., Rathkolb B., Rozman J. et al.: Novel missense mutation of uromodulin in mice causes renal dysfunction with alterations in urea handling, energy, and bone metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009; 297: F1391-8.
62. Khan S.R., Canales B.K.: Genetic basis of renal cellular dysfunction and the formation of kidney stones. *Urol Res.* 2009; 37: 169-80.
63. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group: KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2013; Sup. 3: 1-150.
64. Kokot F., Duława J.: Tamm-Horsfall protein updated. *Nephron* 2000; 85: 97-102.
65. Kottgen A., Glazer N.L., Dehghan A. et al.: Multiple loci associated with indices of renal function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2009; 41: 712-7.
66. Kottgen A., Hwang S.J., Larson M.G. et al.: Uromodulin levels associate with a common UMOD variant and risk for incident CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 337-44.

67. Kottgen A., Pattaro C., Boger C.A. et al.: New loci associated with kidney function and chronic kidney disease. *Nat Genet.* 2010; 42: 376-84.
68. Kreft B., Jabs W.J., Laskay T. et al.: Polarized expression of Tamm-Horsfall protein by renal tubular epithelial cells activates human granulocytes. *Infect Immun.* 2002; 70: 2650-6.
69. Kuan Y., Hossain M., Surman J. et al.: GFR prediction using the MDRD and Cockcroft and Gault equations in patients with end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 2394-401.
70. Kumar S., Muchmore A.: Tamm-Horsfall protein-uromodulin (1950-1990). *Kidney Int.* 1990; 37: 1395-401.
71. Lau W.H., Leong W.S., Ismail Z. et al.: Qualification and application of an ELISA for the determination of Tamm Horsfall protein (THP) in human urine and its use for screening of kidney stone disease. *Int J Biol Sci.* 2008; 4: 215-22.
72. Levey A.S., Bosch J.P., Lewis J.B. et al.: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease study group. *Ann Intern Med.* 1999; 130: 461-70.
73. Levey A.S., Coresh J., Greene T. et al.: Expressing the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate with standardized serum creatinine values. *Clin Chem.* 2007; 53: 766-72.
74. Levey A.S., Coresh J., Greene T. et al.: Using standardized serum creatinine values in the Modification of Diet in Renal Disease Study equation for estimating glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2006; 145: 247-54.
75. Levey A.S., Eckardt K.-U., Tsukamoto Y. et al.: Definition and classification of chronic kidney disease: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2005; 67: 2089-100.
76. Levey A.S., Greene T., Kusek J. et al.: A simplified equation to predict glomerular filtration rate from serum creatinine [abstract A0828]. *J Am Soc Nephrol.* 2000; 11: 155A.
77. Levey A.S., Inker L.A., Coresh J.: GFR estimation: from physiology to public health. *Am J Kidney Dis.* 2014; 63: 820-34.
78. Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al.: A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150: 604-12.
79. Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al.: A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009; 150: 604-12. Erratum in: *Ann Intern Med.* 2011; 155: 408.

80. Levey A.S., Stevens L.A.: Estimating GFR using the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: more accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions. *Am J Kidney Dis.* 2010; 55: 622-7.
81. Lhotta K.: Uromodulin and chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2010; 33: 393-8.
82. Liu Y., El-Achkar T.M., Wu X.-R.: Tamm-Horsfall protein regulates circulating and renal cytokines by affecting glomerular filtration rate and acting as a urinary cytokine trap. *J Biol Chem.* 2012; 287: 16365-78.
83. Lynn K.L., Marshall R.D.: Excretion of Tamm-Horsfall glycoprotein in renal disease. *Clin Nephrol.* 1984; 22: 253-7.
84. Ma Y.C., Zuo L., Chen J.H. et al.: Improved GFR estimation by combined creatinine and cystatin C measurements. *Kidney Int.* 2007; 72: 1535-42.
85. Manetti L., Pardini E., Genovesi M. et al.: Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest.* 2005; 28: 346-9.
86. Manolio T.A.: Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med.* 2010; 363: 166-76.
87. Mao S., Zhang A., Huang S.: The signaling pathway of uromodulin and its role in kidney diseases. *J Recept Signal Transduct Res.* 2014; 34 (6): 440-4.
88. Matsushita K., Mahmoodi B.K., Woodward M. et al.: Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA* 2012; 307: 1941-51.
89. McBride M.B., Rigden S., Haycock G.B. et al.: Presymptomatic detection of familial juvenile hyperuricaemic nephropathy in children. *Pediatr Nephrol.* 1998; 12: 357-64.
90. Mo L., Huang H.Y., Zhu X.H. et al.: Tamm-Horsfall protein is a critical renal defense factor protecting against calcium oxalate crystal formation. *Kidney Int.* 2004; 66: 1159-66.
91. Mo L., Zhu X.H., Huang H.Y. et al.: Ablation of the Tamm-Horsfall protein gene increases susceptibility of mice to bladder colonization by type 1-fimbriated *Escherichia coli*. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2004; 286: F795-802.
92. Moskowitz J., Piret S., Lhotta K. et al.: Association between genotype and phenotype in uromodulin-associated kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013; 8 (8): 1349-57.
93. Muchmore A.V., Decker J.M.: Uromodulin: a unique 85-kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women. *Science* 1985; 229: 479-81.

94. Myers G.L., Miller W.G., Coresh J. et al.: Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem.* 2006; 52: 5-18.
95. Nowicki M.: Diagnostyka i leczenie wtórnej nadczynności przytarczyc. *Forum Nefrologiczne* 2009; 2: 222-6.
96. Nowicki M.: Zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej w przewlekłej chorobie nerek. W: Rutkowski B., Durlik M. (red.): *Praktyczny poradnik rozpoznawania i leczenia zaburzeń Ca-P u pacjentów z niewydolnością nerek. Przewlekła choroba nerek od rozpoznania do transplantacji. Konsultant Krajowy w Dziedzinie Nefrologii*, Gdańsk 2009: 33-48.
97. Obara T., Mizoguchi S., Shimozuru Y. et al.: The complex of immunoglobulin A and uromodulin as a diagnostic marker for immunoglobulin A nephropathy. *Clin Exp Nephrol.* 2012; 16: 713-21.
98. Odin L.: Carbohydrate residue of a urine mucoprotein inhibiting influenza virus Hemagglutination. *Nature* 1952; 170: 663-4.
99. Olczak T., Kubicz A., Kokot F. et al.: Tamm-Horsfall protein isolated from urine of pregnant and non-pregnant women has similar oligosaccharides. *Eur J Clin Invest.* 1998; 28: 475-82.
100. Owczarek A., Babińska M., Szyguła-Jurkiewicz B., Chudek J.: Przewlekły proces zapalny u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi i przewlekłą chorobą nerek. *Kardiol Pol.* 2011; 69 (4): 388-93.
101. Pak J., Pu Y., Zhang Z.T. et al.: Tamm-Horsfall protein binds to type 1 fimbriated *Escherichia coli* and prevents *E. coli* from binding to uroplakiną Ia and Ib receptors. *J Biol Chem.* 2001; 276: 9924-30.
102. Parsa A., Fuchsberger C., Kottgen A. et al.: Common variants in Mendelian kidney disease genes and their association with renal function. *J Am Soc Nephrol.* 2013; 24: 2105-17.
103. Patel R., McKenzie J.K, McQueen E.G.: Tamm-Horsfall urinary mucoprotein and tubular obstruction by casts in acute renal failure. *Lancet* 1964; 1: 457-61.
104. Pattaro C., De Grandi A., Vitart V. et al.: A meta-analysis of genome-wide data from five European isolates reveals an association of COL22A1, SYT1, and GABRR2 with serum creatinine level. *BMC Med Genet.* 2010; 11: 41. doi: 10.1186/1471-2350-11-41.
105. Pennica D., Kohr W.J., Kuang W.J. et al.: Identification of human uromodulin as the Tamm-Horsfall urinary glycoprotein. *Science* 1987; 236: 83-8.

106. Perrone R.D., Madias N.E., Levey A.S.: Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* 1992; 38: 1933-53.
107. Pfeleiderer S., Zimmerhackl L.B., Kinne R. et al.: Renal proximal and distal tubular function is attenuated in diabetes mellitus type 1 as determined by the renal excretion of alpha 1-microglobulin and Tamm-Horsfall protein. *Clin Investig.* 1993; 71: 972-7.
108. Prajczek S., Heidenreich U., Pfaller W. et al.: Evidence for a role of uromodulin in chronic kidney disease progression. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25: 1896-903.
109. Prejbisz A., Sellin L., Szwench-Pietrasz E. et al.: Smaller caliber renal arteries are a novel feature of uromodulin-associated kidney disease. *Kidney Int.* 2015; advance online publication, 11 February 2015; doi:10.1038/ki.2015.2.
110. Raffi H.S., Bates J.M. Jr, Laszik Z. et al.: Tamm-Horsfall protein acts as a general host-defense factor against bacterial cystitis. *Am J Nephrol.* 2005; 25: 570-8.
111. Rampoldi L., Caridi G., Santon D. et al.: Allelism of MCKD, FJHN and GCKD caused by impairment of uromodulin export dynamics. *Hum Mol Genet.* 2003; 12: 3369-84.
112. Rasch R., Torffvit O., Bachmann S. et al.: Tamm-Horsfall glycoprotein in streptozotocin diabetic rats: a study of kidney in situ hybridization, immunohistochemistry, and urinary excretion. *Diabetologia* 1995; 38: 525-35.
113. Renigunta A., Renigunta V., Saritas T. et al.: Tamm-Horsfall glycoprotein interacts with renal outer medullary potassium channel ROMK2 and regulates its function. *J Biol Chem.* 2011; 286: 2224-35.
114. Reznichenko A., Böger C., Snieder H. et al.: UMOD as a susceptibility gene for end-stage renal disease. *BMC Med Genet.* 2012; 13: 78.
115. Rhodes D.C., Hinsman E.J., Rhodes J.A.: Tamm-Horsfall glycoprotein binds IgG with high affinity. *Kidney Int.* 1993; 44: 1014-21.
116. Rhodes D.C.: Binding of Tamm-Horsfall protein to complement 1q measured by ELISA and resonant mirror biosensor techniques under various ionic-strength conditions. *Immunol Cell Biol.* 2000; 78: 474-82.
117. Risch L., Lhotta K., Meier D. et al.: The serum uromodulin level is associated with kidney function. *Clin Chem Lab Med.* 2014; 52: 1755-61.
118. Romero M.C., Zanaro N., Gonzalez L. et al.: A. Tamm-Horsfall protein excretion to predict the onset of renal insufficiency. *Clin Biochem.* 2002; 35: 65-8.
119. Rule A.D., Bergstralh E.J., Slezak J.M. et al.: Glomerular filtration rate estimated by cystatin C among different clinical presentations. *Kidney Int.* 2006; 69: 399-405.

120. Rutkowski B., Małgorzewicz S., Łysiak-Szydłowska W.: Stanowisko dotyczące rozpoznawania oraz postępowania w przypadku niedożywienia dorosłych chorych z przewlekłą chorobą nerek. *Forum Nefrologiczne* 2010; 3: 138-42.
121. Saemann M.D., Weichhart T., Horl W.H. et al.: Tamm-Horsfall protein: a multilayered defence molecule against urinary tract infection. *Eur J Clin Invest.* 2005; 35: 227-35.
122. Saemann M.D., Weichhart T., Zeyda M. et al.: Tamm-Horsfall glycoprotein links innate immune cell activation with adaptive immunity via a Toll-like receptor-4-dependent mechanism. *J Clin Invest.* 2005; 115: 468-75.
123. Sanders P.W., Booker B.B.: Pathobiology of cast nephropathy from human Bence Jones proteins. *J Clin Invest.* 1992; 89: 630-9.
124. Santambrogio S., Cattaneo A., Bernascone I. et al.: Urinary uromodulin carries an intact ZP domain generated by a conserved C-terminal proteolytic cleavage. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 370: 410-13.
125. Sarnak M.J., Levey A.S., Schoolwerth A.C. et al.: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003; 42: 1050-65.
126. Schaeffer C., Santambrogio S., Perucca S. et al.: Analysis of uromodulin polymerization provides new insights into the mechanisms regulating ZP domain-mediated protein assembly. *Mol Biol Cell.* 2009; 20: 589-99.
127. Schaeffner E.S., Ebert N., Delanaye P. et al.: Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Intern Med.* 2012; 157: 471-81.
128. Schmid M., Prajczek S., Gruber L.N. et al.: Uromodulin facilitates neutrophil migration across renal epithelial monolayers. *Cell Physiol Biochem.* 2010; 26: 311-8.
129. Scolari F., Caridi G., Rampoldi L. et al.: Uromodulin storage diseases: clinical aspects and mechanisms. *Am J Kidney Dis.* 2004; 44: 987-99.
130. Sedor J.R.: Uromodulin and translational medicine: will the SNPs bring zip to clinical practice? *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21: 204-6.
131. Serafini-Cessi F., Malagolini N., Cavallone D.: Tamm-Horsfall glycoprotein: biology and clinical relevance. *Am J Kidney Dis.* 2003; 42: 658-76.
132. Shlipak M.G., Li Y., Fox C. et al.: Uromodulin concentrations are not associated with incident CKD among persons with coronary artery disease. *BMC Nephrol.* 2011; 12: 2. doi: 10.1186/1471-2369-12-2.

133. Srichai M.B., Hao C., Davis L. et al.: Apoptosis of the thick ascending limb results in acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19: 1538-46.
134. Steindel S.J., Rauch W.J., Simon M.K. et al.: National Inventory of Clinical Laboratory Testing Services (NICLTS). Development and test distribution for 1996. *Arch Pathol Lab Med.* 2000; 124: 1201-8.
135. Stenvinkel P., Carrero J.J., Axellson J. et al.: Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008; 3: 505-21.
136. Stevens L.A., Schmid C.H., Greene T. et al.: Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int.* 2008; 75: 652-60.
137. Stevens L.A., Schmid C.H., Zhang Y.L. et al.: Development and validation of GFR-estimating equations using diabetes, transplant and weight. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25: 449-57.
138. Storch S., Saggi S., Megyesi J. et al.: Ureteral obstruction decreases renal prepro-epidermal growth factor and Tamm-Horsfall expression. *Kidney Int.* 1992; 42: 89-94.
139. Su S.J., Chang K.L., Lin T.M. et al.: Uromodulin and Tamm-Horsfall protein induce human monocytes to secrete TNF and express tissue factor. *J Immunol.* 1997; 158: 3449-56.
140. Sumitra K., Pragasam V., Sakthivel R. et al.: Beneficial effect of vitamin E supplementation on the biochemical and kinetic properties of Tamm-Horsfall glycoprotein in hypertensive and hyperoxaluric patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 1407-15.
141. Tamm I., Horsfall F.L. Jr.: Characterization and separation of an inhibitor of viral hemagglutination present in urine. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1950; 74: 106-8.
142. Tamm I., Horsfall F.L.: A mucoprotein derived from human urine which reacts with influenza, mumps, and Newcastle disease viruses. *J Exp Med.* 1952; 95: 71-97.
143. Teo B.W., Xu H., Koh Y.Y. et al.: Estimating kidney function in a multiethnic Asian population with multiple filtration markers. *Am J Kidney Dis.* 2012; 60: 500-2.
144. Thornley C., Dawnay A., Cattell W.R.: Human Tamm-Horsfall glycoprotein: urinary and plasma levels in normal subjects and patients with renal disease determined by a fully validated radioimmunoassay. *Clin Sci (Lond).* 1985; 68: 529-35.
145. Thulesen J., Jorgensen P.E., Torffvit O. et al.: Urinary excretion of epidermal growth factor and Tamm-Horsfall protein in three rat models with increased renal excretion of urine. *Regul Pept.* 1997; 72: 179-86.
146. Torffvit O., Agardh C.D., Thulin T.: A study of Tamm-Horsfall protein excretion in hypertensive patients and type 1 diabetic patients. *Scand J Urol Nephrol.* 1999; 33: 187-91.

147. Torffvit O., Agardh C.D.: Tubular secretion of Tamm-Horsfall protein is decreased in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with diabetic nephropathy. *Nephron* 1993; 65: 227-31.
148. Torffvit O., Agardh C.D.: Urinary excretion rate of NC1 and Tamm-Horsfall protein in the microalbuminuric type I diabetic patient. *J Diabetes Complications* 1994; 8: 77-83.
149. Torffvit O., Melander O., Hulten U.L.: Urinary excretion rate of Tamm-Horsfall protein is related to salt intake in humans. *Nephron Physiol.* 2004; 97: 31-6.
150. Vickery S., Price C.P., John R.I. et al.: B-type natriu-retic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with CKD: relationship to renal function and left ventricular hypertrophy. *Am J Kidney Dis.* 2005; 46: 610-20.
151. Vyletal P., Bleyer A.J., Kmoch S.: Uromodulin biology and pathophysiology – an update. *Kidney Blood Press Res.* 2010; 33: 456-75.
152. Wiggins R.C.: Uromucoid (Tamm-Horsfall glycoprotein) forms different polymeric arrangements on a filter surface under different physicochemical conditions. *Clin Chim Acta* 1987; 162: 329-40.
153. Wimmer T., Cohen G., Saemann M.D., Horl W.H.: Effects of Tamm-Horsfall protein on polymorphonuclear leukocyte function. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19: 2192-7.
154. Wolf M.T., Beck B.B., Zaucke F. et al.: Uromodulin C744G mutation causes MCKD2 and FJHN in children and adults and may be due to a possible founder effect. *Kidney Int.* 2007; 71: 574-81.
155. Wu H., Chen G., Wyburn K.R. et al.: TLR4 activation mediates kidney ischemia/reperfusion injury. *J Clin Invest.* 2007; 117: 2847-59.
156. Ying W.Z., Sanders P.W.: Dietary salt regulates expression of Tamm-Horsfall glycoprotein in rats. *Kidney Int.* 1998; 54: 1150-6.
157. Ying W.Z., Sanders P.W.: Mapping the binding domain of immunoglobulin light chains for Tamm-Horsfall protein. *Am J Pathol.* 2001; 158: 1859-66.
158. Youhanna S., Weber J., Beaujean V. et al.: Determination of uromodulin in human urine: influence of storage and processing. *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29: 136-45.
159. Yu C.L., Tsai C.Y., Lin W.M. et al.: Tamm-Horsfall urinary glycoprotein enhances monokine release and augments lymphocyte proliferation. *Immunopharmacology* 1993; 26: 249-58.
160. Zaucke F., Boehnlein J.M., Steffens S. et al.: Uromodulin is expressed in renal primary cilia and UMOD mutations result in decreased ciliary uromodulin expression. *Hum Mol Genet.* 2010; 19: 1985-97.

161. Zdrojewski Ł., Rutkowski B.: MDRD czy CKD-EPI – rewolucja czy ewolucja? Forum Nefrologiczne 2014; 7: 38-44.
162. Zhou J., Chen Y., Liu Y. et al.: Urinary Uromodulin Excretion Predicts Progression of Chronic Kidney Disease Resulting from IgA Nephropathy. PLoS ONE 2013; 8: e71023. doi:10.1371/journal.pone.0071023.
163. Zimmerhackl L.B., Pfliederer S., Kinne R. et al.: Tamm-Horsfall-protein excretion as a marker of ascending limb transport indicates early renal tubular damage in diabetes mellitus type I. J Diabetes Complications 1991; 5: 112-4.

9. STRESZCZENIE

Badania asocjacyjne całego genomu (GWAS) wykazały, że modyfikacje w genie *UMOD* są związane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia PChN, kamicy nerkowej lub nadciśnienia tętniczego. Potwierdzono również rolę UM w takich chorobach jak: torbielowatość kłębuszków nerkowych, kamica nerek czy infekcje dróg moczowych. Pomimo, że znaczenie fizjologiczne UM nie zostało ostatecznie i jednoznacznie określone to wyniki dotychczasowych badań spowodowały wzrost zainteresowania UM i jej rolą w chorobach nerek. Większość przeprowadzonych dotychczas badań dotyczyła analizy związku pomiędzy wielkością wydalania UM z moczem, a występowaniem chorób nerek. Celem przeprowadzonego badania była próba potwierdzenia istnienia związku pomiędzy stężeniem UM w surowicy krwi, a występowaniem przebiegiem PChN.

Badaniem objęto grupę 79 dorosłych pacjentów z PChN w stadium I-IV, pozostających w stałej kontroli w Poradni Nefrologicznej przy Klinice Nefrologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Stężenie UM w surowicy oznaczano metodą ELISA. Analizowano zależności pomiędzy stężeniem UM w surowicy, a stężeniem kreatyniny, cystatyny C oraz wartościami eGFR wyliczonymi wszystkimi dostępnymi wzorami estymacji (CKD-EPI_{krea}2009, CKD-EPI_{cysC}2012, CKD-EPI_{krea-cysC}2012). W oparciu o analizę krzywych ROC oceniano użyteczność diagnostyczną oznaczania surowiczego stężenia UM do identyfikacji poszczególnych stadiów PChN. Ponadto przeanalizowano związek pomiędzy surowiczym stężeniem UM a biochemicznymi markerami stanu zapalnego (fibrynogen, CRP, IL-8, IL-18, PTX3), gospodarki wapniowo-fosforanowej (Ca, Pi, iPTH, FGF-23), niedożywienia (albumina, cholesterol całkowity), morfologii krwi obwodowej oraz NT-proBNP.

Surowicze stężenie UM obniża się wraz z postępującą utratą funkcji nerek, znamienne i ujemnie koreluje ze stężeniem retencyjnych wskaźników funkcji nerek: kreatyniny i cystatyny C oraz dodatnio ze wszystkimi zastosowanymi w analizie wzorami szacowania GFR. Przeprowadzona analiza regresji wieloczynnikowej wykazała, że związek pomiędzy stężeniem UM a eGFR pozostaje niezależny od podstawowych parametrów demograficznych: wieku, płci oraz wartości indeksu BMI. Wykonana analiza statystyczna krzywych ROC dla wyznaczania poszczególnych stadiów PChN w oparciu o stężenie UM w surowicy krwi potwierdziła potencjalnie wysoką użyteczność diagnostyczną oznaczania surowiczego

stężenia UM w klasyfikacji stadiów choroby nerek. Wyniki analiz wskazują na identyczną zależność (pod względem kierunku zmian oraz wartości r i p) dla stężenia UM oraz wartości eGFR, w odniesieniu do parametrów zapalnych, wskaźników stanu odżywienia, gospodarki wapniowo-fosforanowej, wartości stężenia NT-proBNP oraz parametrów krwi obwodowej.

W oparciu o otrzymane wyniki badań i analiz proponuje się uznać surowicze stężenie UM za potencjalny nowy biopskaźnik służący ocenie funkcji wydalniczej nerek, niezależny od płci, wieku i masy mięśniowej, jednoznaczny lub/i uzupełniający informację zawartą w tradycyjnych wskaźnikach funkcji nerek (kreatynina, cystatyna C, eGFR).

10. STRESZCZENIE W JEZYKU ANGIELSKIM (ABSTRACT)

The Genome wide association study (GWAS) showed that modifications of the UMOD gene are associated with an increased risk of developing chronic kidney disease, nephrolithiasis and/or hypertension. Uromodulin was also confirmed to play a role in such diseases as cystic glomerulonephritis, nephrolithiasis or urinary tract infections. Although the physiological role of UM is not conclusively determined by the results of previous studies – our interest in UM and its role in diseases of the kidney has grown. Most studies to date relate to the analysis of the relationship between the size of the UM excretion in the urine, and the incidence of kidney diseases. The aim of this study was to confirm the existence of a link between the concentration in the blood serum of UM and the prevalence of CKD.

The study group included 79 adult patients with CKD stage I-IV, remaining in constant control of the Clinic of Nephrology Department at the University Hospital in Krakow. The UM concentration in the serum was determined by ELISA. The association between serum concentrations of UM, and serum creatinine, cystatin C, and the values of all available data calculated from eGFR formulas (2009 CKD-EPI_{krea}, 2012 CKD-EPI_{cysC}, 2012 CKD-EPI_{krea-cysC}) was analyzed. The analysis of the ROC curves demonstrate the diagnostic ability of serum UM in identifying individual stages of CKD. The relationship between the serum concentration of UM and biochemical markers of inflammation (fibrinogen, CRP, IL-8, IL-18, PTX3), calcium-phosphate (Ca, Pi, iPTH, FGF-23), malnutrition (albumin, total cholesterol), peripheral blood counts and NT-proBNP was also analyzed. Serum UM decreases with progressive loss of kidney function; this is significantly and negatively correlated with the concentration of retention indices of renal function: creatinine and cystatin C and positively correlated with all applied variables in the analysis models for estimating GFR. The analysis of multivariate regression showed that the relationship between UM concentration and eGFR remains independent of key demographics: age, sex, and BMI values. The statistical analysis for the determination of the ROC curves of individual stages of CKD based on the concentration of serum UM confirmed the high potential diagnostic utility of serum UM determination in classifying the stages of kidney disease. The results of the analysis indicate that the mutual relationship (in terms of the direction of change and the rip) of UM levels and eGFR values in relation to inflammatory parameters, indicators of

nutritional status, the calcium-phosphate, the value of NT-proBNP levels and peripheral blood parameters is supported.

Based on the results of research and statistical analysis it is proposed to recognize the serum concentration of UM as a potential new biomarker for assessing renal function, independent of gender, age and muscle mass. Also, as an unambiguous and/or complementary information contained in the traditional indicators of renal function (creatinine, cystatin C, eGFR).

11. SPIS TABEL

Tabela 1.	Przyczyny PChN w badanej grupie chorych.....	27
Tabela 2.	Charakterystyka badanej grupy pod względem obecności chorób towarzyszących i powikłań	28
Tabela 3.	Wartości ciśnienia tętniczego obserwowane w badanej grupie pacjentów	29
Tabela 4.	Wartości wskaźnika masy ciała (BMI) oraz masy ciała i wzrostu zmierzone w badanej grupie pacjentów	29
Tabela 5.	Rutynowe badania laboratoryjne – badania biochemiczne surowicy/osocza krwi oraz moczu	30
Tabela 6.	Rutynowe badania laboratoryjne – morfologia krwi obwodowej. Analiza wykonywana na analizatorze SYSMEX firmy Roche (Niemcy)	31
Tabela 7.	Charakterystyka badań immunochemicznych wykonanych u pacjentów z PChN	32
Tabela 8.	Wzory stosowane do estymacji filtracji kłębuszkowej (eGFR)	33
Tabela 9.	Podział i liczebność pacjentów w poszczególnych stadiach PChN. eGFR wyliczony w oparciu o wzory: Cockrofta-Gaulta (C-G), MDRD, CKD-EPI _{krea} 2009, CKD-EPI _{cysC} 2012, CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	35
Tabela 10.	Charakterystyka badanej grupy pod względem płci i wieku w oparciu o eGFR wyliczane ze wzoru CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	36
Tabela 11.	Częstość występowania ChNS w poszczególnych stadiach PChN	37
Tabela 12.	Występowanie zdarzeń sercowo-naczyniowych u chorych z PChN w poszczególnych stadiach choroby	37
Tabela 13.	Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górny kwartył) parametrów biochemicznych krwi i moczu wykonywanych w trybie badań rutynowych u pacjentów z PChN	39
Tabela 14.	Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górny kwartył) morfologii krwi obwodowej wykonywanej w trybie badań rutynowych u pacjentów z PChN	40

Tabela 15.	Średnie wartości stężeń (\pm SD) oraz mediany (dolny–górnny kwartył) parametrów immunochemicznych krwi wykonane w badanej grupie pacjentów.....	41
Tabela 16.	Demograficzna, kliniczna i biochemiczna charakterystyka badanej populacji z uwzględnieniem podziału pacjentów na kobiety i mężczyzn	42
Tabela 17.	Porównanie stężenia UM w grupie pacjentów z PChN oraz w grupie kontrolnej z oceną statystyczną różnic	43
Tabela 18.	Stężenie UM w poszczególnych stadiach PChN (wartości wyrażone w ng/ml). Stadia PChN ustalano na podstawie eGFR wyliczonego ze wzoru CKD-EPI _{krea-cysC2012}	44
Tabela 19.	Korelacje porządku rang Spearmana dla stężenia UM oraz wskaźników filtracji kłębuszkowej	46
Tabela 20.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a ciśnieniem tętniczym pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC2012}	49
Tabela 21.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a wiekiem, wagą, wzrostem i BMI pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC2012}	49
Tabela 22.	Zależność między stężeniem UM a wartością eGFR z uwzględnieniem wpływu płci i wieku. Analiza regresji liniowej wielokrotnej dla zmiennej zależnej log(GFR)	52
Tabela 23.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem glukozy, parametrami stanu odżywienia oraz stężeniem triglicerydów we krwi pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC2012}	53
Tabela 24.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami gospodarki wapniowo-fosforanowej pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC2012}	56

Tabela 25.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami morfologii krwi obwodowej pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	59
Tabela 26.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a parametrami zapalnymi u pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	63
Tabela 27.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem NT-proBNP w surowicy krwi pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C oraz eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	67
Tabela 28.	Korelacje porządku rang Spearmana pomiędzy stężeniem UM a stężeniem NT-proBNP oraz białkomoczem dobowym u pacjentów z PChN. Porównanie analogicznych związków dla stężenia kreatyniny, cystatyny C i eGFR w oparciu o CKD-EPI _{krea-cysC} 2012	68
Tabela 29.	Charakterystyka użyteczności diagnostycznej oznaczeń stężenia UM w surowicy w dyskryminacji poszczególnych stadiów PChN	71

12. SPIS RYCIN

Rycina 1.	Wykres ilustrujący odsetek przyczyn PChN w badanej grupie chorych	27
Rycina 2.	Wykres ilustrujący występowanie chorób towarzyszących i powikłań w badanej grupie chorych	28
Rycina 3.	Procentowy udział pacjentów z badanej grupy zakwalifikowanych do poszczególnych stadiów PChN wyznaczanych różnymi wzorami estymacji	36
Rycina 4.	Występowanie ChNS i incydentów sercowo-naczyniowych w badanej grupie chorych	38
Rycina 5.	Stężenie UM w odniesieniu do grupy kontrolnej osób z prawidłową funkcją nerek.....	43
Rycina 6.	Zmiany stężenia UM w zależności od stadium choroby nerek	44
Rycina 7.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia cystatyny C a logarytmem stężenia kreatyniny w grupie pacjentów z PChN ...	45
Rycina 8.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia kreatyniny w grupie pacjentów z PChN	46
Rycina 9.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia cystatyny C w grupie pacjentów z PChN	47
Rycina 10.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPIkrea 2009w grupie pacjentów z PChN	47
Rycina 11.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPIcysC 2012 w grupie pacjentów z PChN	48
Rycina 12.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem eGFR wyznaczonego wg CKD-EPIkrea-cysC 2012 w grupie pacjentów z PChN	48
Rycina 13.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a wiekiem pacjenta w grupie chorych z PChN	50

Rycina 14.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a masą ciała pacjenta w grupie chorych z PChN	50
Rycina 15.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem ze stężenia UM a wzrostem pacjentów z PChN	51
Rycina 16.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem BMI pacjenta w grupie chorych z PChN	51
Rycina 17.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem glukozy w surowicy chorych z PChN	53
Rycina 18.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem albuminy w surowicy pacjenta chorych z PChN	54
Rycina 19.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem białka całkowitego w surowicy pacjenta chorych z PChN	54
Rycina 20.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia cholesterolu w surowicy pacjentów z PChN	55
Rycina 21.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem stężenia trójglicerydów w surowicy pacjentów z PChN	55
Rycina 22.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem wapnia całkowitego w surowicy pacjentów z PChN	57
Rycina 23.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem fosforanów w surowicy pacjentów z PChN	57
Rycina 24.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia iPTH w surowicy pacjentów z PChN	58
Rycina 25.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia FGF-23 w surowicy pacjentów z PChN	58
Rycina 26.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem wartości leukocytozy krwi obwodowej pacjentów z PChN	60
Rycina 27.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a liczbą erytrocytów we krwi pacjentów z PChN	60
Rycina 28.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem hemoglobiny we krwi pacjentów z PChN	61
Rycina 29.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a wartością hematokrytu krwi pacjentów z PChN	61

Rycina 30.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a liczbą płytek we krwi pacjentów z PChN	62
Rycina 31.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a stężeniem fibrynogenu w osoczu krwi pacjentów z PChN	63
Rycina 32.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia CRP w surowicy krwi pacjentów z PChN	64
Rycina 33.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia IL-6 w surowicy krwi pacjentów z PChN	64
Rycina 34.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia IL-8 w surowicy krwi pacjentów z PChN	65
Rycina 35.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia IL-18 w surowicy krwi pacjentów z PChN	65
Rycina 36.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia pentraksyny w surowicy krwi pacjentów z PChN	66
Rycina 37.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a logarytmem ze stężenia NT-proBNP w surowicy krwi pacjentów z PChN	67
Rycina 38.	Wykres rozrzutu przedstawiający zależność pomiędzy logarytmem stężenia UM a białkomoczem dobowym u pacjentów z PChN	68
Rycina 39.	Rozpoznanie 2 stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (114,17 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu	69
Rycina 40.	Rozpoznanie 3 stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (103,91 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu	69
Rycina 41.	Rozpoznanie 3b stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (86,69 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu	70

- Rycina 42.** Rozpoznanie 4 stadium PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (57,86 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu70
- Rycina 43.** Rozpoznanie stadium przeddializacyjnego PChN w oparciu o krzywą ROC dla stężenia UM. Dla tego stadium obliczono optymalną wartość odcięcia stężenia UM (31,48 ng/ml). Na wykresie oś OX przedstawia wartość (1-swoistość), natomiast oś OY reprezentuje czułość testu71