

Received: 2011.05.30
Accepted: 2011.07.28
Published: 2011.09.02

Moczowa cystatyna C jako biomarker uszkodzenia kanalików nerkowych

Urinary cystatin C as a biomarker of renal tubular injury

Maria Warwas, Agnieszka Piwowar

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Cystatyna C (cysC) jest endogennym inhibitorem peptydaz (proteaz) cysteinowych, który od lat jest obiektem badań jako biomarker funkcji nerek. Ze względu na małe rozmiary i brak białek wiążących cystatyna C jest swobodnie przesączana w kłębuszkach nerkowych i skutecznie reabsorbowana w kanalikach, co powoduje, że przy braku wydzielania kanalikowego do moczu dostają się jej znikome ilości. Od 1985 r. cystatyna C jest badana, głównie w surowicy/osoczu krwi, w aspekcie alternatywnego biomarkera w stosunku do surowiczej kreatyniny do oszacowania przesączania kłębuszkowego – GFR. W pracy przedstawiono badania z ostatnich lat dotyczące moczowej cystatyny C jako biomarkera uszkodzenia kanalików nerkowych.

Słowa kluczowe:

cystatyna C • mocz • biomarker kanalikowy • ostre uszkodzenie kanalików nerkowych

Summary

Cystatin C (cysC) is an endogenous cysteine peptidase (proteinase) inhibitor that has been intensively investigated as a biomarker of kidney function for many years. It is freely filtered at the kidney glomerulus because of its small size and lack of cysC binding protein. A very small amount of cysC appears in the urine because of its total reabsorption in the proximal tubule and lack of secretion. Since 1985 cystatin C has been studied mainly in serum/plasma as an alternative biomarker to serum creatinine to estimate GFR. In this review we present the recent discoveries concerning urinary cystatin C determination as a tubular injury biomarker.

Key words:

cystatin C • urine • tubular biomarker • acute kidney injury

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=957690>

Word count:

2227

Tables:

2

Figures:

–

References:

42

Adres autorki:

prof. dr hab. Maria Warwas, Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna, ul. Szewska 38/39, 50-139 Wrocław; e-mail: warwas@biochfarm.am.wroc.pl

WPROWADZENIE

Nazwa „cystatyna” została po raz pierwszy użyta w 1981 roku przez A. J. Barretta do opisanie substancji o charakterze białkowym wyizolowanej z białka jaja kurzego i wykazującej zdolność do hamowania aktywności lizosomalnych peptydaz (proteaz) cysteinowych. Od tego czasu opisano wiele białek o takiej aktywności i zgrupowano je w superrodzinę cystatyn [28] obejmującą kilka rodzin. Historię badań nad ludzką cystatyną C (cysC), przedstawicielem rodziny 2 i znaczenie diagnostyczne pomiaru jej stężenia w płynach ustrojowych opisano w wielu pracach [10,19,26,30,36]. Najwięcej badań dotyczyło pomiaru stężenia tego białka w surowicy krwi/osoczu w aspekcie biomarkera przesączania kłębuszkowego (glomerular filtration rate – GFR).

W pracy przedstawiono badania użyteczności pomiaru cysC w moczu jako wskaźnika zaburzeń funkcji kanalików nerkowych, na przeprowadzenie których pozwoliło opracowanie metod analitycznych z ostatnich 9 lat, umożliwiających ilościowe określenie stężenia tego inhibitora w moczu.

BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI BIOCHEMICZNE LUDZKIEJ CYSTATYNY C

Ludzka cysC, to niskocząsteczkowe białko o charakterze zasadowym, kodowane przez gen *CST3*, należący do genów typu „housekeeping”, zlokalizowany na chromosomie 20 (20p11.2), składający się z 4 500 par zasad, zawierający 3 eksony i 2 introny. Inhibitor ten wytwarzany jest przez wszystkie komórki jądrzaste organizmu i wydzielany do płynów ustrojowych. Dojrzała aktywna postać cysC jest nieglikozylowanym łańcuchem poli-peptydowym o masie 13 343–13 359 Da (przedział ten wynika z częściowej hydroksylacji proliny w pozycji 3 łańcucha – w około 50%). Składa się ze 120 reszt aminokwasowych i ma dwa wiązania disiarczkowe: Cys 73-83 i Cys 97-117 oraz motywy sekwencji QxVxGx i VPW. Elementy te są wspólną cechą rodziny 2 cystatyn i decydują o silnej aktywności inhibicyjnej względem peptydaz cysteinowych klas C1 i C13 (papaonowej i leguminaz, legumain). Sekwencja aminokwasowa ludzkiej cysC jest w 44% homologiczna z jej kurzym odpowiednikiem, a ich struktury drugorzędowe są do siebie podobne zarówno w roztworze, jak i w postaci krystalicznej. Podczas krystalizacji cysC można zaobserwować zjawisko wymiany domen między podjednostkami krystalizujących dimerów. Struktura przestrzenna dimeru cysC przedstawiona jest na ryc. 1. Jej opracowanie zawdzięczamy wysiłkom polskich uczonych z Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu. Białko to składa się z pięciodomowej przeciwrównoległej beta-harmonijki owiniętej wokół prostopadłej w stosunku do niej alfa-helisy [33]. Cystatyna C charakteryzuje się dodatnim ładunkiem elektrycznym, a jej fizjologiczny punkt izoelektryczny (pI) wynosi 9,3. U chorych ze schorzeniami nerek występuje dodatkowo postać o pI 7,8 [30].

Ludzka cysC jest konstytutywnie syntetyzowana w postaci propeptydu z peptydem sygnałowym o długości 26 reszt aminokwasowych, który ulega proteolitycznemu odszczerpieniu. Jej ekspresja w obrębie komórki obejmuje siateczkę śródplazmatyczną i aparat Golgiego. Wewnątrzkomórkowo występuje w postaci dimeru, co chroni ją przed wiązaniem się z występującymi tam proteazami, natomiast sekrecji do

płynów ustrojowych ulega tylko monomer. Ze środowiska zewnątrzkomórkowego inhibitor ten oraz jego kompleksy z peptydazami są pobierane przez komórki za pośrednictwem endocytozy i degradowane w lizosomach. Tylko monomer cysC jest zdolny do hamowania aktywności peptydaz cysteinowych. Dimeryzacja, a następnie oligomeryzacja cysC w płynach ustrojowych, uważana jest za zjawisko patologiczne i może prowadzić do powstawania złogów amyloidowych. Zjawisko to spowodowane jest destabilizacją białka w wyniku mutacji punktowej (substytucja Leu na Gln w pozycji 68) i odpowiada za występowanie dziedzicznej angiopatii amyloidowej typu islandzkiego. Choroba ta charakteryzuje się występowaniem powtarzających się masywnych krwotoków do mózgu [19,30,36].

ROLA FIZJOLOGICZNA I UDZIAŁ W PATOMECHANIZMIE CHOROÓB

Do głównych funkcji cystatyn należą: bezpośrednie hamowania zarówno endogennych, jak i egzogennych (bakteryjnych, wirusowych) peptydaz cysteinowych, modulacja systemu odpornościowego, działanie przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwwgrzybiczne - niezwiązane z inhibicją peptydaz oraz udział w odpowiedzi organizmu na uszkodzenie mózgu.

Hamowanie aktywności proteaz cysteinowych jest mechanizmem obronnym, chroniącym organizm przed ich niekontrolowanym działaniem np. w przypadku uszkodzenia komórki. Cystatyna C należy do silnych inhibitorów papainopodobnych katepsyn cysteinowych: B, H, L i S, słabiej natomiast hamuje aktywności katepsyn K i M. Dzięki tym właściwościom reguluje pozakomórkową proteolizę. Istnieje fizjologiczny stan równowagi między peptydazami i ich inhibitorami, a jego zakłócenie może być przyczyną powstania stanów patologicznych. Na przykład stężenie cysC w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych koreluje ujemnie z rozwojem małych tętniaków aorty, co może dowodzić jej ochronnej roli w procesie naruszania integralności ścian naczyń. W przypadku reumatoidalnego zapalenia stawów wzrastają stężenia cysC i katepsyny B w miejscach destrukcji chrząstki i kości, natomiast *in vitro* stwierdzono zdolność do hamowania reabsorpcji kości przez ten inhibitor. Równowaga między peptydazami cysteinowymi i cystatynami jest również zaburzona w procesie przebudowy tkanki łącznej w zapaleniu płuc. Wzrost stężenia cysC w wydzielinie płucno-oskrzelowej obserwuje się także w rozedmie płuc [30].

Modulacja układu odpornościowego przez cysC związana jest m.in. z hamowaniem katepsyny S, stymulacją: syntezy tlenu azotu w makrofagach, czynnika TNF (czynnik martwicy nowotworu) oraz interleukiny 10. Wydzielanie cysC przez monocyty i makrofagi podlega regulacji przez lipopolisacharyd prozapalny i interferon gamma. Cystatyna C wydaje się też oddziaływać na neutrofile [19,30]. Poprzez syntezę czynnika TNF- α (tumor necrosis factor- α) i interleukiny 10 cysC może indukować nekrozę guzów nowotworowych, których stopień złośliwości jest uzależniony od aktywności katepsyn B i L. Aktywność i/lub stężenie cysC mogą być podwyższone w przypadku chorób nowotworowych. Wzrost ten koreluje m.in. z ryzykiem umieralności na raka odbytnicy. Obecność białek z rodziny cystatyn typu 2 odnotowano także w przerzutach do wątroby. Nazwano je CMAP (cystatin like metastasis – associated

Tabela 1. Stężenie cysC w płynach ustrojowych oraz stany patologiczne przebiegające z jego zmianami

Fizjologiczne średnie stężenia cysC w płynach ustrojowych (mg/l)	płyn nasienny – 51; płyn mózgowo-rdzeniowy – 5,8; mleko – 3,3; ślina – 1,8; surowica/osocze – 0,96; mocz – 0,095 [10]
Stany patologiczne związane ze wzrostem stężenia w surowicy/osoczu	choroby nerek, zakażenia, choroby nowotworowe (w okresie przerzutowania oraz chemioterapii), choroby tarczycy, leczenie kortykosteroidami, miażdżycza, zespół sercowo-nerkowy [4,19,25,26,30,36,37]
Stany patologiczne związane z obniżonym stężeniem	tętniaki aorty brzusznej (w osoczu) reumatoidalne zapalenie stawów (w płynie stawowym), choroba Alzheimera (w płynie mózgowo-rdzeniowym) [36,37]

protein). Ponadto wykazano zależność stężenia cysC w surowicy krwi/osoczu od nieswoistych markerów zapalenia (CRP, fibrynogen), co miałyby potwierdzać jej rolę modulującą procesy zapalne. Wyniki nie są jednak jednoznaczne [37]. Ostatnio zaobserwowano, że stężenie cysC nie rośnie u starszych osób po planowanych zabiegach operacyjnych, jeżeli przed zabiegami nie było wzrostu markerów zapalenia [12].

Jedną z wielu funkcji ochronnych cystatyny C, są właściwości przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe i przeciwpasożytnicze. Może być obroną przeciwko Gram-ujemnym bakteriom *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* czy *Klebsiella pneumoniae*. Białko to jest również skutecznym inhibitorem replikacji koronawirusów, które mogą powodować ostre zapalenie żołądka i jelit. Redukcja wzrostu drobnoustrojów może sprzyjać złagodzeniu objawów chorobowych [30,37].

Cystatyna C bierze udział w procesie odpowiedzi na uszkodzenie mózgu, jednak jej rola nie jest wystarczająco poznana. Syntetyzowana jest przez komórki glejowe w odpowiedzi na obecność złogów amyloidowych, co sugeruje, że może pełnić ochronną rolę w patogenezie choroby Alzheimera, jednak niektórzy badacze skłonni są do stwierdzenia, że jest ona raczej mediatorem uszkodzenia w przebiegu tego schorzenia [30,37].

System regulacji aktywności katepsyn poprzez cystatyny odgrywa ważną rolę u kobiet z powtarzającymi się poronieniami. U nich wykryto wyższe stężenia katepsyn i cystatyn w trofoblaste łożyska lub błonie doczesnej, co stwarza możliwość wczesnego wykrywania zagrożonej ciąży [37].

METABOLIZM I STĘŻENIE W PŁYNACH USTROJOWYCH

W metabolizmie cysC główną rolę odgrywają nerki. Ze względu na małą masę cząsteczkową i dodatni ładunek w fizjologicznym pH, jest ona swobodnie przesączana przez filtr kłębuszkowy, podobnie jak inne białka niskocząsteczkowe. Następnie jest wchłaniana przez komórki rąbka szczoteczki kanalików proksymalnych w procesie endocytozy z udziałem wieloligandowego receptora zmiatającego – megaliny [23]. W komórkach kanalików proksymalnych ulega prawie całkowitej degradacji (>99% przefiltrowanej ilości) z udziałem enzymów lizosomalnych. W konsekwencji do krążenia powracają wolne aminokwasy. Niewielka ilość cysC, która nie została zmetabolizowana w nefronach trafia do moczu [19]. Dlatego też prawidłowe

moczowe stężenie cysC jest bardzo niskie, w przedziale 0,03–0,3 mg/l. Natomiast w surowicy krwi/osoczu stężenie jest około 10 razy wyższe. Prawidłowe stężenia cysC w różnych płynach ustrojowych oraz stany chorobowe przebiegające z jego zmianami przedstawia tabela 1.

METODY POMIARU CYS C W MOCZU I WARUNKI PRZECHOWYWANIA PRÓBEK

W początkowym okresie badań do oznaczania stężenia cysC posługiwano się metodą immunodufuzji radialnej, która nie nadaje się do rutynowego stosowania. Opracowanie metody immunoenzymatycznej – ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) z wykorzystaniem króliczych przeciwciał skierowanych przeciwko ludzkiej cysC, nadającej się do oznaczania stężenia cysC w moczu, pozwoliło na stwierdzenie, że stosunek cysC/kreatynina w moczu może być markerem dysfunkcji kanalików nerkowych. Czulość tej metody to 0,05 mg/l, liniowość 0,05–0,7 mg/l, błąd w oznaczeniach wewnątrzseryjnych wynosił 4,1–7,1% zaś w oznaczeniach międzyseryjnych 4,5–7,9%, odtwarzalność mieściła się między 94 a 102%. Jako kalibratora używano ludzkiej rekombinowanej cysC. Autorzy stwierdzili ponadto dobrą stabilność cysC w moczu oraz brak zależności od masy mięśniowej i wieku (5–18 lat). Po tygodniu przechowywania próbek moczu o pH w zakresie 5,0–7,0 w temperaturze pokojowej, odnotowano spadek stężenia o 5,3–13,3%. Stężenie cysC w moczu zmierzone tą metodą u zdrowych dorosłych osób (n=1670) wynosiło 0,051±0,025 mg/l [40].

W latach 1994–1997 opracowano dwie w pełni zautomatyzowane i szybkie metody immunologiczne, turbidymetryczną – PETIA (particle enhanced immunoturbidimetric assay) i nefelometryczną – PENIA (particle enhanced nephelometric immunoassay). Obecnie do pomiaru stężenia cysC w moczu (w celu oceny przydatności diagnostycznej) stosuje się głównie metodę PENIA, zaprojektowaną pierwotnie do oznaczeń w surowicy. Czulość testu zwiększono przez zmniejszenie rozcieńczenia próbek. Przydatność tej metody do oznaczeń w moczu zasugerowali Hergeth-Rosenthal i wsp. [16] w 2004 r. Metoda pozwala na wykrycie cysC w stężeniu 0,05–10,47 mg/l, błąd dla oznaczeń wewnątrzseryjnych wynosił ≤4,8%, a dla oznaczeń międzyseryjnych ≤5,2%. Do kalibracji i kontroli użyto, podobnie jak do pomiarów w surowicy, inhibitora wyizolowanego z moczu i próbek moczu ludzi zdrowych (n=133) oraz chorych z przewlekłymi chorobami nerek (n=29) lub ostrym uszkodzeniem kanalików nerkowych (n=73). Stężenie cysC

w grupie kontrolnej mieściło się w przedziale 0,02–0,15 mg/l, w grupie pacjentów z uszkodzeniem kłębuszków nerkowych 0,01–0,48 mg/l, natomiast w grupie z uszkodzeniem kanalików nerkowych było znacznie wyższe, w zakresie 0,25–18,00 mg/l.

Metodą PENIA zbadano także wpływ temperatury i czasu przechowywania na stabilność cysC. Przechowywanie próbek moczu o pH ≥ 5 , w temperaturze 4°C lub –20°C przez 7 dni oraz w temperaturze 20°C przez 2 dni nie ma znaczącego wpływu na to stężenie. Natomiast w 20°C próbki moczu można przechowywać przez 48 godz. Na oznaczane stężenie nie ma większego wpływu 3-krotny cykl zamrażania i rozmrażania, a same próbki moczu nie wymagają dodatku buforu stabilizującego. Wysokie stężenie albumin (≥ 160 g/l), bilirubiny (≥ 500 $\mu\text{mol/l}$) czy hemoglobiny (≥ 210 $\mu\text{mol/l}$) w moczu również nie wpływają na wynik pomiaru. Nie zaobserwowano absorpcji do materiałów polimerowych [17], co potwierdziły także późniejsze, rozszerzone badania przeprowadzone metodą ELISA [11].

Opracowana została również metoda HPLC – wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Czas wykonania analizy to 14 min na próbkę. Krzywa kalibracyjna jest liniowa w zakresie 1–390 mg/l. Metodą tą oceniano również stabilność cysC w próbkach moczu od zdrowych osób. Cystatyna C była stabilna po przechowywaniu przez 3 dni w temperaturze pokojowej (25°C), w lodówce (2–8°C) i zamrażarce (od –10 do –20°C). Trzykrotny cykl zamrażania i rozmrażania próbek obniżył jej stabilność do jednego dnia, co autorzy przypisali denaturacji białka [2].

DIAGNOSTYCZNE WYKORZYSTANIE POMIARU CYS C W MOCZU

Zaburzenie funkcji kanalików proksymalnych wpływa na reabsorpcję cysC i zwiększa jej wydalanie z moczem. W takich sytuacjach jej stężenie może się zwiększyć nawet 200 razy. Dlatego białko to może być użyte jako czuły marker uszkodzenia kanalików proksymalnych. Ponadto możliwość łatwego i nieinwazyjnego pobierania moczu oraz jego szeroka dostępność jako materiału diagnostycznego jest dodatkowym argumentem uzasadniającym wykorzystanie markerów moczowych do wykrywania procesów patologicznych zachodzących w nerkach. Dodatkową zaletą jest możliwość pomiaru stężenia cysC w przygodnej próbce moczu i ominięcie trudności związanych z jego poprawną dobową zbiórką (osoby starsze, małe dzieci). Wynika to z braku rytmu wydzielania dobowego [7]. Ważne jest wyeliminowanie długiego czasu oczekiwania na wynik, co jest bardzo istotne dla pacjentów w ciężkim stanie klinicznym, w których interwencja medyczna powinna być natychmiastowa już na etapie izby przyjęć. Zaobserwowano jednak wpływ masywnej proteinurii na stężenie cysC w moczu u dzieci [39] oraz wzrost wydzielania cysC do moczu u szczerów doświadczalnych po dożylnym podaniu albuminy [31]. Conti i wsp. [5], uważają, że markery uszkodzenia kanalików nerkowych, w tym cysC, nie powinny być przedstawiane w stosunku do stężenia kreatyniny. Przegląd badań dotyczących znaczenia diagnostycznego oznaczania stężenia cysC w moczu przedstawia tabela 2.

W pierwszych latach badań (2004–2010) oceniano użyteczność stosunku cysC/kreatynina w moczu do oszacowania

GFR bez potrzeby pobierania krwi oraz do wykrycia uszkodzenia kanalików nerkowych. W następnych latach (od 2010) badania w dużej mierze dotyczyły ostrego uszkodzenia nerek, AKI (acute kidney injury), które może być spowodowane wieloma czynnikami m.in.: lekami nefrotoksycznymi (aminoglikozydami, środkami kontrastowymi do badania obrazowego, lekami moczopędnymi), zapaleniem kłębuszków nerkowych czy transplantacją nerek, przewlekłymi chorobami nerek, sepsą, rabdomiolizą, marskością wątroby, zespołem sercowo-nerkowym [3,4,6,27,41]. Oznaczenie cysC w moczu spełnia rolę markera w testowaniu nefrotoksycznego działania nowych leków już w badaniach przedklinicznych z udziałem zwierząt doświadczalnych [8,38]. Umożliwia także monitorowanie leczenia (np. tenofowirem) ludzi chorych na AIDS (tabela 2). Ostre uszkodzenie kanalików nerkowych łączy się z wysoką śmiertelnością. Aby poprawić efektywność leczenia AKI poszukuje się wczesnych biomarkerów pozwalających na jego wykrycie, określenie stopnia zaawansowania i prognozowania przebiegu. Oznaczenie cysC oraz innych białek niskocząsteczkowych, enzymów, interleukin ma nie tylko wartość diagnostyczną, ale może również służyć do oceny zapotrzebowania na nerkową terapię zastępczą (renal replacement therapy – RRT) u pacjentów z AKI, wywołanym np. sepsą, transplantacją (odrzućenie przeszczepu, ocena funkcji przeszczepionej nerki), operacjami kardiologicznymi, lekami. Wobec uzyskiwania rozbieżnych wyników (tabela 2) proponuje się pomiar nie tylko cysC, ale kombinację kilku biomarkerów, co daje więcej informacji o stanie nerek i jest pomocne przede wszystkim w izbie przyjęć oddziałów intensywnej terapii i chirurgii inwazyjnej.

PODSUMOWANIE

1. Zaletą cysC jako moczowego biomarkera jest:
 - duża stabilność w warunkach rutynowego przechowywania próbek moczu,
 - możliwość oznaczania w przygodnej, pojedynczej próbce moczu,
 - brak zależności od masy mięśniowej i wieku (dorośli),
 - możliwość oznaczania za pomocą zautomatyzowanych metod, dających szybkie i precyzyjne wyniki.
2. Stosunek moczowego stężenia cysC/kreatynina pozwala na określenie GFR bez potrzeby pobierania krwi u dzieci i ludzi dorosłych.
3. Znajomość stężenia cysC w moczu jest wskaźnikiem uszkodzenia kanalików nerkowych i pozwala na różnicowanie glomerulopatii od tubulopatii.
4. Wzrost stężenia cysC w moczu u chorych na cukrzycę typu 2 wyprzedza albuminurię.
5. Oznaczanie cysC w moczu jest użyteczne w określeniu nefrotoksyczności leków w badaniach przedklinicznych i klinicznych.
6. U pacjentów z AKI badana jest użyteczność pomiaru stężenia cysC w moczu do prognozowania rozwoju uszkodzenia, co jest pomocne w opracowaniu strategii leczenia oraz prognozowaniu potrzeby terapii nerkozastępczej i umieralności.
7. Oznaczanie cysC w moczu powinno być włączone do badań laboratoryjnych izby przyjęć oddziałów intensywnej opieki medycznej i chirurgii inwazyjnej.

Tabela 2. Przegląd badań dotyczących diagnostycznego znaczenia pomiaru stężenia cysC w moczu

Badane parametry, pacjenci (liczebność)	Wnioski [Piśmiennictwo]
Oznaczano stężenie cysC w surowicy krwi i moczu dzieci (40 chłopców i 42 dziewczynki)	Stosunek moczowego stężenia cysC/kreatynina pozwala na identyfikację chorych z GRF ≤ 60 ml/min / $1,73$ m ² z czułością 90,0%. Dla określenia GFR nie potrzeba surowicy [15]
Badano użyteczność białek niskocząsteczkowych (α_1 - i β_2 -mikroglobuliny, cysC, białka wiążącego retinol) oraz enzymów (α -GST, GGT, LDH, NAG) do prognozowania potrzeby dializy u chorych bez skąpomoczu (73)	CysC i α_1 -mikroglobulina cechowały się najwyższą czułością diagnostyczną do prognozowania potrzeby nerkowej terapii zastępczej. Pole pod krzywą ROC wynosiło odpowiednio: 0,92 i 0,86 [16]
Porównano stężenie cysC w moczu pacjentów z dysfunkcją kanalików nerkowych (52) oraz kłębuszków nerkowych (47) a grupą kontrolną (60)	Stężenie cysC w moczu pozwala na wykrycie dysfunkcji kanalików w grupie pacjentów z nefropatią mieszaną i pierwotną tubulopatią. Oznaczenie powinno wchodzić w zestaw badań laboratoryjnych szpitalnej izby przyjęć [6]
Badano przydatność diagnostyczną stosunku moczowego stężenia cysC/kreatynina $\geq 11,3$ mg/mmol do identyfikacji pacjentów z różnym stopniem uszkodzenia nerek (dzieci 17, dorośli 56)	Stosunek moczowego stężenia cysC/kreatynina $\geq 11,3$ mg/mmol nie ma większej wartości diagnostycznej w identyfikacji chorych z obniżonym przesączaniem kłębuszkowym (≤ 60 mg/mmol/ $1,73$ m ²) w stosunku do GFR obliczonego ze wzorów na podstawie stężenia kreatyniny lub cysC. Pole pod krzywą ROC wynosi odpowiednio 0,59 i 0,57. Badany stosunek odzwierciedla dysfunkcję kanalików nerkowych i proteinurię [18]
Oznaczano stężenie cysC w surowicy i moczu dzieci z zapaleniem miedniczek nerkowych (28)	Ani stężenie cysC w surowicy ani w moczu nie różnicuje pacjentów z jednostronnym bliznowaceniem po zapaleniu miedniczek nerkowych. Stosunek cysC/kreatynina w moczu koreluje z funkcją kanalików nerkowych [20]
Oznaczano stężenie cysC w moczu pacjentów z glomerulopatiami (36) i dysfunkcją kanalików (31) oraz u osób zdrowych (31). Podziału na grupy dokonano na podstawie stężenia kreatyniny i białka w moczu oraz elektroforetycznego rozdziału białek moczu	Stężenie cysC w przygodnej próbce moczu jest użyteczne w identyfikacji tubulopatii, szczególnie w izbie przyjęć. Zaletą jest brak zmian dobowych stężenia [29]
Oceniano ujemną wartość predykcyjną stosunku moczowego stężenia cysC/kreatynina do wystąpienia syndromu Fanconiego po leczeniu tenovirem (37)	Stosunek cysC/kreatynina w moczu pozwala na wykluczenie (w większości przypadków) syndromu Fanconiego i powinien być elementem monitorowania i bezpieczeństwa terapii tenovirem [21]
Określano stosunek moczowego stężenia cysC/kreatynina u chorych hemodializowanych (15)	Stosunek stężenia cysC/kreatynina w moczu w przygodnej próbce moczu pozwala na oszacowanie GFR u chorych hemodializowanych ze schyłkową niewydolnością nerek bez potrzeby pobierania krwi [1]
Badano użyteczność oznaczania cysC w moczu jako biomarkera ostrego uszkodzenia nerek, sepsy i predykatora śmiertelności u chorych w stanie krytycznym (444)	Stężenie cysC w moczu jest czynnikiem niezależnie korelującym z ostrym uszkodzeniem nerek, sepsą i śmiertelnością w ciągu 30 dni od przyjęcia do szpitala. Pole pod krzywą ROC wynosiło odpowiednio: 0,70, 0,80 i 0,64 [32]
Porównywano użyteczność biomarkerów moczowych do wczesnego wykrywania ostrego uszkodzenia nerek u chorych (123) po operacjach kardiologicznych	Stężenie moczowe cysC oznaczone u chorych w izbie przyjęć najlepiej przepowiada AKI 1 stopnia (AUC=0,7). NGAL oznaczone po 6 godz. przepowiada AKI 3 stopnia (AUC=0,88) zaś π -GST progresję do stopnia 3 (AUC=0,86) [24]
Porównywano użyteczność pomiaru biomarkerów uszkodzenia kanalików nerkowych (NGAL, α_1 -mikroglobuliny i cysC) u pacjentów po operacjach pomostowania (50)	Wzrost stężenia po operacji w stosunku do tego przed operacją zaobserwowano dla wszystkich badanych markerów, jednakże jedynie stężenie NGAL w moczu identyfikowało chorych z ostrym uszkodzeniem nerek (stopień 1, 2 i 3) po operacjach kardiologicznych [14]
Oznaczano stosunek cysC/kreatynina w moczu u osób z otyłością i zespołem metabolicznym (343)	Stężenie cysC w moczu jest biomarkerem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, przewlekłych chorób nerek i śmiertelności u osób z zespołem metabolicznym i otyłością. Redukcja masy poprzez dietę i aktywność fizyczną normalizuje badany stosunek w ciągu 3 miesięcy [35]

Tabela 2 c.d. Przegląd badań dotyczących diagnostycznego znaczenia pomiaru stężenia cysC w moczu

Badane parametry, pacjenci (liczebność)	Wnioski [Piśmiennictwo]
Analizowano stężenie cyst C mierzone przez 2 dni (0, 6 i 24 godz.) po przeszczepie (91) w celu wykrycia opóźnionego w czasie (3 miesiące) odrzucenia przeszczepu	Stężenie cysC po 1 dniu od przeszczepu koreluje miernie z wydolnością przeszczepionej nerki w ciągu następnych 3 miesięcy (dla stężenia cysC – n.i.s., dla stosunku cysC/kreatynina – $p=0,05$, dla procentu zmian cysC – $p=0,01$). Dla prognozowania odrzucenia przeszczepu AUC wyniosło, odpowiednio: dla cysC po 6 godz. 0,69, dla stosunku cysC/kreatynina 0,74, zaś dla procentu zmian stężenia CysC 0,60. Autorzy proponują pomiar zestawu biomarkerów a nie tylko cysC [13]
Badano użyteczność diagnostyczną moczowych biomarkerów GGT, AP, NGAL, cysC, KIM-1, IL-18) do wykrycia ostrego uszkodzenia nerek, potrzeby dializy lub prognozowania zgonu u chorych w stanie krytycznym (529) w izbie przyjęć	W badaniach w izbie przyjęć żaden z biomarkerów nie cechował się wartością AUC powyżej 0,7 do prognozowania ostrego uszkodzenia nerek. Potrzebę dializy przepowiadały: NGAL, cysC i IL-18 (AUC powyżej 0,7). Wszystkie badane markery z wyłączeniem KIM-1 zapowiadały zgon w ciągu 7 dni. Dodatnia wartość predykcyjna badanych parametrów była wyższa po uwzględnieniu eGFR i/lub wieku [9]
Oznaczenie stężenia cysC w surowicy krwi i moczu chorych (151) w dniu przyjęcia na oddział intensywnej terapii oraz w 2 dniu pobytu	Analiza krzywych ROC wykazała, że zarówno stężenie cysC w osoczu jak i moczu nie mają dodatnich wartości predykcyjnych do wystąpienia ostrego odrzucenia przeszczepu czy potrzeby nerkowej terapii zastępczej [34]
Badano związek stosunku stężenia cysC osocze/mocz z albuminurią u chorych na cukrzycę typu 2 (332)	Zarówno stężenie cysC w osoczu jak i moczu są użytecznymi markerami wczesnej dysfunkcji nerek u pacjentów z cukrzycą typu 2 z normoalbuminurią [22]

AKI – ostre uszkodzenie nerek, AP – fosfataza zasadowa, AUC – pole powierzchni pod krzywą ROC, cysC – cystatyna C, eGFR – szacunkowa wielkość filtracji kłębuszkowej, GGT – gamma-glutamylotransferaza, α -GST, π -GST – α -, π -transferaza glutationowa, IL-18 – interleukina 18, KIM-1 – cząsteczka-1 uszkodzenia nerek, LDH – dehydrogenaza mleczanowa, NAG – N-acetylo-beta-D-glukozaaminidaza, NGAL – lipokalina neutrofilowa połączona z żelatynazą, n.i.s. – nieistotne statystycznie, ROC – receiver operating characteristic

PIŚMIENICTWO

- Adachi Y., Nishio A.: A simple method to evaluate residual renal function by spot urinary cystatin C-to-creatinine ratio in peritoneal dialysis patients. *Perit. Dial. Int.*, 2010; 30: 464–467
- Al-Musaimi O.I., Fayyad M.K., Mishal A.K.: Novel liquid chromatographic determination of cystatin C in human urine. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2009; 877: 747–750
- Bagshaw S.M., Langenberg C., Haase M., Wan L., May C.N., Bellomo R.: Urinary biomarkers in septic acute kidney injury. *Intensive Care Med.*, 2007; 33: 1285–1296
- Connick M., Ishani A.: Renal biomarkers of kidney injury in cardiovascular syndrome. *Curr. Heart Fail. Rep.*, 2011; 8: 99–105
- Conti M., Moutereau S., Esmilaire L., Desbene C., Lallali K., Devanlay M., Durrbach A., Manivet P., Eschwege P., Loric S.: Should kidney tubular markers be adjusted for urine creatinine? The example of urinary cystatin C. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2009; 47: 1553–1556
- Conti M., Moutereau S., Zater M., Lallali K., Durrbach A., Manivet P., Eschwege P., Loric S.: Urinary cystatin C as a specific marker of tubular dysfunction. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2006; 44: 288–291
- Conti M., Zater M., Lallali K., Durrbach A., Moutereau S., Manivet P., Eschwege P., Loric S.: Absence of circadian variations in urine cystatin C allows its use on urinary samples. *Clin. Chem.*, 2005; 51: 272–273
- Dieterle F., Perentes E., Cordier A., Roth D.R., Verdes P., Grenet O., Pantano S., Moulin P., Wahl D., Mahl A., End P., Staedtler F., Legay F., Carc K., Laurie D., Chibout S.D., Vonderscher J., Maurer G.: Urinary clusterin, cystatin C, β_2 -microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury. *Nat. Biotechnol.*, 2010; 28: 463–469
- Endre Z.H., Pickering J.W., Walker R.J., Devarajan P., Edelstein C.L., Bonventre J.V., Frampton C.M., Bennett M.R., Ma Q., Sabbiseti V.S., Vaidya V.S., Walcher A.M., Shaw G.M., Henderson S.J., Nejat M., Schollum J.B., George P.M.: Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function. *Kidney Int.*, 2011; 79: 1119–1130
- Filler G., Bökenkamp A., Hofmann W., Le Bricon T., Martinez-Brú C., Grubb A.: Cystatin C as a marker of GFR – history, indications, and future research. *Clin. Biochem.*, 2005; 38: 1–8
- Gotoh A., Uchida K., Hamano Y., Mashiba S., Kawabata I., Itoh Y.: Evaluation of adsorption of urine cystatin C to the polymer materials on the microplate by an antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Chim. Acta*, 2008; 397: 13–17
- Grubb A., Björk J., Nyman U., Pollak J., Bengzon J., Ostner G., Lindström V.: Cystatin C, a marker for successful aging and glomerular filtration rate, is not influenced by inflammation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2011; 71: 145–149
- Hall I.E., Koyner J.L., Doshi M.D., Marcus R.J., Parikh C.R.: Urine cystatin C as a biomarker of proximal tubular function immediately after kidney transplantation. *Am. J. Nephrol.*, 2011; 33: 407–413
- Heise D., Rentsch K., Brauer A., Friedrich M., Quintel M.: Comparison of urinary neutrophil glucosaminidase-associated lipocalin, cystatin C, and α_1 -microglobulin for early detection of acute renal injury after cardiac surgery. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.*, 2011; 39: 38–43
- Hellerstein S., Berenborn M., Erwin P., Wilson N., DiMaggio S.: The ratio of urinary cystatin C to urinary creatinine for detecting decreased GFR. *Pediatr. Nephrol.*, 2004; 19: 521–525
- Hergert-Rosenthal S., Feldkamp T., Volbracht L., Kribben A.: Measurement of urinary cystatin C by particle-enhanced nephelometric immunoassay: precision, interferences, stability and reference range. *Ann. Clin. Biochem.*, 2004; 41: 111–118
- Hergert-Rosenthal S., Poppen D., Hüsing J., Marggraf G., Pietruck F., Jakob H.G., Philipp T., Kribben A.: Prognostic value of tubular proteinuria and enzymuria in nonoliguric acute tubular necrosis. *Clin. Chem.*, 2004; 50: 552–558
- Hergert-Rosenthal S., van Wijk J.A., Bröcker-Preuss M., Bökenkamp A.: Increased urinary cystatin C reflects structural and functional renal tubular impairment independent of glomerular filtration rate. *Clin. Biochem.*, 2007; 40: 946–951
- Imiela J., Lewandowicz A.: Cystatyna C w diagnostyce przewlekłej choroby nerek. *Nefrol. Dial. Pol.*, 2007; 11: 126–132
- Islekel H., Soylu A., Altun Z., Yis U., Turkmen M., Kavukcu S.: Serum and urine cystatin C levels in children with post-pyelonephritic renal scarring: a pilot study. *Int. Urol. Nephrol.*, 2007; 39: 1241–1250

- [21] Jaafar A., Séronie-Vivien S., Malard L., Massip P., Chatelut E., Tack L.: Urinary cystatin C can improve the renal safety follow-up of tenofovir-treated patients. *AIDS*, 2009; 23: 257–259
- [22] Jeon Y.K., Kim M.R., Huh J.E., Mok J.Y., Song S.H., Kim S.S., Kim B.H., Lee S.H., Kim Y.K., Kim I.J.: Cystatin C as an early biomarker of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *J. Korean Med. Sci.*, 2011; 26: 258–263
- [23] Kaseda R., Iino N., Hosojima M., Takeda T., Hosaka K., Kobayashi A., Yamamoto K., Suzuki A., Kasai A., Suzuki Y., Gejyo F., Saito A.: Megalin-mediated endocytosis of cystatin C in proximal tubule cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007; 357: 1130–1134
- [24] Koyner J.L., Vaidya V.S., Bennett M.R., Ma Q., Worcester E., Akhter S.A., Raman J., Jeevanandam V., O'Connor M.F., Devarajan P., Bonventre J.V., Murray P.T.: Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection of acute kidney injury. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2010; 5: 2154–2165
- [25] Lafarge J.C., Naour N., Clément K., Guerre-Millo M.: Cathepsins and cystatin C in atherosclerosis and obesity. *Biochimie*, 2010; 92: 1580–1586
- [26] Lassus J., Harjola V.P.: Cystatin C: a step forward in assessing kidney function and cardiovascular risk. *Heart Fail. Rev.*, 2011 (w druku)
- [27] Lisowska-Myjak B.: Laboratoryjne wskaźniki ostrego uszkodzenia nerek oznaczone w moczu i w surowicy. *Forum Nefrologiczne*, 2010; 3: 71–81
- [28] Merops the Peptidase Database. <http://merops.sanger.ac.uk> (26.05.2011)
- [29] Mijušković Z., Maksić D., Hrvačević R., Vučelić M., Subota V., Stojanović J., Pejović J.: Urinary cystatin C as a marker of tubular dysfunction. *J. Med. Biochem.*, 2007; 26: 98–102
- [30] Mussap M., Plebani M.: Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 2004; 41: 467–550
- [31] Nejat M., Hill J.V., Pickering J.W., Wilderstein C.L., Devarajan P., Endre Z.H.: Albuminuria increases cystatin C excretion: implications for urinary biomarkers. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2011 (w druku)
- [32] Nejat M., Pickering J.W., Walker R.J., Westhuyzen J., Shaw G.M., Frampton C.M., Endre Z.H.: Urinary cystatin C is diagnostic of acute kidney injury and sepsis, and predicts mortality in the intensive care unit. *Crit. Care*, 2010; 14: R85
- [33] Protein Data Bank. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structure?d=1G96> (26.05.2011)
- [34] Royackers A.A., Korevaar J.C., van Suijlen J.D., Hofstra L.S., Kuiper M.A., Spronk P.E., Schultz M.J., Bouman C.S.: Serum and urine cystatin C are poor biomarkers for acute kidney injury and renal replacement therapy. *Intensive Care Med.*, 2011; 37: 493–501
- [35] Satoh-Asahara N., Suganami T., Majima T., Kotani K., Kato Y., Araki R., Koyama K., Okajima T., Tanabe M., Oishi M., Himeno A., Kono S., Sugawara A., Hattori M., Ogawa Y., Shimatsu A., Japan Obesity and Metabolic Syndrome Study (JOMS) Group: Urinary cystatin C as a potential risk marker for cardiovascular disease and chronic kidney disease in patients with obesity and metabolic syndrome. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2011; 6: 265–273
- [36] Séronie-Vivien S., Delanaye P., Piéroni L., Mariat C., Froissart M., Cristol J.P.: Cystatin C: current position and future prospects. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2008; 46: 1664–1686
- [37] Shah A., Bano B.: Cystatins in health and diseases. *Int. J. Pept. Res. Ther.*, 2009; 15: 43–48
- [38] Tonomura Y., Tsuchiya N., Torii M., Uehara T.: Evaluation of the usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in rats. *Toxicology*, 2010; 273: 53–59
- [39] Tkaczyk M., Nowicki M., Lukamowicz J.: Increased cystatin C concentration in urine of nephrotic children. *Pediatr. Nephrol.*, 2004; 19: 1278–1280
- [40] Uchida K., Gotoh A.: Measurement of cystatin-C and creatinine in urine. *Clin. Chim. Acta*, 2002; 323: 121–128
- [41] Vaidya V.S., Waikar S.S., Ferguson M.A., Collings F.B., Sunderland K., Gioules C., Bradwin G., Matsouaka R., Betensky R.A., Curhan G.C., Bonventre J.V.: Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin. Transl. Sci.*, 2008; 1: 200–208
- [42] Westhuyzen J.: Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2006; 36: 387–394

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.