

**POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
W SZCZECINIE**



mgr Karolina Rogulska

**WYBRANE BIOMARKERY DIAGNOSTYCZNE
U PACJENTÓW PO PRZESZCZEPIE
ALLOGENICZNYM NERKI**

**SELECTED DIAGNOSTIC BIOMARKERS
IN PATIENTS AFTER ALLOGENEIC KIDNEY TRANSPLANTATION**

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu

Dyscyplina nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. n. med. Danuta Kosik-Bogacka

Promotor pomocniczy: dr hab. n. med. Iwona Wojciechowska-Koszko

Szczecin 2023 r.

Podziękowania

*Składam serdeczne podziękowania dla Promotora mojej pracy
Pani prof. dr hab. n. med. Danuty Kosik-Bogackiej,
za niezwykłą cierpliwość, wyrozumiałość,
wiarę w moje możliwości
i okazane mi wskazówki na każdym etapie
powstawania niniejszej pracy*

*Promotora pomocniczego
Pani dr hab. n. med. Iwony Wojciechowskiej-Koszeko,
za wsparcie merytoryczne i praktyczne
podczas planowania doświadczeń,
oraz za motywację do jeszcze większej pracy*

***Pracowników Zakładu Diagnostyki Immunologicznej PUM**
oraz całej **Katedry Mikrobiologii, Immunologii i Medycyny Laboratoryjnej PUM,**
za okazaną pomoc i życzliwość*

*Pragnę podziękować również mojej **Rodzinie,**
bez Waszego wsparcia i poświęcenia
nie byłoby mnie w tym miejscu*

***Konradowi,**
za podtrzymywanie na duchu w chwilach zwątpienia
i olbrzymie wsparcie*

oraz wszystkim, bez których pomocy nie udałooby się osiągnąć tego sukcesu.

Wykaz skrótów

ACR (ang. *acute cellular rejection*) – ostre odrzucanie przeszczepu

ADCC (ang. *antibody-dependent cell cytotoxicity*) – cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał

AKI (ang. *acute kidney injury*) – ostre uszkodzenie nerek

AMR (ang. *antibody mediated rejection*) – odrzucanie zależne od przeciwciał

APC (ang. *antigen presenting cell*) – komórki prezentujące antygen

Apo J (ang. *apolipoprotein J*) – apolipoproteina J

BK – wirus BK

BSP-1 (ang. *bone sialoprotein-1*) – sialoproteina kostna 1

CDC (ang. *cross-match*) – próba krzyżowa

CKD (ang. *chronic kidney disease*) – przewlekła choroba nerek

CLU (ang. *clusterin*) – klusteryna

CMV – cytomegalowirus

Cr – kreatynina w surowicy;

Cys C (ang. *cystatin C*) – cystatyna C

DGF (ang. *delayed graft function*) – opóźniona funkcja przeszczepu

DSA (ang. *donor specific antibodies*) – alloprzeciwciała skierowane przeciwko antygenom dawcy

ECM (ang. *extracellular matrix*) – macierz zewnątrzkomórkowa

eGFR (ang. *estimated glomerular filtration rate*) – szacowany współczynnik filtracji kłębuszkowej

ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) – test immunoenzymatyczny fazy stałej

EMA (ang. *European Medicines Agency*) – Europejska Agencja Leków

ESRD (ang. *end-stage renal disease*) – schyłkowa niewydolność nerek

ETA-1 (ang. *early T lymphocyte activation protein 1*) – białko wczesnej aktywacji limfocytów T

FDA (ang. *Food and Drug Administration*) – Amerykański Urząd ds. Żywności i Leków

fDGF (ang. *functional delayed graft function*) – funkcjonalnie opóźniona funkcja przeszczepu

GFR (ang. *glomerular filtration rate*) – wskaźnik filtracji kłębuszkowej

GVHD (ang. *graft-versus-host disease*) – choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

HAVCR1 (ang. *Hepatitis A Virus Cellular Receptor 1*) – receptor wirusa zapalenia wątroby typu A

HLA (ang. *human leukocyte antigen*) – układ zgodności tkankowej

HRP – peroksydaza chrzanowa

IFN- γ – interferon- γ

IGF (ang. *immediate graft function*) – natychmiastowa funkcja przeszczepu

IL-18 – interleukina 18

inhibitor TIMP-1 (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases-1*) – tkankowy inhibitor metaloproteinaz-1

IP-10 (ang. *IFN-gamma-inducible protein 10*) – białko-10 indukowane interferonem- γ

kDa – kilodalton

KIM-1 (ang. *kidney injury molecule 1*) – cząsteczka-1 uszkodzenia nerek

KIR (ang. *killer-cell immunoglobulin-like receptor*) – receptory KIR

MHC (ang. *major histocompatibility complex*) – główny układ zgodności tkankowej

MMP-9 (ang. *matrix metalloproteinase 9*) - metaloproteinaza 9

NDSA (ang. *non-donor specific antibody*) – alloprzeciwciała niewykazujące specyficzności przeciwko antygenom dawcy

NF- κ B (ang. *kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) – jądrowy czynnik transkrypcyjny

NGAL (ang. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) – lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów

NK (ang. *natural killers*) – komórki NK

OPN (ang. *osteopontin*) – osteopontyna

pKIM-1 – KIM-1 w osoczu

RBP-4 (ang. *retinol-binding protein 4*) – białko wiążące retinol 4

SGF (ang. *slow graft function*) – powolna funkcja przeszczepu

sKIM-1 – KIM-1 w surowicy

SLE (ang. *systemic lupus erythematosus*) – toczeń rumieniowaty układowy

sNGAL – NGAL w surowicy

SPP-1 (ang. *secreted phosphoprotein-1*) – wydzielana fosfoproteina 1

TCR (ang. *T-cell receptor*) – receptor limfocytów T

TFF3 (ang. *trefoil factor 3*) – jelitowy czynnik trefoilowy 3

Th (ang. *T-helper*) – limfocyty T pomocniczne

TMB – tetrametylobenzydyna

TTR (ang. *transthyretin*) – transtyretyna

uCr – kreatynina w moczu

uCXCL-10 – CXCL-10 w moczu

uKIM-1 – KIM-1 w moczu

u-KIM-1 – KIM-1 w moczu

uNGAL – NGAL w moczu

uRBP-4 – RBP-4 w moczu

Spis treści

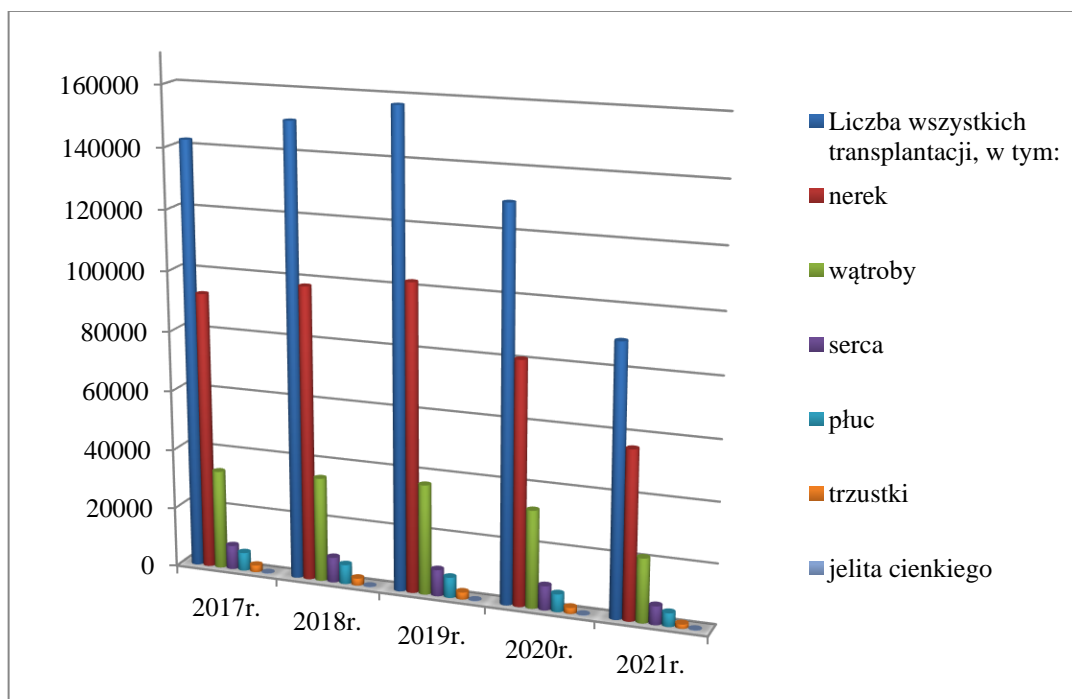
Wykaz skrótów	3
1. Wstęp	8
1.1. Mechanizm odrzucania przeszczepionej nerki i typy odrzutu	9
1.1.1. Nadostre odrzucanie przeszczepu nerki.....	12
1.1.2. Ostre i ostre przyspieszone odrzucanie przeszczepu nerki	12
1.1.3. Przewlekłe odrzucanie przeszczepu nerki	14
1.2. Biomarkery wykorzystywane po przeszczepie allogenicznym nerki	14
1.2.1. Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów (ang. <i>neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i> , NGAL).....	17
1.2.2. Cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (ang. <i>kidney injury molecule 1</i> , KIM-1).....	20
1.2.3. Chemokina 10 z motywem C-X-C (ang. <i>C-X-C motif chemokine ligand 10</i> , CXCL-10)	23
1.2.4. Osteopontyna (ang. <i>osteopontin</i> , OPN)	25
1.2.5. Cystatyna C (ang. <i>cystatin C</i> , Cys C)	27
1.2.6. Białko wiążące retinol 4 (ang. <i>retinol-binding protein 4</i> , RBP-4).....	29
1.2.7. Jelitowy czynnik trefoilowy 3 (ang. <i>trefoil factor 3</i> , TFF3).....	32
1.2.8. Klusteryna (ang. <i>clusterin</i> , CLU)	33
2. Hipotezy i cele badawcze	36
3. Materiał i metody	38
3.1. Charakterystyka grupy badanej	38
3.2. Charakterystyka materiału	41
3.3. Metody badawcze	41
3.3.1. Metoda xMap Luminex	41
3.3.2. Metoda ELISA.....	44
3.4. Analiza statystyczna	50
4. Wyniki	50
4.1. Wartości biomarkerów oznaczonych metodami ELISA i Luminex	50
4.2. Zmiany wartości stężeń biomarkerów w czasie u pacjentów po przeszczepie nerki.....	58
4.3. Analiza związków.....	71
4.3.1. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w surowicy metodą ELISA.....	71
4.3.2. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w moczu metodą ELISA.....	72
4.3.3. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w surowicy metodą Luminex..	80
4.3.4. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w moczu metodą Luminex	83
4.3.5. Analiza związków pomiędzy kreatyniną a biomarkerami	90
4.3.6. Analiza związków pomiędzy eGFR a biomarkerami	96

4.4. Porównanie wartości biomarkerów uzyskanych metodami ELISA i Luminex w grupie badanej	102
5. Dyskusja.....	112
5.1. NGAL jako biomarker uszkodzenia nerek	123
5.2. KIM-1 jako biomarker uszkodzenia nerek	126
5.3. CXCL-10 jako biomarker uszkodzenia nerek.....	127
5.4. OPN jako biomarker uszkodzenia nerek.....	130
5.5. Cys C jako biomarker uszkodzenia nerek.....	131
5.6. RBP-4 jako biomarker uszkodzenia nerek.....	133
5.7. TFF3 jako biomarker uszkodzenia nerek.....	135
5.8. CLU jako biomarker uszkodzenia nerek.....	136
6. Podsumowanie i wnioski	138
Piśmiennictwo.....	139
Wykaz tabel	167
Wykaz rycin.....	172
Streszczenie.....	174
Summary.....	176
Załączniki.....	178
Załącznik nr 1.....	179
Załącznik nr 2.....	197
Załącznik nr 3.....	205

1. Wstęp

Transplantologia kliniczna jest dziedziną medycyny stale rozwijającą się (Nankinvell i wsp. 2010). Rozwój technik chirurgicznych oraz wprowadzenie zmian w terapii immunosupresyjnej pozwoliło na skuteczne przeszczepianie narządów i tkanek (Starzl 2000). Obecnie oprócz rutynowo wykonywanych przeszczepów organów podejmowane są próby eksperymentalnych przeszczepień głowy oraz twarzy (Devauchelle i wsp. 2006; Canavero 2013).

Przeszczepianie nerek w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat stało się standardową praktyką kliniczną (Garcia i wsp. 2012). Ma to istotny wpływ na zmniejszenie śmiertelności i poprawę jakości życia pacjentów w związku z brakiem konieczności stosowania hemodializy lub dializy otrzewnowej (Adegunsoye i wsp.2017). Z roku na rok, z wyjątkiem czasu pandemii Covid-19 zwiększa się liczba wykonywanych zabiegów transplantologicznych w skali globalnej, w tym przeszczepiania nerek (Ryc. 1). Jednak dużym problemem jest odrzucanie przeszczepionych narządów i tkanek. Do tej pory nie poznano dokładnie mechanizmów pozwalających na długoletnie utrzymanie funkcjonalne przeszczepionej nerki.



Ryc. 1. Zestawienie liczby wykonywanych zabiegów transplantacyjnych na świecie w latach 2017-2021 na podstawie WHO-ONT Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT)

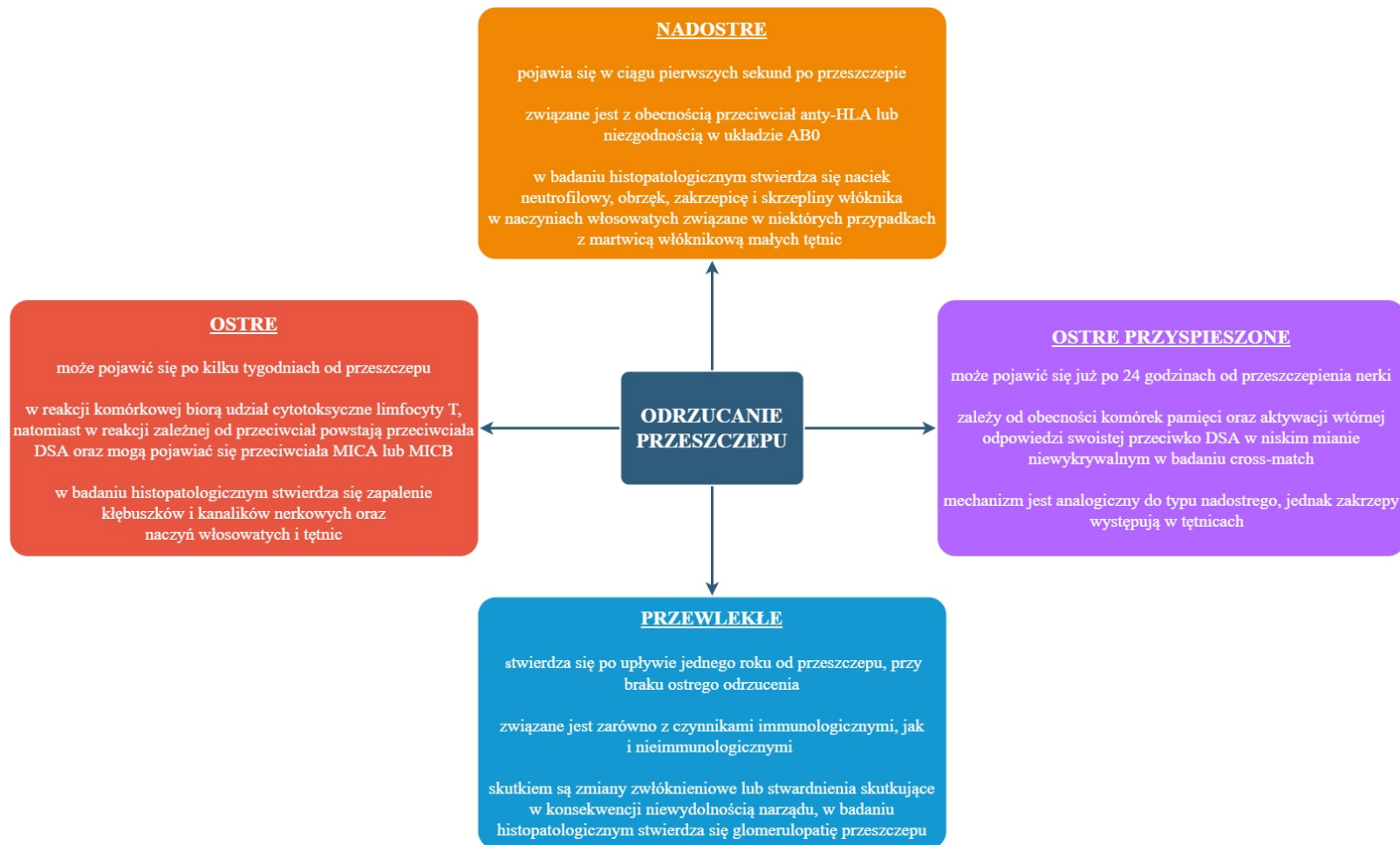
1.1. Mechanizm odrzucania przeszczepionej nerki i typy odrzutu

Przeszczep allogeniczny nerki wzbudza odpowiedź immunologiczną (Corrêa i wsp. 2013). Jest to spowodowane różnicami genetycznymi występującymi między biorcą a dawcą w układzie zgodności tkankowej HLA (ang. *human leukocyte antigen*). W organizmie biorcy odrzucanie przeszczepu związane jest w początkowym etapie z odpowiedzią nieswoistą, w której udział biorą układ dopełniacza, makrofagi oraz komórki NK. Ich działanie opiera się na reakcji w odpowiedzi na kontakt z elementami komórek ulegających rozpadowi, reaktywnymi formami tlenu oraz produktami metabolizmu. W swoistej odpowiedzi immunologicznej główną rolę pełnią przede wszystkim limfocyty T (Gołąb i wsp. 2017). Komórki prezentujące antygen (ang. *antigen presenting cell*, APC), głównie komórki dendrytyczne, indukują odpowiedź immunologiczną w odpowiedzi na antygeny znajdujące się na powierzchni komórek przeszczepionych narządów lub tkanek. Mają one zdolność do prezentowania antygenów poprzez główny układ zgodności tkankowej (ang. *major histocompatibility complex*, MHC) klasy I i II, tworząc kompleksy z receptorami limfocytów T (ang. *T-cell receptor*, TCR) co powoduje aktywację swoistych limfocytów T pomocniczych i cytotoksycznych (Alberts 2002). Prezentacja bezpośrednia odbywa się w obwodowych narządach limfatycznych, w których znajdują się antygeny pochodzące z przeszczepionego narządu. Dotyczy to przede wszystkim wczesnej fazy po przeszczepie, kiedy w narządzie znajdują się głównie APC dawcy, które prezentują antygeny dawcy limfocytom biorcy. Po kilku tygodniach APC dawcy są zastępowane przez APC biorcy, co powoduje stopniowe wygaszanie odpowiedzi immunologicznej (Game i Lechler 2002). Prezentacja pośrednia występuje wtedy, gdy alloantygeny pochodzące od dawcy są prezentowane przez APC biorcy. Komórki APC mogą znajdować się w obrębie przeszczepu, a następnie przemieszczać się do narządów limfatycznych lub prezentować antygeny wywodzące się z przeszczepionego narządu (Vella i wsp. 1997; Bharat i wsp. 2007). Uważa się, że prezentacja bezpośrednia leży u podstaw ostrego odrzucania narządów, natomiast prezentacja pośrednia odpowiada za przewlekłe odrzucanie (Ingulli 2010).

Pobudzenie limfocytów T pomocniczych (ang. *T-helper*, Th) stymuluje limfocyty B (limfocyty szpikozależne) do produkcji swoistych przeciwciał. Alloprzeciwciała mogą być skierowane przeciwko antygenom dawcy (ang. *donor specific antibodies*, DSA) lub nie wykazywać specyficzności przeciwko dawcy (ang.

non-donor specific antibody, NDSA). W organizmie biorcy przeciwciała stwierdzone są w czasie transplantacji lub powstają *de novo* po przeszczepieniu i są skierowane przeciwko antygenom HLA i nie-HLA, zarówno dawcy, jak i NDSA (Valenzuela i Reed 2013). Przeciwciała HLA w zależności od badanych populacji, czasu trwania transplantacji oraz czułości i swoistości stosowanych metod diagnostycznych stwierdzone są od 1 do 60% badanej populacji (Cao i wsp. 2020; Chan i wsp. 2015). Uważa się, że główną rolę przy odrzucaniu przeszczepu pełnią DSA powstałe *de novo* po transplantacji. Pojawianie się alloprzeciwciał wyprzedza zmiany morfologiczne i czynnościowe przeszczepionego narządu w związku z tym w celu uniknięcia odrzucania zależnego od przeciwciał (ang. *antibody mediated rejection*, AMR) wskazane jest monitorowanie DSA co trzy miesiące w ciągu roku po transplantacji, a następnie raz w roku (Morath i wsp. 2014).

Według przyjętych zasad, typy odrzucania graftu podzielone są w zależności od czasu w jakim pojawiła się niewydolność narządu. Wyróżnia się odrzucanie nadostre, ostre, ostre przyspieszone i przewlekłe (Becker i wsp. 2016) (Ryc. 2).



Ryc. 2. Typy odrzucania przeszczepu nerki

1.1.1. Nadostre odrzucanie przeszczepu nerki

Nadostre odrzucenie przeszczepu pojawia się w ciągu pierwszych sekund po przeszczepie. Związane jest z obecnością przeciwciał anti-HLA lub niezgodnością w układzie AB0 (Gołąb i wsp. 2017). Krążące przeciwciała biorcy rozpoznają antygeny występujące na powierzchni śródbłonna naczyń dawcy. Następnie dochodzi do tworzenia kompleksu antygen-przeciwciało aktywującego dopełniacz na drodze klasycznej oraz układ krzepnięcia (Abbas i wsp. 2015). W wyniku tego dochodzi do zniszczenia śródbłonna, co w konsekwencji prowadzi do zakrzepicy w małych tętnicach oraz naczyniach włosowatych i martwicy struktur nerkowych, w tym kłębuszków oraz kanalików nerkowych (Banner i wsp. 1988). W badaniu histopatologicznym stwierdza się nacieki neutrofilowy, obrzęk, zakrzepicę i skrzepliny włóknika w naczyniach włosowatych związane w niektórych przypadkach z martwicą włóknikową małych tętnic (Pascual i wsp. 2001).

Odrzucanie nadostre stwierdza się obecnie bardzo rzadko, ze względu na wykonywanie każdorazowo przed przeszczepem próby krzyżowej metodą serologiczną (ang. *cross-match*, CDC) pomiędzy przeciwciałami biorcy a limfocytami dawcy (Salvalaggio i wsp. 2009).

1.1.2. Ostre i ostre przyspieszone odrzucanie przeszczepu nerki

Odrzucanie ostre przyspieszone może pojawić się już po 24 godzinach od przeszczepienia nerki i zależy od obecności komórek pamięci oraz aktywacji wtórnej odpowiedzi swoistej przeciwko DSA w niskim mianie niewykrywalnym w badaniu *cross-match*. Ich poziom gwałtownie wzrasta po ekspozycji na antygeny dawcy obecne w krążeniu biorcy (Becker i wsp. 2016). W organizmie biorcy występują uczulone limfocyty T i alloprzeciwciała przeciwko antygenom dawcy (Ingulli 2010). Mechanizm jest analogiczny do typu nadostrego, jednak zakrzepy występują w tętnicach (Gołąb i wsp. 2017). Częstość wystąpienia odrzucania ostrego wśród nieuczulonych biorców przeszczepu nerek wynosi około 5%, a u uczulonych od 40 do 90% (Valenzuela i Reed 2017).

Pojawienie się odrzucania ostrego przeszczepu po kilku tygodniach od zabiegu może być zależne zarówno od pierwotnej odpowiedzi swoistej komórkowej, jak

i humoralnej (Moreau i wsp. 2013). W reakcji komórkowej biorą udział cytotoksyczne limfocyty T, które generują produkcję cytokin powodujących miejscowy odczyn zapalny i gromadzenie się jednojądrzastych komórek – monocytów i limfocytów (Orosz i van Buskirk 1998). Limfocyty T CD8+ mogą także doprowadzić do lizy komórek biorcy lub apoptozy w wyniku wiązania receptora Fas (CD95) znajdującego się na komórkach przeszczepionego narządu z ligandem Fas (CD178) na limfocytach (Rocha i wsp. 2003). Limfocyty pomocnicze T CD4+ pośredniczą w uruchomieniu nadwrażliwości typu późnego oraz aktywują cytotoksyczne limfocyty T (Burrows i wsp. 1997; Karczewski 2010).

Ostre odrzucanie zależne od przeciwciał rozwija się w wyniku powstania DSA po przeszczepie nerki (Zhang 2018). Przeciwciała te produkowane są w efekcie działania limfocytów B i komórek plazmatycznych (Djamali i wsp. 2014). DSA są związane z komórkami śródbłonna dawcy i uruchamiają kaskadę reakcji dopełniacza na drodze klasycznej (Pouliquen i wsp. 2015). Dowodem na to jest odkładanie się na śródbłonku fragmentu C4d komplementu, który w badaniu histopatologicznym jest morfologicznym markerem odrzucania o typie humoralnym (Gołąb i wsp. 2017; Roumenina i wsp. 2013). Dodatkowo w krążeniu mogą pojawiać się przeciwciała przeciwko nieklasycznym cząsteczkom z rodziny MHC – MICA lub MICB. Ich obecność aktywuje mechanizm cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ang. *antibody-dependent cell cytotoxicity*, ADCC) (Hankey i wsp. 2002; Kitchens i wsp. 2006). W tym typie odrzucania przeszczepu biorą udział również komórki NK (ang. *natural killers*) posiadające na powierzchni receptory KIR (ang. *killer-cell immunoglobulin-like receptor*), których rolą jest hamowanie zabijania w odpowiedzi na rozpoznanie własnych struktur MHC. W przypadku pojawienia się cząsteczek MHC dawcy na powierzchni graftu funkcja limfocytów NK nie jest blokowana (López-Botet i wsp. 2017; Pratschke i wsp. 2009). W badaniu histopatologicznym stwierdza się zapalenie kłębuszków i kanalików nerkowych oraz naczyń włosowatych i tętnic (Jeong 2020).

1.1.3. Przewlekłe odrzucanie przeszczepu nerki

Odrzucanie przewlekłe stwierdza się po upływie jednego roku od przeszczepu, przy braku ostrego odrzucenia, toksyczności leku i innych przyczyn nefropatii (Hassanein i Augustine 2023). Do niedawna opisywane było jako przewlekła nefropatia przeszczepu allogenicznego (Schinstock i wsp. 2014). Przyczyny odrzucania przewlekłego nerek nie są do końca poznane (Curci i wsp. 2016). Odrzucanie przewlekłe związane jest zarówno z czynnikami immunologicznymi, jak i nieimmunologicznymi (Paul 1995). Reakcja odpornościowa może zachodzić dwoma szlakami – bezpośrednim i pośrednim. Szlak bezpośredni zależy głównie od limfocytów T pomocniczych, którym zostaje zaprezentowany antygen przez komórki APC biorcy, jednak nie odgrywa on znaczącej roli w indukowaniu tego typu odrzucania (Ingulli 2010). Szlak pośredni natomiast, który jest główną przyczyną odrzucania przewlekłego nerek, zachodzi w wyniku aktywacji limfocytów B produkujących przeciwciała przeciwko przeszczepionemu narządowi (Sayegh 1999). Do najczęstszych przyczyn nieimmunologicznego odrzucania przewlekłego nerek zaliczane są infekcje wirusowe. Najczęściej są to infekcje wywołane przez cytomegalowirus (CMV) i wirus BK, które mogą prowadzić do upośledzenia funkcji przeszczepionego narządu (Buehrig i wsp. 2003; Morgantetti i wsp. 2019). Dodatkowo, przebycie ostrego odrzucania przeszczepu, może predysponować do pogorszenia funkcji graftu na przestrzeni lat (Waaga i wsp. 2000). Skutkiem tego typu odrzutu są zmiany zwłóknieniowe lub segmentalne stwardnienia kłębuszków nerkowych prowadzące do niewydolności narządu, w badaniu histopatologicznym stwierdza się glomerulopatię przeszczepu (Racusen i Regele 2010).

1.2. Biomarkery wykorzystywane po przeszczepie allogenicznym nerki

Zastosowanie biomarkerów zarówno w badaniach klinicznych, jak i w rutynowej praktyce stało się powszechne (Strimbu i wsp. 2010). Biomarker to wskaźnik, obiektywnie mierzalny, będący wskaźnikiem procesu biologicznego, procesu patogenego lub odpowiedzi na leczenie farmakologiczne (Atkinson i wsp. 2001). Biomarkery są wykorzystywane do: (1) diagnozowania pacjentów z objawami choroby lub nieprawidłowym funkcjonowaniem narządów; (2) oceny przebiegu choroby; (3) rokowania choroby oraz (4) monitorowania odpowiedzi na zabieg medyczny (Vaidya i wsp. 2008). Biomarkery można podzielić na siedem typów w zależności od ich

przeznaczenia: biomarkery wrażliwości lub ryzyka, diagnostyczne, prognostyczne, predykcyjne, monitorujące, farmakodynamiczne/odpowiedzi na leczenie i bezpieczeństwa (Quaglia i wsp. 2020). Rolą biomarkerów ryzyka jest wytypowanie pacjentów z wysokim prawdopodobieństwem rozwoju choroby zanim pojawią się objawy kliniczne. Biomarkery prognostyczne mają na celu identyfikację pacjentów wymagających leczenia oraz pacjentów, u których można zatrzymać postęp choroby. Natomiast marker prognostyczny pomaga określić rodzaj leczenia potrzebnego do zatrzymania progresji choroby. Do oceny aktywności choroby stosuje się markery monitorujące. Dynamikę działania leku w organizmie ocenia się za pomocą markerów farmakodynamicznych. Biomarkery bezpieczeństwa służą do oceny toksyczności zastosowanego leczenia (Salvadori i Tsalouchos 2017). Ponadto pozwalają na ocenę dynamiki zmian immunologicznych, a tym samym przewidują odpowiedź organizmu na przeszczep (Christians i wsp. 2016; Field i wsp. 2014).

Stwierdzono, że idealny biomarker, który może być wykorzystywany w diagnostyce chorób nerek powinien spełniać szereg kryteriów, między innymi wykazywać wysoką czułość i swoistość narządową, korelować z obrazem histopatologicznym, wykrywać wczesne zmiany uszkodzenia nerek, pobieranie materiału do badań powinno być nieinwazyjne dla pacjenta, a testy wykorzystywane do badań powinny być ogólnodostępne, tanie i szybkie (Lisowska-Myjak 2010; Wasung i wsp. 2015). Obecnie w diagnostyce laboratoryjnej brak jest markera odzwierciedlającego zwłaszcza wczesną fazę uszkodzenia nerek, jednak proponuje się kilka związków, które mogą być wykorzystywane jako biomarkery odzwierciedlające czynności nerek (Ryc. 3). W pracy omówiono część z nich, w tym lipokalinę związaną z żelatynazą neutrofilów (NGAL), cząsteczkę-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), chemokinę 10 z motywem C-X-C (CXCL-10), osteopontynę (OPN), cystatynę C (CysC), białko wiążące retinol 4 (RBP-4), jelitowy czynnik trefoilowy 3 (TFF3) i klusterynę (CLU).

BIOMARKERY DIAGNOSTYCZNE

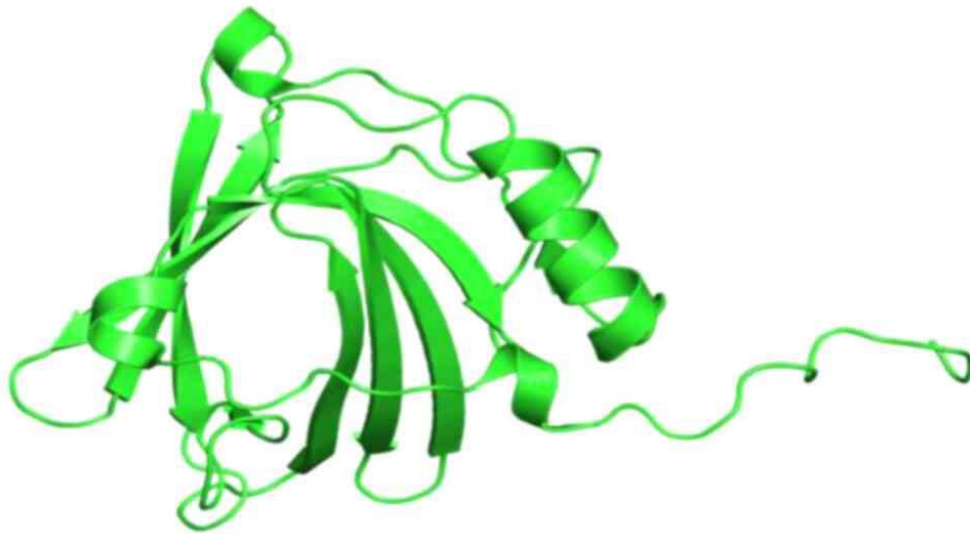
PO PRZESZCZEPIE ALLOGENICZNYM NERKI



Ryc. 3. Charakterystyka wybranych biomarkerów diagnostycznych proponowanych do oceny czynności nerek po przeszczepie allogenicznym nerki (Rogulska i wsp. 2022 [załącznik nr 1]).

1.2.1. Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów (ang. *neutrophil gelatinase-associated lipocalin*, NGAL)

Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów znana jako lipokalina-2, 24p3, syderokalina oraz uterokalina, o masie 21-kD należy do superrodziny lipokalin (Schmidt-Ott i wsp. 2007). Występuje w trzech izoformach: monomerycznej (25 kDa) oraz dimerycznej (45 kDa). Istnieje także mała frakcja heterodimeryczna (135 kDa – sprzężona z żelatynazą) (Ryc. 4) (Singer i wsp. 2013).



Ryc. 4. Struktura lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL) (według bazy danych Protein Data Bank, <http://pdb101.rcsb.org>)

NGAL jest syntetyzowany podczas dojrzewania granulocytów w szpiku kostnym, ale może być również indukowany w komórkach nabłonkowych w warunkach zapalenia lub występowania nowotworu złośliwego (Borregaard i wsp. 1995; Nielsen i wsp. 1996). Gen dla tego białka zlokalizowany jest na chromosomie 9 (Guo i wsp. 2020). NGAL ulega ekspresji w komórkach nerek, wątroby, śródbłonna i mięśni gładkich, neuronach, komórkach układu odpornościowego, w tym makrofagach i komórkach dendrytycznych (Al-Refai i wsp. 2014; Szumilas i wsp. 2016). Wydzielany jest przez granulocyty obojętnochłonne w stanach zapalnych pełniąc funkcję białka ostrej fazy (Radosz i wsp. 2013). Stężenie NGAL w surowicy (sNGAL) u zdrowych ludzi wynosi około 70 ng/ml (Axelsson i wsp. 1995). Poziom NGAL może być również oznaczany w moczu (uNGAL) (Mishra i wsp. 2005). Zakres referencyjny uNGAL

wynosi od <9 do 54,5 ng/ml (Lima i wsp. 2020). NGAL jest uważany za marker ostrego uszkodzenia komórek kanalików nerkowych (Kaucsár i wsp. 2016). Głównymi ligandami dla NGAL są siderofory i metaloproteinaza 9 (ang. *matrix metalloproteinase 9*, MMP-9) (Bao i wsp. 2015). Siderofory są cząsteczkami posiadającymi zdolność wiązania i transportowania żelaza. Występują w wielu organizmach żywych, w tym bakteryjnych (Goetz i wsp. 2002). NGAL utrzymuje bakteriozę poprzez wiązanie sideroforów bakterii i ograniczanie ich wzrostu (Yang i wsp. 2002). Natomiast MMP-9 jest białkiem rozkładającym macierz zewnątrzkomórkową (ang. *extracellular matrix*, ECM). Prowadzi to do powstawania przestrzeni międzykomórkowej oraz zmiany aktywności substancji, w tym chemokin, cytokin, czynników wzrostu, które pełnią istotną rolę w kancerogenezie (Trojanek 2012). Kompleks NGAL z MMP-9 nasila jej działanie proteolityczne, hamując jednocześnie inhibitor TIMP-1 (ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases-1*). Skutkiem tego jest wzrost miejscowej, jak i odległej produkcji komórek nowotworowych (Yan i wsp. 2001). Lipokalina-2 może więc służyć jako negatywny czynnik prognostyczny u pacjentów onkologicznych (Candido i wsp. 2014). NGAL nasila działanie MMP-9 również w chorobach sercowo-naczyniowych. Nadmierna aktywność metaloproteinazy może prowadzić do zakrzepów poprzez zwiększanie niestabilności blaszki miażdżycowej (Cruz i wsp. 2012).

Lipokalina-2 w warunkach fizjologicznych ulega filtracji kłębuszkowej i resorpcji zwrotnej w kanalikach proksymalnych nerek (Wróblewski 2011). W warunkach fizjologicznych ekspresja NGAL pozostaje na niskim poziomie, wzrasta natomiast w odpowiedzi na uszkodzenie komórek nabłonkowych (Virzì i wsp. 2013). W związku z tym ilość lipokaliny-2 w moczu pochodzi może ze zniszczonych kanalików I rzędu oraz zaburzonego klirensu tego białka. Okazuje się jednak, że struktury nie biorące udziału w wydalaniu NGAL również w wyniku uszkodzenia mogą indukować wytwarzanie tej lipokaliny. Frakcja NGAL w moczu jest zatem głównie wynikiem syntezy w nerkach (Schmidt-Ott i wsp. 2007). Stężenie lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów w osoczu jest skutkiem produkcji tkankowej tego białka w odpowiedzi na uszkodzenie. Przykładem tego zjawiska jest ostre uszkodzenie nerek (ang. *acute kidney injury*, AKI) przebiegające z uszkodzeniem innych narządów, w tym płuc oraz wątroby. U pacjentów z AKI częstym powikłaniem jest rozwijająca się niewydolność oddechowa. Rokowania u pacjentów cierpiących na oba te schorzenia są najgorsze wśród współistnienia AKI z innymi chorobami (Faubel i Edelstein 2016). Innym powikłaniem może być niewydolność wątroby bądź też marskość wątroby, które

również wiążą się ze złym rokowaniem (Jiang i wsp. 2018). Dodatkowo NGAL może być uwalniany przez granulocyty obojętnochłonne jako białko ostrej fazy. W następstwie AKI dochodzi także do zmniejszenia filtracji kłębuszkowej (ang. *glomerular filtration rate*, GFR), co prowadzi do wzrostu NGAL (Grigoryev i wsp. 2008).

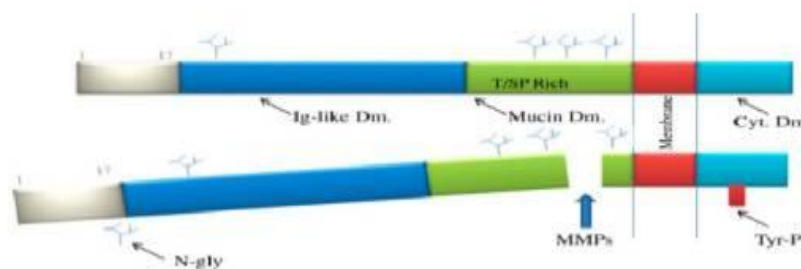
Poziom NGAL u pacjentów z AKI wzrasta we krwi i w moczu odpowiednio 300-krotnie (0,1-30 $\mu\text{g/ml}$) i 1000-krotnie (0,04-40 mg/ml) (Beker i wsp. 2018; Vaidya i wsp. 2008). Oznaczenie poziomów zarówno sNGAL, jak i uNGAL może umożliwić wytypowanie osób z wysokim ryzykiem wystąpienia AKI (Albert i wsp. 2020).

NGAL może być markerem uszkodzenia nerek. W porównaniu do kreatyniny, której stężenie zwiększa się po kilkunastu godzinach od zniszczenia komórek nerkowych, jego wzrost zarówno w moczu, jak i osoczu można zaobserwować już po około dwóch godzinach (Pęczek i Nowicki 2017). Obecnie upatruje się także potencjalnej roli tego białka w procesie monitorowania pacjentów po przeszczepie nerki. NGAL może służyć do oceny stanu graftu już po kilku godzinach od przeszczepu. Opóźniona funkcja przeszczepu (ang. *delayed graft function*, DGF) to zaburzenie występujące w wyniku zaburzeń reperfuzyjnych w narządzie po zabiegu. Rozwija się u około 25% biorców nerek (Bataille i wsp. 2011). U pacjentów, u których wystąpi DGF częstym powikłaniem jest utrata przeszczepu po roku lub dwóch od przeszczepu (Choi i wsp. 2013). Stężenie uNGAL u biorców nerki kilka dni po przeszczepie jest niższe u pacjentów, u których nie występowały zaburzenia reperfuzyjne. Dodatkowo wykazano, że spadek poziomu tego białka w trzeciej dobie po zabiegu jest dobrym czynnikiem predykcyjnym czynności nerek po miesiącu od przeszczepu (Kanter i wsp. 2013). Oznaczenie poziomu NGAL w moczu w połączeniu z innymi markerami może być pomocne we wczesnej ocenie funkcji nerek w pierwszym tygodniu po przeszczepieniu (Capelli i wsp. 2017). NGAL w moczu może być biomarkerem w rozpoznaniu AKI po przeszczepieniu nerki. Poziom uNGAL może być wyższy u biorców z AKI w porównaniu z pacjentami, u których nie stwierdzono AKI, a jego poziom wzrasta u biorców do dwóch godzin po operacji (Rostami i wsp. 2013). sNGAL jest również przydatne w diagnostyce ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie (Pezeshgi i wsp. 2016). U dzieci poziom NGAL w surowicy i moczu w pierwszych tygodniach po przeszczepieniu nerki może być indukowany nie tylko przez uszkodzenie narządu, ale także może być wywołane stosowaniem leków, w tym bifosfonianów, cefalosporyny oraz cisplatyny (Rahimzadeh

i wsp. 2012). Istotny wzrost stężenia sNGAL w pierwszym dniu po przeszczepieniu narządu występuje również u pacjentów z niezgodnością w układzie HLA z dawcą, u których odrzucanie graftu pojawiło się w ciągu miesiąca. Swoistość i czułość tego markera wynosiła około 60-70% (Field i wsp. 2014). Dodatkowo uNGAL jest bardzo czułym markerem ostrej dysfunkcji alloprzeszczepu po transplantacji nerki od żywego dawcy (Kohei i wsp. 2013). Ponadto, oznaczanie poziomu NGAL w moczu może być parametrem różnicującym ostre odrzucanie przeszczepu od innych przyczyn AKI (Heyne i wsp. 2012). Badania prowadzone u biorców nerki ze stabilną funkcją graftu rok po przeszczepie wykazały, że uNGAL, sNGAL i NGAL/kreatynina mogą służyć do oszacowania zmiany funkcji przeszczepu nerki (Kielar i wsp. 2020).

1.2.2. Cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (ang. *kidney injury molecule 1, KIM-1*)

Cząsteczka-1 uszkodzenia nerek jest również nazywana receptorem wirusa zapalenia wątroby typu A (ang. *Hepatitis A Virus Cellular Receptor 1, HAVCR1*) oraz immunoglobuliną T-komórkową i domeną mucyny 1 (TIM-1) (Ichimura i wsp. 1998). Jest to glikoproteina transmembranowa typu 1, zawierająca domenę immunoglobulinopodobną z sześcioma cząsteczkami cysteiny oraz domenę mucynową w obszarze zewnątrzkomórkowym (Ryc. 5). KIM-1/HAVCR/TIM-1 jest białkiem o ciężarze wynoszącym około 104 kD (Lim i wsp. 2013).



Ryc. 5. Struktura cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1). Na rycinie oznaczono: Ig-like Dm, domenę immunoglobulinową; N-gly, miejsce N-glikozylacji; MucinDm, domenę mucynową, MMP, metaloproteinazę, CytDm, domenę cytoplazmatyczną oraz Tyr-P, miejsce P-tyrozyny (Tanase i wsp. 2019)

Gen dla tego białka zlokalizowany jest na chromosomie 5q33.2 (Medić 2015). KIM-1 ulega ekspresji w nerkach, wątrobie i śledzionie (Song i wsp. 2019). W zdrowej

tkance nerek poziom ekspresji KIM-1 jest bardzo niski lub niewykrywalny, ponadto białko to niewykrywalne jest także w moczu (Małyszko i wsp. 2010; Sabbisetii i wsp. 2014). Badania wykazały, że KIM-1 pełni różne role za pośrednictwem celów molekularnych w chorobach immunologicznych i uszkodzeniu nerek (Song i wsp. 2019).

KIM-1 jest uwalniany na szczytowej powierzchni błony komórek nabłonka kanalików proksymalnych nerki zwłaszcza w segmencie S3 w odpowiedzi na niedotlenienie lub uszkodzenie kanalików nerkowych (Han i wsp. 2002). Jego zewnątrzkomórkowa domena jest odłączana przez metaloproteinazy i wydzielana do moczu. To zewnątrzkomórkowa ektodomena KIM-1 stanowi ilościowy marker uszkodzenia nerek (Marchewka i Płonka 2013).

KIM-1 reguluje wydzielanie cytokin przez komórki kanalików proksymalnych, hamuje zmiany translacyjne poprzez szlak czynnika jądrowego transkrypcyjnego (ang. *kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*, NF- κ B) i interakcję z podjednostką kinazy fosfatydyloinozytolu 3 PI3 p85 (Brooks i Bonventre 2015). W mechanizmie tym, część zewnątrzkomórkowa KIM-1 jest odłączana od reszty glikoproteiny za pośrednictwem białek z rodziny metaloproteinaz i transportowana do moczu (Bonventre 2009). W związku z tym uważa się, że KIM-1 może być wykorzystywana w diagnostyce chorób nerek (Wasung i wsp. 2015). Według Europejskiej Agencji Leków (ang. *European Medicines Agency*, EMA) i Amerykańskiego Urzędu ds. Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) białko to zostało uznane biomarkerem uszkodzenia nerek po zażywaniu leków nefrotoksycznych (Dieterle i wsp. 2010; Sabbiseti i wsp. 2014). Podobnie jak w przypadku NGAL, KIM-1 pojawia się w moczu po około 24-48 godzinach po uszkodzeniu przez różne czynniki nefrotoksyczne (El-Attar i wsp. 2017). Stężenie tej glikoproteiny może zwiększać się zanim pojawią się zmiany w szacowanym współczynniku filtracji kłębuszkowej (ang. *estimated glomerular filtration rate*, eGFR) i zapowiadać tym samym uszkodzenie nerek (Rysz i wsp. 2017). Ponadto, stężenie KIM-1 w osoczu (pKIM-1) jest dobrym czynnikiem predykcyjnym upośledzonej funkcji nerek u pacjentów z cukrzycą typu 1 bez białkomoczu (Nowak i wsp. 2016). Natomiast u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu 2 stężenie KIM-1 w surowicy (sKIM-1) silniej koreluje z poziomem eGFR niż stężenie KIM-1 w moczu (uKIM-1) (Gohdai i wsp. 2020). Dodatkowo, stężenie uKIM-1 może być stosowane jako wczesny, czuły wskaźnik AKI u pacjentów z oparzeniami różnego stopnia (Ren i wsp. 2015).

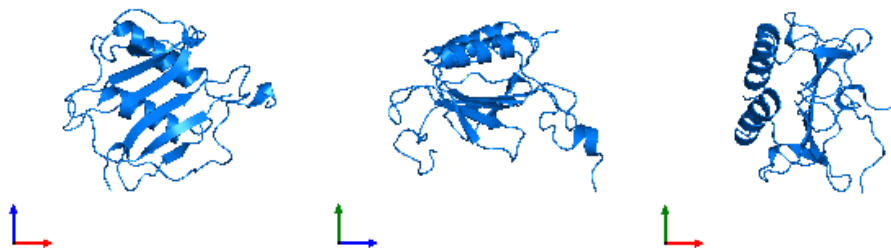
Na podstawie przeglądu danych zawartych w publikacjach naukowych opublikowanych w latach 2000-2007 dotyczących wiarygodności biomarkerów oznaczanych w surowicy i moczu, a wykorzystywanych do diagnostyki stabilnej lub wczesnego AKI stwierdzono, że uKIM-1 może być wykorzystywane do diagnostyki różnicującej martwicę kanalików nerkowych z innymi schorzeniami uszkodzenia nerek (Coca i wsp. 2008). Również u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (ang. *chronic kidney disease*, CKD) pKIM-1 jest czynnikiem ryzyka progresji schyłkowej niewydolności nerek (ang. *end-stage renal disease*, ESRD) (Alderson i wsp. 2016). Stwierdzono, że w przypadku AKI, KIM-1 wykazuje działania profagocytyczne, co powoduje niszczenie komórek zapalnych i zmniejszanie ognisk zapalenia. Odwrotnie jest w przypadku CKD, gdyż białko to nasila stan zapalny i apoptozę komórek nerkowych (Song i wsp. 2019). Wykazano, że pKIM-1 koreluje ze spadkiem eGFR i ryzykiem wystąpienia przewlekłej choroby nerek (Schulz i wsp. 2020). Jednak u pacjentów z ostrym uszkodzeniem nerek lub CKD stwierdzono, że KIM-1 nie jest dobrym biomarkerem w diagnostyce chorób nerek, w porównaniu do standardowo oznaczanych parametrów – kreatyniny i mocznika. Parametry te są najlepszymi wskaźnikami niewydolności narządu, ponieważ ich dokładność rośnie w miarę pogarszania się funkcji graftu (Sinkala i wsp. 2017).

Cząsteczka-1 uszkodzenia nerek jest również markerem odrzucania przeszczepu (Waanders i wsp. 2010). Stwierdzono, że sKIM-1 może być parametrem dla przewidywania wczesnego odrzucania przeszczepu nerki oraz równoległe oznaczenie sKIM-1 i OPN istotnie zwiększa skuteczność przewidywania tego procesu (Jin i wsp. 2013). Dodatkowo oznaczenie mRNA KIM-1 zarówno w moczu, jak i w surowicy może być wykorzystywane do monitorowania biorców po przeszczepie nerki, co może przyczynić się do wcześniejszego zdiagnozowania odrzucania narządu, głównie typu ostrego oraz przewlekłej dysfunkcji przeszczepu (Shahbaz i wsp. 2017). Ponadto, stężenie KIM-1 w moczu jest niezależnym czynnikiem utraty przeszczepu przez biorcę w okresie dłuższym niż 12 miesięcy od zabiegu (van Timmeren i wsp. 2007).

1.2.3. Chemokina 10 z motywem C-X-C (ang. *C-X-C motif chemokine ligand 10, CXCL-10*)

CXCL-10 znane również jako białko-10 indukowane interferonem- γ (ang. *IFN-gamma-inducible protein 10, IP-10*) jest chemokina należącą do podrodziny CXC (Neville i wsp. 1997). Wyróżniono cztery podrodziny tych chemokin: CXC, CC, C i CX3C (Złotnik i Yoshie 2000).

CXC zbudowana jest z dwóch cystein położonych na N-końcach oddzielonych od siebie pojedynczym aminokwasem, który może być zmienny, co odróżnia ją od innych podrodzin chemokin, w której aminokwasy te znajdują się obok siebie (Ryc. 6) (Rollins i wsp. 1997). Chemokiny są z reguły małymi cząsteczkami o masie między 7 a 15 kD (Palomino i Marti 2015). Gen dla tego białka zlokalizowany jest na chromosomie 4 (Liu i wsp. 2011).



Ryc. 6. Struktura krystaliczna chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10) (według <https://www.ebi.ac.uk>)

Stężenie CXCL-10 w surowicy powinno wynosić od 42 do 269 pg/ml (Toiyama i wsp. 2012). Wydzielanie CXCL-10 przez leukocyty, neutrofile, eozynofilie, monocyty, komórki nabłonka, śródbłonka i zrębu oraz keratynocyty odbywa się w odpowiedzi na szereg czynników prozapalnych, głównie interferon- γ (IFN- γ) (Liu i wsp. 2011; Luster i wsp. 1987). Białko to jest modulatorem angiogenezy między innymi w trakcie procesu gojenia się ran, niedokrwieniu i procesach nowotworowych (Gotsch i wsp. 2007). CXCL-10 jest wydzielany przez leukocyty po przeszczepie nerki i jest markerem stanu zapalnego. Czułość i swoistość oznaczania CXCL-10 w moczu (uCXCL-10) przewyższa czułość i swoistość stężenia kreatyniny w surowicy (Schaub i wsp. 2009).

CXCL-10 aktywuje chemokiny receptora CXCR3 występujące na powierzchni wielu komórek, w tym NK, limfocytów T pomocniczych, makrofagów oraz komórek dendrytycznych (Liu i wsp. 2011). Główną funkcją CXCL-10 jest udział w chemotaksji (Hughes i Nibbs 2018). Białko to jest zaangażowane również w powstawanie niektórych chorób, w tym choroby Gravesa-Basedowa i autoimmunologicznego zapalenia tarczycy (Antonelli i wsp. 2004). CXCL-10 ma duży wpływ na występowanie zmian sercowo-naczyniowych, w tym zespołów wieńcowych i miażdżycy (Libby 2002; Mach i wsp. 1999). Chemokiny z podrodziny CXCR3 wykazują także działanie pro- i antyangiogenne prowadząc do powstawania nowotworów, głównie czerniaka (Belperio i wsp. 2000). Ponadto CXCL-10 jest inhibitorem angiogenezy, w związku z tym działa antynowotworowo (Yates-Binder i wsp. 2012).

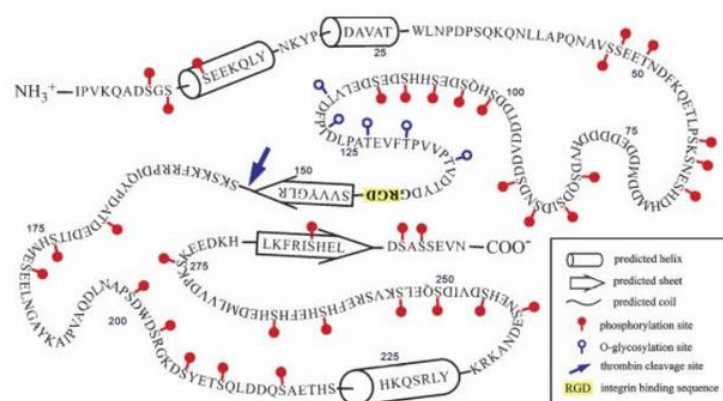
W związku z rolą CXCL-10 w organizmie stwierdzono, że może być wykorzystywany do nieinwazyjnej diagnostyki chorób nerek. Oznaczenie stężenia tej chemokiny może być pomocne w diagnostyce wczesnego ostrego uszkodzenia nerek u pacjentów, w tym również spowodowanego czynnikami niezależnymi od układu immunologicznego (Watson i wsp. 2019). CXCL-10 jest bardzo czułym markerem w wykrywaniu zapalenia nerek w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego (ang. *systemic lupus erythematosus*, SLE) (Marie i wsp. 2014). Dodatkowo, chemokina ta jest wykorzystywana do monitorowania leczenia u pacjentów z SLE (Reyes-Thomas i wsp. 2011).

W wielu ośrodkach naukowych prowadzone są badania dotyczące roli CXCL-10 w odrzucaniu przeszczepu allogenicznego nerki (Merhi i wsp. 2015). Oznaczenie stężenia CXCL-10 w moczu umożliwia rozpoznanie i monitorowanie pacjentów z ostrym, komórkowym typem odrzucania przeszczepionej nerki i koreluje z osoczowym stężeniem kreatyniny (Ciftci i wsp. 2019). Monitorowanie stężenia CXCL-10 i kreatyniny w moczu, a następnie wyliczenie stosunku tych dwóch parametrów może określać ryzyko związane z odrzucaniem przeszczepu zależnego od przeciwciał (Rabant i wsp. 2015). Ponadto, stosunek CXCL-10 do kreatyniny u dzieci jest dobrym biomarkerem odrzucania ostrego komórkowego. Stężenie chemokiny CXCL-10 może być również czynnikiem predykcyjnym rozwoju ostrego odrzucenia o typie komórkowym. Stwierdzono, że wyniki tych parametrów wyprzedzają wyniki oceny z badania histopatologicznego bioptatu nerki o kilka dni (Matz i wsp. 2006). Dodatkowo, oznaczanie mRNA CXCL-10 w moczu stanowi idealny biomarker odrzucania przeszczepu i wykazuje 100% czułość, co zostało potwierdzone w badaniu

histopatologicznym biopłatów przeszczepionych nerek (Tatapudi i wsp. 2004). Udowodniono, że należałoby oznaczać poziom tej chemokiny przed przeszczepem, ponieważ wysokie stężenie CXCL-10 w surowicy przed przeszczepem może oznaczać wysokie ryzyko ciężkiego odrzucenia i niewydolności przeszczepu (Rotondi i wsp. 2004). Zostało to potwierdzone innymi badaniami, w których wykazano, że poziom CXCL-10 w surowicy przed przeszczepem większy niż 150 pg/ml predysponuje do ciężkich w skutkach odrzuceń przeszczepu (Lazzerii wsp. 2005). Ponadto stężenie uCXCL-10 może wzrastać w ostrym odrzucaniu przeszczepu oraz zakażeniu wywołanym wirusem BK, jednak niemożliwe jest na jej podstawie zróżnicowanie tych schorzeń (Jackson i wsp. 2011). Wykazano także, że stężenie CXCL-10 we krwi i moczu może rosnąć wraz z replikacją wirusa BK i wystąpieniem nefropatii w przebiegu zakażenia tym patogenem (Weseslindtner i wsp.2020).

1.2.4. Osteopontyna (ang. *osteopontin*, OPN)

Osteopontyna nazywana jest również sialoproteiną kostną 1 (ang. *Bone sialo protein 1*, BSP-1), wydzielaną fosfoproteiną 1 (ang. *secreted phosphoprotein-1*, SPP-1) i wczesną aktywacją limfocytów T 1 (ang. *early T lymphocyte activation protein 1*, ETA-1) (Wai i wsp. 2004). Jest to białko macierzy pozakomórkowej (~35 kD) zbudowane z łańcucha polipeptydowego o długości 314 aminokwasów, zawierające sekwencje arginina-glicyna-asparagina, która wiąże integrynę (Ryc. 7) (Christensen i wsp. 2005; Young i wsp. 1990).



Ryc. 7. Model struktury ludzkiej osteopontyny (Kazanecki i wsp. 2007)

Osteopontyna jest kodowana przez jedną kopię genu znajdującego się na ludzkim chromosomie 4(4q13) (Göthlin i wsp. 2020). Ekspresję OPN obserwuje się w różnych tkankach i komórkach, w tym w osteocytach, komórkach nabłonka jelitowego, nerek i układu odpornościowego, w tym makrofagach, komórkach dendrytycznych i limfocytach T (Brown i wsp. 1992; Reza i wsp. 2013).

U zdrowych osób stężenie osteopontyny w surowicy powinno wynosić około 23,56 ng/ml (Al-Zoubi i wsp. 2017). W moczu stężenie OPN u kobiet i mężczyzn wynosi odpowiednio około 3,0 i 4,0 ng/ml (Icer i wsp. 2018).

OPN bierze udział w różnych procesach fizjologicznych i patofizjologicznych, w tym przebudowie tkanek i kości, zapaleniu, przeżywalności komórek, miażdżycy i uszkodzeniu nerek (Bruemmer i wsp. 2003; Denhardt i wsp. 2001; Giachelli i Steitz 2000; Lorenzen i wsp. 2010). Jej głównym zadaniem jest wiązanie osteoklastów do kości (Reinholt i wsp. 1990). Dodatkowo wpływa na regulację układu immunologicznego, działając na zasadzie podobnej do działania cytokin (Higashi i wsp. 2015). Stwierdzono, że białko to pełni znaczącą rolę w powstawaniu chorób przewlekłych o charakterze zapalnym (Kahles i wsp. 2014), a także może przyczyniać się do rozwoju zmian nowotworowych (Zhao i wsp. 2018).

W nerkach OPN jest produkowana w dystalnej części nefronu (Hudkins i wsp. 1999). Prawdopodobnie przyczynia się do powstawania i tworzenia światła naczyń w nerkach (Rogers i wsp. 1997). Uważa się, że OPN ogranicza powstawanie kamieni nerkowych (Hoyer i wsp. 1995). Badania wykazały także udział OPN w powstawaniu zmian w nerkach charakterystycznych dla nefropatii cukrzycowej (Nicholas i wsp. 2010). Dodatkowo, wzrost ekspresji tego białka jest czynnikiem predykcyjnym w raku pęcherza moczowego (Wong i wsp. 2017).

Oznaczenie OPN wraz z anhidrazą węglanową IX i białkiem C-reaktywnym jest dobrym biomarkerem w raku nerkowokomórkowym (Sim i wsp. 2012). Osteopontyna odgrywa także ważną rolę zarówno w chorobach układu sercowo-naczyniowego, jak i nerek oraz może wskazywać na pogorszenie się funkcji nerek w CKD. Natomiast na podstawie osocznego stężenia OPN można szacować ryzyko zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych (Feldreich i wsp. 2017). U pacjentów z ostrym uszkodzeniem nerek zaobserwowano wzrost stężenia OPN, które było czynnikiem predykcyjnym śmiertelności u ciężko chorych pacjentów z powodu tej choroby w ciągu czterech tygodni (Lorenzen i wsp. 2011). U noworodków stężenie OPN w moczu jest także dobrym biomarkerem w wykrywaniu AKI, podobnie jak

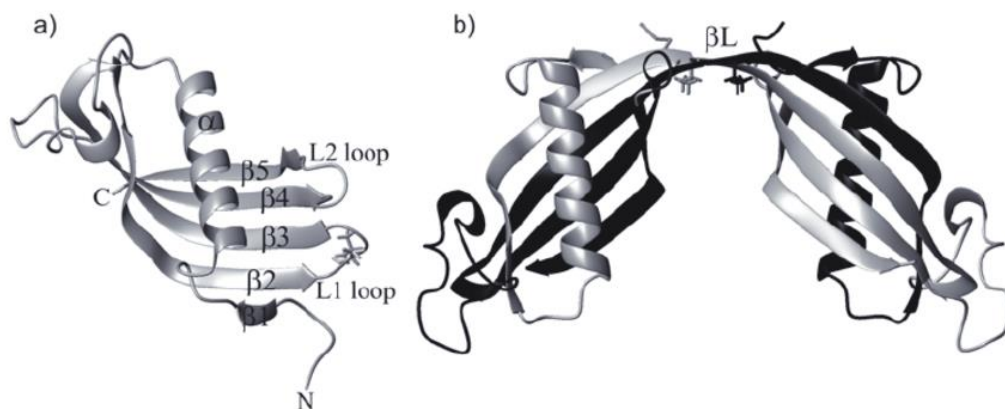
NGAL i KIM-1 (Askenazi i wsp. 2012). Ponadto u pacjentów z AKI poddanych leczeniu nerkozastępczemu wykazano, że stężenie OPN w osoczu może korelować z ciężkością przebiegu choroby (Varalakshmi i wsp.2020).

Osteopontyna wydaje się być także dobrym biomarkerem w odrzucaniu przeszczepu nerki ze względu na jej istotną rolę w procesie zapalenia (Castello i wsp. 2017). Zaobserwowano wzrost ekspresji cewkowej OPN (ligand CD44) u biorców, co potwierdziły wyniki badań histopatologicznych biopatu nerki. Stwierdzono, że białko to może brać udział w rozwoju odrzutu przeszczepu nerki, wzmagając napływ monocytów (Rouschop i wsp. 2006). Ponadto wykazano wzrost poziomu OPN w bioptatach pochodzących z alloprzeszczepu nerki z ostrym odrzucaniem (Alchi i wsp. 2005).

Poziom OPN w płynach ustrojowych, zwłaszcza w osoczu, pozwala przewidzieć i ocenić nasilenie ACR u biorców przeszczepu nerki. Wyniki badań diagnostycznych pokrywają się ze zmianami widocznymi w obrazie histopatologicznym biopatu pobranego od pacjentów w tym samym czasie (Wang i wsp. 2013). Ponadto stężenie OPN może również wzrastać w przebiegu choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (ang. *graft-versus-host disease*, GVHD), kiedy to komórki odpornościowe dawcy atakują organizm biorcy (Zhao i wsp. 2011).

1.2.5. Cystatyna C (ang. *cystatin C*, Cys C)

Cystatyna C jest endogennym inhibitorem proteazy (~13,4 kD) należącym do superrodziny cystatyn hamujących głównie katepsyny L, B i H (Cimerman i wsp. 1999; Murty i wsp. 2013). Zbudowana jest ze 120 aminokwasów tworzących łańcuch polipeptydowy (Ryc. 8) (Madero i wsp. 2006).



Ryc. 8. Modele ludzkiego monomeru hCC z wybranymi β -niciami, pętlami α -helisy i L1, L2 (a) i dimeru (b) cystatyny C (Rodziewicz-Motowidło i wsp. 2006; Koradi i wsp. 1996)

Gen dla tego białka zlokalizowany jest na chromosomie 20 (Mareš i wsp. 2003). Cys C odgrywa ważną rolę w wewnątrzkomórkowym katabolizmie białek i peptydów. Produkowana jest przez komórki jądrzaste na stałym poziomie i występuje we wszystkich płynach ustrojowych w organizmie (Kyhse-Andersen i wsp. 1994; Mussap i Plebani 2004). Zakres wartości referencyjnych u zdrowych osób powinien mieścić się w przedziale między 0,72 a 1,06 mg/l (Odden i wsp. 2010). Stężenie Cys C może ulec zmianie u pacjentów z chorobami tarczycy oraz przyjmujących duże dawki glikokortykosteroidów (Fricker i wsp. 2003; Risch i wsp. 2001).

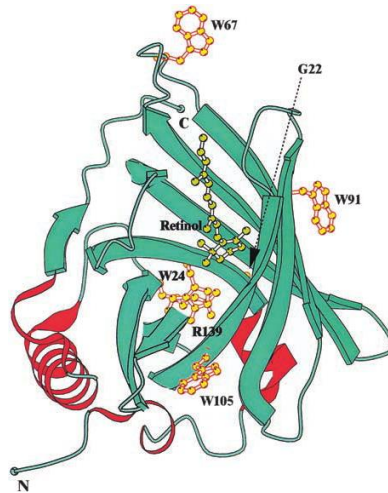
Białko to jest swobodnie filtrowane w kłębuszkach nerkowych, ulega resorpcji zwrotnej, a następnie jest katabolizowane w kanalikach nerkowych (Jensen i wsp. 2017). U zdrowych osób Cys C nie jest wydalana z moczem (Uchida i Gotoh 2002). W przypadku uszkodzenia kanalików nerkowych procesy te są zaburzone i dochodzi do pojawienia się cystatyny w moczu (Szirmay i wsp. 2018). Półokres trwania Cys C w osoczu wynosi 1,5 godziny (Sjöström i wsp. 2004). W przeciwieństwie do kreatyniny, stężenie Cys C w organizmie nie zależy od płci, wieku oraz masy mięśniowej (Chew i wsp. 2008). Dlatego też Cys C w surowicy jest uważana przez wielu naukowców za lepszy marker do szacowania dynamiki zmian GFR niż kreatynina (Dharnidharka i wsp. 2002). U pacjentów z przewlekłą postacią wirusowego zapalenia wątroby typu B stwierdzono, że cystatyna C może być wskaźnikiem rozwijających się zaburzeń czynnościowych nerki (Zheng i wsp. 2020). Stężenie tego białka jest także przydatnym czynnikiem do diagnozowania AKI, wzrastającym przed zmianami

kreatyniny (Nejat i wsp. 2010). Szacuje się, że wyprzedza wzrost stężenia kreatyniny o dwa dni u pacjentów w zaawansowanym stadium uszkodzenia nerek (Spahillari i wsp. 2012). Badanie Cys C w surowicy pozwala na diagnozowanie AKI, jednak nie ma wartości jako marker różnicujący AKI z przewlekłą chorobą nerek (Soto i wsp. 2010). Dodatkowo, oznaczanie Cys C może służyć do wczesnego rozpoznania i rokowania w przypadku ostrej niewydolności nerek wywołanej kontrastem (Briguori i wsp. 2010). Kreatynina oraz Cys C w surowicy jest dobrym markerem funkcji nerek u pacjentów z ostrą niewydolnością, zwłaszcza u tych z pogarszającą się ich funkcją (Tarif i wsp. 2008). Na podstawie danych z dostępnych elektronicznych baz zauważono, że Cys C jest wystarczającym czynnikiem predykcyjnym do wykrywania AKI u dzieci (Nakhjawan-Shahraki i wsp. 2017). Cystatyna C jest także czuły markerem w bardzo ciężkim, ostrym uszkodzeniu nerek u dzieci, jednak tylko wtedy, gdy jej stężenie oznaczone jest w ciągu doby od rozpoczęcia hospitalizacji (Safdar i wsp. 2016).

Cystatyna C jest także markerem odrzucania allogenicznego nerki. Jako dodatkowy parametr diagnostyczny w ocenie funkcji przeszczepionego narządu marker ten może być przydatny w dobraniu odpowiedniego leczenia immunosupresyjnego (Krishnamurthy i wsp. 2011). Zmiany GFR, które są konsekwencją pogarszającej się czynności graftu, a co za tym idzie zwiększonym ryzykiem odrzucenia przeszczepu mogą zostać wykryte przez oznaczenie stężenia cystatyny C, która w 14 dniu po przeszczepie przewyższa czułość i swoistość kreatyniny (Taghizadeh-Afshari i wsp. 2017). Dodatkowo upatruje się roli cystatyny C w ocenie toksycznych skutków leczenia (Le Bricon i wsp. 1999).

1.2.6. Białko wiążące retinol 4 (ang. *retinol-binding protein 4*, RBP-4)

Białko wiążące retinol 4 należy do nadrodziny lipokalin. Syntetyzowane jest głównie w wątrobie, jednak źródłem tego białka są również adipocyty (Flower 1996). Gen kodujący to białko znajduje się na chromosomie 10 (Yanjing i wsp. 2022). RBP-4 zbudowane jest z pojedynczego łańcucha polipeptydowego o masie cząsteczkowej wynoszącej 21 kD (Ryc. 9) (Steinhoff i wsp. 2021).



Ryc. 9. Struktura białka wiążącego retinol 4 (Esnouf 1997)

Prawidłowe stężenie RBP-4 w surowicy krwi waha się między 40 a 60 $\mu\text{g/ml}$ (Blaner 1989). Natomiast w moczu poziom RBP-4 (uRBP-4) nie powinien przekraczać 0,5 mg/l (Dati i wsp. 1996). Poziom tego białka w moczu jest stabilny w określonym pH wynoszącym 4,5, nie zależy od płci i wieku badanych (Monaco i wsp. 1995).

Do głównych zadań RBP-4 należy transport witaminy A (retinolu), zatem należy do białek nośnikowych (Kanai i wsp. 1968). Znaczna część kompleksu RBP-retinol krąży we krwi w połączeniu z transthyretyną (ang. *transthyretin*, TTR), co istotnie zapobiega filtracji kłębuszkowej i utrzymuje stężenie RBP-4 w krążeniu (Hamilton i Benson 2001). Około 4-5% krąży w postaci niezwiązanej powodując przedostawanie się RBP-4 przez barierę kłębuszkową, ponowne wchłanianie, a następnie rozłożenie w kanalikach proksymalnych nerek przy udziale megaliny (Christensen i wsp. 1999). Białko wiążące retinol 4 może również przyczyniać się do powstawania insulinooporności poprzez wpływ na układ odpornościowy i regulację stanu zapalnego w tkance tłuszczowej (Moraes-Vieira i wsp. 2014). Dodatkowo poziom RBP-4 jest wyższy u pacjentów z chorobami zapalnymi jelit (Karásková i wsp. 2022). Podwyższone stężenie RBP-4 w surowicy obserwowano także u osób z chorobami sercowo-naczyniowymi, w tym miażdżycą, nadciśnieniem tętniczym i chorobą wieńcową (Gao i wsp. 2016).

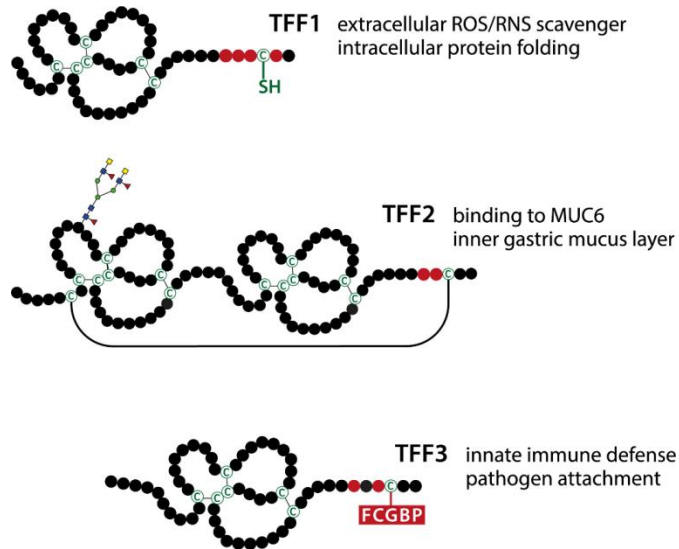
Ze względu na swoje właściwości RBP-4 może być biomarkerem uszkodzenia kanalików i kłębuszków nerkowych w przebiegu różnych chorób (Domingos i wsp. 2016). Wykazano, że obok transferyny oraz adiponektyny w moczu i glikoproteiny cynkowej alfa 2 w surowicy uRBP-4 ma wysoką czułość w wykrywaniu

mikroalbuminurii we wczesnym stadium nefropatii cukrzycowej u pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu 2 (Kamel i wsp. 2022). Wzrost wydalania białek o niskiej masie cząsteczkowej z moczem, w tym RBP-4, może wskazywać stopień zwłóknienia śródmiąższowego w przebiegu przewlekłej choroby nerek (Pallet i wsp. 2014). Również stężenie RBP-4 w surowicy może być biomarkerem, a jego wartość istotnie wzrasta u pacjentów z CKD (Xiong i wsp. 2021). Ponadto stwierdzono, że stężenie RBP-4 w moczu wzrasta proporcjonalnie do progresji uszkodzenia nerek w przebiegu nefropatii IgA (Shen i wsp. 2021). Z kolei stosunek stężenia RBP w moczu i kreatyniny może służyć jako marker prognostyczny zniszczenia nerek w przebiegu amyloidozy oraz być narzędziem diagnostycznym w ocenie stratyfikacji ryzyka u pacjentów przyjmujących chemioterapię cytotoksyczną (Rezk i wsp. 2021).

Białko wiążące retinol 4 może także być przydatne w ocenie funkcji nerki po przeszczepie. Wykazano, że stężenie RBP-4 w moczu koreluje z czynnością nerek po transplantacji oraz może służyć do oceny prognostycznej szybkiego pogorszenia funkcji graftu (Jeon i wsp. 2022). Stwierdzono również, że poziom białka wiążącego retinol 4 w moczu może być podwyższony u osób z prawidłowym stężeniem kreatyniny w pierwszych trzech miesiącach po przeszczepieniu i prognozować pogorszenie czynności nerki po roku od transplantacji (Hosaka i wsp. 2003). uRBP-4 jest również nieinwazyjnym parametrem do obserwacji klinicznej pacjentów z glomerulopatią po przeszczepie nerek obok białkomoczu, upośledzenia czynności nerek, płci męskiej i wirusowego zapalenia wątroby typu C. Jest także predykatorem postępującego zaburzenia funkcji graftu (Li i wsp. 2018). Zauważono, że zwiększone stężenie RBP-4 w moczu u pacjentów z prawidłową funkcją nerek może wyprzedzać rozpoznanie przewlekłej nefropatii przeszczepu nawet o dwa lata. Umożliwia to wdrożenie leczenia zanim nastąpi uszkodzenie graftu (Câmara i wsp. 2004). uRBP-4 może być także wskaźnikiem związanym z długoterminową utratą przeszczepu i wzrastać pomimo prawidłowej morfologii graftu u pacjentów po transplantacji (de Matosi i wsp. 2010). Zauważono, że wysoki poziom uRBP-4 u osób zakażonych CMV z uszkodzeniem kanalików nerkowych wskazuje na gorszą funkcję nerki przeszczepionej niż u tej samej grupy pacjentów, u których stężenie tego markera było prawidłowe (Requião-Moura i wsp. 2018).

1.2.7. Jelitowy czynnik trefoilowy 3 (ang. *trefoil factor 3*, TFF3)

Jelitowy czynnik trefoilowy 3 (TFF3) należy do rodziny ludzkich czynników trefoilowych, obok peptydów TFF1 i TFF2 (Ryc. 10) (Thim i May 2005).



Ryc. 10. Trójlistna struktura z wiązaniami dwusiarczkowymi prototypowych peptydów z rodziny ludzkich czynników trefoilowych (TFF1, TFF2 i TFF3). Reszty cysteiny (C) zaznaczono na zielono (Hoffmann 2020)

Nazwa czynnik koniczyny 3 pochodzi od budowy tego białka. Jedna lub kilka domen aminokwasowych (38 lub 39), w których sześć reszt cysteinowych tworzy trzy wiązania disulfidowe, układa się w charakterystyczną trójlistną koniczynę (Thim 1997). TFF3 może występować w formie monomerycznej (6,7 kD) oraz dimerycznej (13,1 kD) (Thim i wsp. 1995).

Gen kodujący TFF3 zlokalizowany jest na chromosomie 21q22.3 (Chinery i wsp. 1996). Według Ishibash i wsp. (2017) stężenie TFF3 w surowicy u osób zdrowych wynosi około 5,0 ng/ml. Białko to wydzielane jest głównie przez komórki śluzowe jelita cienkiego i grubego (Podolsky i wsp. 1993). Dzięki temu może ono pełnić rolę biomarkera we wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego i dobrze koreluje z poziomem białka ostrej fazy (Nakov 2019). TFF3 jest również wydzielany przez komórki nerwowe i reguluje procesy odpowiedzialne za pamięć oraz naukę (Arnold i wsp. 2016). Peptyd ten wykazuje działanie neuroprotektoryjne, ponieważ wygasza czynność kaspazy-3, która niszczy komórki mikrogleju (Liu i wsp. 2013). TFF3 pełni także funkcje antyapoptotyczne i proproliferacyjne, dlatego uważa się, że przyczynia się

do progresji guzów litych (Diao i wsp. 2017). Dodatkowo jelitowy czynnik trefoilowy 3 może wpływać na przerzuty komórek nowotworowych w tkankach nabłonkowych (Meyer i wsp. 2006). Wpływ na zdolności regeneracyjne błony śluzowej sprawia, że trwają próby wykorzystania TFF3 w terapii (Taupin i Podolsky 2003).

TFF3 może stanowić biomarker u pacjentów z uszkodzeniem nerek (George i wsp. 2020). Wyniki badań dowodzą, że w surowicy pacjentów z CKD stężenie jelitowego czynnika trefoilowego 3 jest znacznie wyższe niż w grupie kontrolnej. Dodatkowo wykazano, że poziom tego białka jest wyższy u pacjentów z CKD niż u osób z innymi chorobami cywilizacyjnymi (Du i wsp. 2013). Stężenie TFF3 rośnie także w moczu pacjentów z pogłębiającą się przewlekłą chorobą nerek, a w połączeniu z występowaniem mikroalbuminurii białko to może być czynnikiem prognostycznym gorszego rokowania (Yamanari i wsp. 2018).

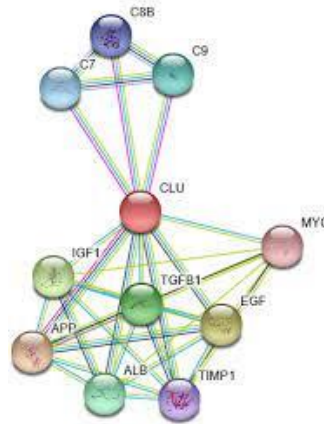
FDA i EMA uznała oznaczanie stężenia TFF3 w moczu za swoisty i czuły biomarker do monitorowania polekowego uszkodzenia nerek (Griffin i wsp. 2019). W badaniach modelowych prowadzonych na szczurach zauważono, że stężenie TFF3 spadało w przypadku neurotoksyczności, natomiast u ludzi stężenie tego białka rosło (Wadey i wsp. 2014, George i wsp. 2017). TFF3 był także analizowany jako marker procesu autoimmunizacyjnego. Yan i wsp. (2020) zauważyli, że stężenie TFF3 w osoczu było wyższe u pacjentów z toczniowym zapaleniem nerek niż u osób z toczniem rumieniowatym układowym przebiegającym bez zajęcia nerek. Dodatkowo stwierdzono, że poziom tego białka może odzwierciedlać stan kliniczny nerek w SLE. Wyniki badań dowodzą także, że stężenie TFF3 może wzrastać u dzieci z wrodzonymi wadami nerek i dróg moczowych oraz być czynnikiem prognostycznym pogarszającej się funkcji tego narządu (Anand i wsp. 2021).

Rola TFF3 jako markera odrzucania przeszczepu nerki nie została jeszcze dokładnie poznana. Badania wykazały wysokie stężenie tego białka natychmiast po przeszczepie, a następnie spadek, niezależnie od obecności DGF (Endre 2014).

1.2.8. Klusteryna (ang. *clusterin*, CLU)

Klusteryna znana również jako apolipoproteina J (ang. *apolipoprotein J*, apo J) jest glikozylowanym białkiem zbudowanym z dwóch łańcuchów – α i β , połączonych wiązaniami dwusiarczkowymi (Ryc. 11) (de Silva i wsp. 1990). U człowieka występuje w dwóch izoformach. Typ wydzielniczy, o masie wynoszącej około 80 kD mający za

zadanie usuwanie resztek powstałych po procesie apoptozy oraz typ jądrowy o masie 50 kD odpowiedzialny za naprawę DNA (Shannan i wsp.2006).



Ryc. 11. Struktura klusteryny (<https://www.sinobiological.com/resource/clusterin/proteins>)

Gen kodujący klusterynę zlokalizowany jest na 8 chromosomie (Pająk i Orzechowski 2006). CLU bierze udział w szlakach apoptotycznych i antyapoptotycznych, występuje w wielu narządach, w tym w nerkach (Han i wsp. 2012; Rosenberg i Silkensen 1995). Wykrywana jest we wszystkich płynach biologicznych w organizmie ludzkim (Jenne i Tschopp 1992). Fizjologiczne stężenie CLU w surowicy wynosi od 35 do 105 $\mu\text{g/ml}$, natomiast w płynie mózgowo-rdzeniowym stężenie to jest dużo niższe i waha się między 1,2–3,6 $\mu\text{g/ml}$ (Murphy i wsp. 1988). W moczu osób zdrowych stężenie CLU powinno wynosić około 7,0 $\mu\text{g/ml}$ (Ghiggeri i wsp. 2002). Białko to bierze udział w wielu procesach biologicznych, w tym w dystrybucji lipidów oraz regulacji dopełniacza (McDonald i wsp. 1997; Yang i wsp. 2015). Ponadto działanie CLU jest analogiczne do działania rodziny białek szoku cieplnego, będącymi białkami opiekuńczymi, biorącymi udział w ponownym i prawidłowym fałdowaniu protein po wystąpieniu czynnika stresogennego (Poon i wsp. 2000). W nerkach CLU występuje w kanalikach nerkowych, gdzie ma działanie antyapoptotyczne i pośredniczy w ochronie komórek, gospodarce lipidów, przyłączaniu i agregacji komórek (Rosenberg i Silkensen 1995).

Klusteryna jest białkiem, którego wzmożona ekspresja jest wykrywana w stanach patologicznych (Park i wsp. 2018). Wzrost stężenia CLU stwierdzono u pacjentów z chorobami nerek (Fritz i Murphy 1993). Liczne badania wykazały, że

białko to odkłada się w kłębuszkach nerkowych w postaci złogów wraz z elementami dopełniacza (French i wsp. 1992). Obniżony poziom CLU wpływa negatywnie na funkcję nerek w uszkodzeniach niedokrwienno-reperfuzyjnych predysponujących do wystąpienia przewlekłej niewydolności tego narządu (Guo i wsp. 2016). Dodatkowo w przypadku niedoboru CLU dochodzi do zniszczenia tkanek w obrębie nerki oraz wzmożonej apoptozy komórek (Zhou i wsp. 2010). Z kolei wzrost CLU w moczu wraz z albuminurią może być niezależnym markerem predykcyjnym postępu cukrzycowej choroby nerek u pacjentów z cukrzycą typu 2 (Kim i wsp. 2017). CLU dobrze odzwierciedla stopień uszkodzenia kanalików nerkowych w początkowej fazie choroby. Ponadto oznaczanie stężenia CLU w moczu może odróżniać nefropatię cukrzycową od albuminurii u pacjentów z cukrzycą typu 2 (Zeng i wsp. 2017). Schlatzer i wsp. (2012) stwierdzili, że klusteryna może służyć również jako dobry marker w diagnostyce cukrzycy typu 1. Natomiast inne badania wykazały, że oznaczanie CLU w osoczu i surowicy nie wprowadza istotnych zmian do rutynowej diagnostyki białkomoczu w chorobach nerek. W badaniach dotyczących klusteryny, kreatyniny i białka całkowitego nie stwierdzono przewagi któregoś z parametrów w diagnozowaniu pacjentów z nefropatią (Solichova i wsp. 2007). Natomiast u dzieci oznaczanie stężenia CLU w moczu może stanowić użyteczny, nieinwazyjny marker w diagnostyce uszkodzenia nerek predysponującego do schyłkowej niewydolności narządu w przebiegu toczenia rumieniowatego układowego (Wu i wsp. 2018). CLU może stanowić także marker uszkodzenia nerek u dzieci poddanych allogenicznemu przeszczepowi komórek macierzystych (Musiał i wsp. 2020).

Rola CLU w kontekście odrzucania przeszczepu nerki nie została jeszcze dokładnie zbadana. U pacjentów po przeszczepie nerki stwierdzono, że w przypadku wystąpienia opóźnionej funkcji graftu, CLU może być istotnym biomarkerem tego mechanizmu, a jego stężenie wzrasta już po czterech godzinach od zabiegu (Pianta i wsp. 2015B).

2. Hipotezy i cele badawcze

Głównym celem badawczym była ocena biomarkerów wykorzystywanych do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki.

Przystępując do badań postawiono następujące hipotezy badawcze:

- H1.** Stężenia biomarkerów zmieniają się istotnie w czasie (dzień, pół roku i rok po transplantacji);
- H2.** Stężenia biomarkerów korelują istotnie ze stężeniem kreatyniny w tym samym punkcie czasowym;
- H3.** Wybór metody diagnostycznej wykorzystanej do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki nie wpływa istotnie na wartość ocenianych biomarkerów.

Weryfikację hipotez przeprowadzono realizując następujące cele badawcze:

- określenie wartości diagnostycznej markerów, w tym lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL), cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10), osteopontyny (OPN), cystatyny C (Cys C), białka wiążącego retinol 4 (RBP-4), jelitowego czynnika trefoilowego 3 (TFF3) oraz klusteryny (CLU) u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki objętych rocznym okresem monitorowania;
- porównanie wpływu metody na analizowane biomarkery oznaczane metodą ELISA (ang. *enzyme-linked immunosorbent assay*) oraz metodą fluorymetrii przepływowej xMap Luminex;
- ustalenie czy stężenia badanych biomarkerów w surowicy i w moczu są uzależnione od czasu jaki upłynął od zabiegu przeszczepienia nerki;
- ustalenie korelacji pomiędzy stężeniem badanych markerów u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki i kreatyniną oraz biomarkerami i wartością eGFR u grupy badanej.

Wyniki badań pozwolą odpowiedzieć na następujące pytania:

1. Czy u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki dochodzi do zmian stężeń badanych biomarkerów, w tym NGAL, KIM-1, CXCL-10, OPN, Cys C, RBP-4, TFF3 i CLU w surowicy/osoczu lub/i moczu?

2. Czy istnieją istotne różnice stężeń badanych biomarkerów w porównaniu z grupą kontrolną?
3. Jak zmieniają się stężenia badanych białek w osoczu i moczu pacjentów od razu po przeszczepie nerek oraz po 6 i 12 miesiącach po zabiegu?
4. Czy istnieje zależność pomiędzy stężeniem badanych biomarkerów a poziomem kreatyniny i eGFR?
5. Czy wybór metody diagnostycznej ma istotny wpływ na uzyskane wartości biomarkerów?

3. Materiał i metody

3.1. Charakterystyka grupy badanej

Badania prowadzone były w okresie od 2018 do 2022 roku. Badaniami objęto dorosłych pacjentów po transplantacji nerki z regionu północno-zachodniej Polski. Byli to pacjenci Poradni Transplantologicznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 2 PUM w Szczecinie. Kryterium wyłączenia do badań był wiek biorcy poniżej 18 r.ż.

Grupa badana obejmowała 19 pacjentów, w tym 9 kobiet i 10 mężczyzn w wieku od 26 do 71 lat (średnia wieku badanych $51,9 \pm 12,1$ lat). Od pacjentów pobierano krew (w objętości 7,5 ml) na czczo, w godzinach porannych, a także mocz (50 ml) w odstępach czasowych według schematu: 1 doba–6 miesięcy–12 miesięcy. Łącznie w grupie badanej pobrano 57 próbek krwi i 57 próbek moczu (Tab. 1-2). Próbkę pobierano w takich punktach czasowych celem określenia dynamiki zmian stężeń wybranych biomarkerów w ocenie krótko i długoterminowej po przeszczepie. Dodatkowo analogiczny materiał został pobrany jednorazowo także od pięciu osób zdrowych (trzech kobiet i dwóch mężczyzn) w wieku od 28 do 44 lat (średnia wieku badanych $32,6 \pm 6,6$ lat) bez chorób nerkopochodnych, które stanowiły grupę kontrolną. Łącznie w grupie kontrolnej pobrano pięć próbek krwi i pięć próbek moczu. Szczegółowe zestawienie wyników grupy badanej i grupy kontrolnej znajduje się w załączniku 2 (Tabele Z1-Z5).

Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (uchwała nr KB-0012/114/12). Kierownikiem projektu pt. „Wpływ czynników immunologicznych i nieimmunologicznych na czas przeżycia allogenicznego graftu” była dr hab. n. med. Iwona Wojciechowska-Koszko (Załącznik 3). Badania były prowadzone zgodnie z Deklaracją Helsińską.

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej przed przeszczepem allogenicznym nerki, część I (K, kobieta, M, mężczyzna)

Kod pacjenta	pleć	wiek podczas tx (w latach)	waga (w kg)	kreatynina (mg/dl)	eGFR (ml/min/1,73)	łączy czas dializ (w latach)	mocznik (mg/dl)	sód (mmol/l)	potas (mmol/l)	chlorki (mmol/l)	przeciwciała przeciw CMV w klasie IgG
1	M	49	66	7,15	7	16	85,3	138	6,14	100	reaktywny
2	K	40	61	2,26	26	5	75,9	143	5,41	110	niereaktywny
3	K	58	80	2,71	19	2	97,9	137	4,9	98	reaktywny
4	M	55	72	4,31	14	2	41,8	142	5,05	98	reaktywny
5	M	50	82	7,35	8	0	196,5	143	5,54	111	reaktywny
6	K	63	71	3,86	12	1	84,2	136	6,61	101	-
7	M	60	80	7,28	7	3	98,6	140	4,1	100	-
8	M	54	91	13,32	4	3	123,1	138	6,53	96	reaktywny
9	M	36	105	7,15	9	1	90,8	139	4,86	103	-
10	K	71	68	3,30	13	0	121,4	142	4,6	102	reaktywny
11	K	57	68	5,40	8	3	73,1	1430	4,7	101	reaktywny
12	K	47	78	3,00	18	0	72,9	134	4,59	103	reaktywny
13	M	61	88	5,71	10	0	63,9	140	4,99	98	reaktywny
14	K	49	70	6,68	7	2	78,1	135	5,3	100	reaktywny
15	K	63	75	8,46	5	2	106,9	139	7,33	100	reaktywny
16	M	49	114	8,56	7	2	78	140	5,5	102	reaktywny
17	M	26	70	9,00	7	5	80,4	141	6,34	103	niereaktywny
18	M	67	76	5,12	11	5	64,4	140	4,6	100	reaktywny
19	K	31	73	3,48	17	1	32,9	138	4	99	reaktywny

Tabela 2. Charakterystyka pacjentów z grupy badanej przed przeszczepem allogenicznym nerki, część II (AM, średnia arytmetyczna, SD, odchylenie standardowe; Med., mediana; Min, wartość minimalna; Max, wartość maksymalna; Q_d, dolny kwartył; Q_g, górny kwartył

	wiek podczas tx (w latach)	waga (kg)	kreatynina (mg/dl)	eGFR (ml/min/1,73)	łącny czas dializ (w latach)	mocznik (mg/dl)	sód (mmol/l)	potas (mmol/l)	chlorki (mmol/l)
AM±SD	51,90±12,06	78,32±13,33	6,01±2,77	11,00±5,66	2,79±3,60	87,69±34,86	207,1±296,1	5,32±0,90	101,3±3,76
Med	54,00	75,00	5,71	9,00	2,00	80,40	140,0	5,05	100,0
Min	26,00	61,00	2,26	4,00	0,0	32,90	134,0	4,00	96,00
Max	71,00	114,0	13,32	26,00	16,00	196,5	1430,0	7,33	111,0
Q_d	47,00	70,00	3,48	7,00	1,00	72,90	138,0	4,60	99,00
Q_g	61,00	82,00	7,35	14,00	3,00	98,60	142,0	6,14	103,0

3.2. Charakterystyka materiału

Próbki krwi obwodowej pobrano na „skrzep”, a następnie wirowano przy obrotach 2000 rpm przez 5 min. Uzyskaną surowicę rozdzielono do probówek po 500 µl, opisywano numerem kodowym, a następnie mrożono i przechowywano w temperaturze -20°C do czasu analiz.

Próbki porannego moczu pobrane do jednorazowego pojemnika przelewano do 10 ml falkonu, a następnie wirowano przy obrotach 2000 rpm przez 20 min. Uzyskany nasącz z nad osadu rozdzielono do probówek po 500 µl, opisywano numerem kodowym, a następnie mrożono i przechowywano w temperaturze -20°C do czasu analiz.

Przygotowanie i przechowywanie próbek było zgodne z zaleceniami producenta testów wykorzystywanych w badaniach (R&D Systems, USA).

3.3. Metody badawcze

3.3.1. Metoda xMap Luminex

Metoda xMap Luminex oparta jest na zasadzie fluorymetrii przepływowej. Próbka materiału biologicznego zostaje dodana do mieszaniny kodowanych kolorami kulek, które powleczone są przeciwciałami wychwytyjącymi specyficzne dla siebie rodzaje analizowanych w danym badaniu biomarkerów. W trakcie tego etapu przeciwciała wychwytyjące wiążą się z odpowiednimi rodzajami ocenianych biomarkerów. Następnie dodane zostają biotynylowane przeciwciała wykrywające, które wiążą się z wcześniej powstałymi na powierzchni kulek kompleksami i tworzą one tzw. kanapkę (przeciwciało wychwytyjące-biomarker-przeciwciało wykrywające). W następnej kolejności zaaplikowany zostaje barwnik (streptawidyna sprzężona z fikoerytryną), który wiąże się z biotynylowanymi przeciwciałami wykrywającymi. Odczyt następuje za pomocą dwustrumieniowego urządzenia do wykrywania przepływu – LabScan100 (Luminex Corporation, Austin, USA). Jeden z laserów tego urządzenia klasyfikuje kulkę i określa wykrywany biomarker, natomiast drugi określa wielkość sygnału pochodzącego z fikoerytryny, który jest wprost proporcjonalny do ilości związanego analitu.

Do analizy wykorzystano zestaw zawierający mieszaninę magnetycznych kulek pokrytych przeciwciałami skierowanymi przeciwko NGAL, KIM-1, CXCL-10, OPN,

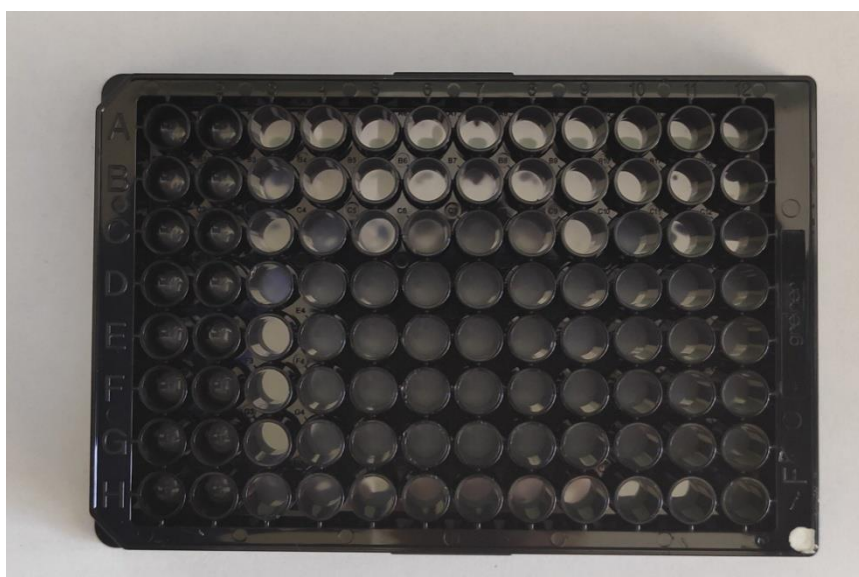
Cys C, TFF3, RBP-4 i CLU. Przed przystąpieniem do badań ogrzano wszystkie odczynniki oraz próbki badane do temperatury pokojowej. Następnie przygotowano odpowiednie rozcieńczenia surowicy i moczu, w przypadku markerów Cys C, CLU i RBP-4 surowicę rozcieńczono 4000-krotnie, a NGAL, KIM-1, CXCL-10, OPN, TFF3 10-krotnie. W przypadku moczu dla wszystkich badanych biomarkerów wymagane było rozcieńczenie 10-krotne. Następnie wykonano serię rozcieńczeń standardu zawierającego przeciwciała przeciwko biomarkerom tworząc krzywą kalibracyjną. Do studzienek (Ryc. 12) dodano po 50 μ l standardów oraz rozcieńczonych próbek. Następnie dodano po 50 μ l mieszaniny kulek magnetycznych pokrytych przeciwciałami i zaklejono folią, po czym inkubowano przez dwie godziny w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (800 rpm). Po tym czasie płytkę umieszczono na magnesie na jedną minutę (Ryc. 13), powoduje to opadanie kulek na dno studzienek. Następnie usunięto nadsącz i dodano po 100 μ l buforu płuczącego do studzienek, a płytki ponownie umieszczono na magnesie na jedną minutę. Czynność tą powtórzono 3-krotnie. W dalszej kolejności dodano po 50 μ l mieszaniny biotynylowanych przeciwciał wykrywających, zaklejono folią i inkubowano przez godzinę w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (800 rpm). Po tym czasie wykonano 3-krotne płukanie na magnesie, a następnie do każdej studzienki dodano 50 μ l barwnika streptawidyny sprzężonej z fikoerytryną, który należy chronić przed światłem. Płytki zaklejono folią i inkubowano przez 30 minut w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (800 rpm). W dalszej kolejności wykonano 3-krotne płukanie na magnesie i dodano po 100 μ l buforu płuczącego do studzienek. Następnie inkubowano dwie minuty w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (800 rpm). Odczytu płytki dokonano na aparacie LabScan100 (Ryc. 14).

Parametry ustawione do odczytu płytki na aparacie LabScan100 były następujące:

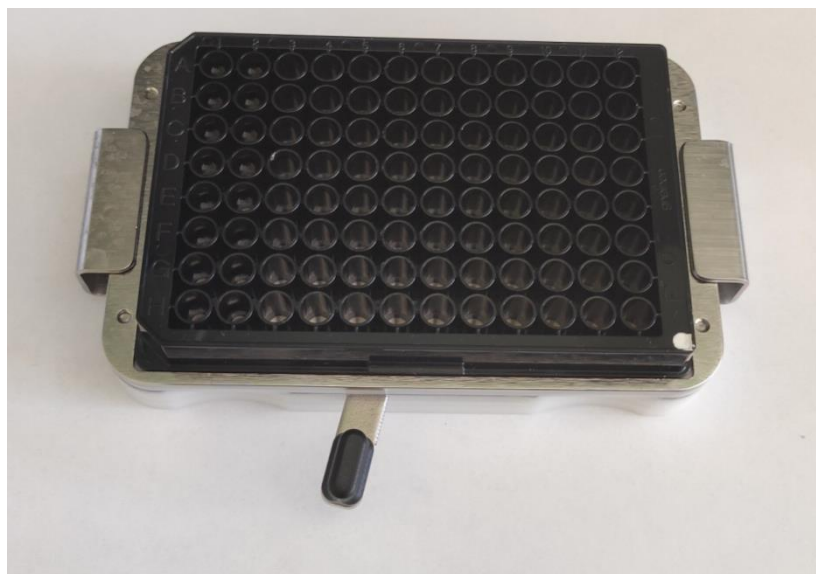
1. objętość próbki pobieranej: 50 μ l,
2. rodzaj kulek: magnetyczne,
3. bramkowanie: 8000 – 16 500,
4. wybranie odpowiednich regionów:

Biomarker	Region
NGAL	27
KIM-1	26
CXCL-10	25
OPN	28
Cys C	19
RBP-4	29
TFF3	30
CLU	20

5. obliczanie: 50/region,
6. forma wyników: stężenia



Ryc. 12. Płytką 96-dołkowa do analizy metodą Luminex



Ryc. 13. Płytką 96-dołkową do analizy metodą Luminex umieszczona na magnesie



Ryc. 14. Stanowisko do odczytu testów wykonanych metodą Luminex (od lewej pompa, aparat LABScan 100 i komputer z oprogramowaniem do odczytu)

3.3.2. Metoda ELISA

Zestaw diagnostyczny zawiera 96-dołkową mikropłytkę, w której każdy dołek opłaszczony jest przeciwciałem wychytującym analizowany w materiale biologicznym biomarker. W pierwszym etapie inkubacji do dołków dodaje się odpowiednio kalibratory oraz próbki badane. Na tym etapie analizy obecny w badanym materiale biomarker zostaje związany z przeciwciałem wykrywającym znajdującym się

w dołkach. Następnie do każdego dołka zostaje dodane przeciwciało wykrywające znakowane peroksydazą chrzanową (HRP), które zostaje związane z powstałym wcześniej kompleksem biomarker–przeciwciało wykrywające. W dalszej kolejności do studzienek zostaje dodany roztwór substratu tetrametylobenzydyny (TMB). Intensywność niebieskiego zabarwienia, które pojawi się po dodaniu TMB jest wprost proporcjonalne do ilości ocenianego analitu obecnego w analizowanej próbce. W końcowym etapie inkubacji dodany zostaje roztwór hamujący reakcję (ang. *Stop Solution*), który spowoduje zmianę zabarwienia w dołkach z niebieskiego na żółty (Ryc. 15). Odczyt wyników następuje poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 450nm.

Do analizy wykorzystano osobne testy zawierające 96 dołkową płytkę z opłaszczonymi przeciwciałami monoklonalnymi lub poliklonalnymi swoistymi dla oznaczanego w danym teście biomarkera. Przed przystąpieniem do testu ogrzewano odczynniki oraz próbki badane do temperatury pokojowej. W następnej kolejności przygotowano odpowiednie rozcieńczenia surowicy i moczu (Tab. 3). Następnie wykonywano serię rozcieńczeń standardu zawierającego dany rekombinowany ludzki biomarker tworząc krzywą kalibracyjną. We wszystkich testach wymagane było dodanie do pustych studzienek odczynnika zawierającego substancje konserwujące. Następnie do dołków dodawano po 50 μ l a w przypadku CXCL-10 dla próbek surowicy i moczu odpowiednio 75 i 150 μ l, natomiast RBP-4 20 μ l, standardów oraz rozcieńczonych próbek do studzienek. Płytkę zaklejano folią i inkubowano:

- dwie godziny w temperaturze pokojowej w celu oznaczenia KIM-1 w moczu, CXCL-10 i OPN,
- dwie godziny w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (500 \pm 50 rpm) w celu oznaczenia KIM-1 w surowicy, CLU i TFF3,
- jedną godzinę w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (500 rpm) w celu oznaczenia RBP-4,
- dwie godziny w temperaturze 2-8 C $^{\circ}$ w celu oznaczenia NGAL,
- trzy godziny w temperaturze 2-8 C $^{\circ}$ w celu oznaczenia Cys C.

Po tym czasie płytkę płukano trzykrotnie buforem płuczającym (400 μ l) z wykorzystaniem automatycznej płuczki (Biochrom Ltd., Cambridge, Wielka Brytania) (Ryc. 15A), a następnie dodawano do dołków koniugat zawierający monoklonalne (NGAL, Cys C, CLU, RBP-4) lub poliklonalne (KIM-1 w surowicy, KIM-1 w moczu, CXCL-10, OPN, TFF3) przeciwciała specyficzne względem danego biomarkera (200

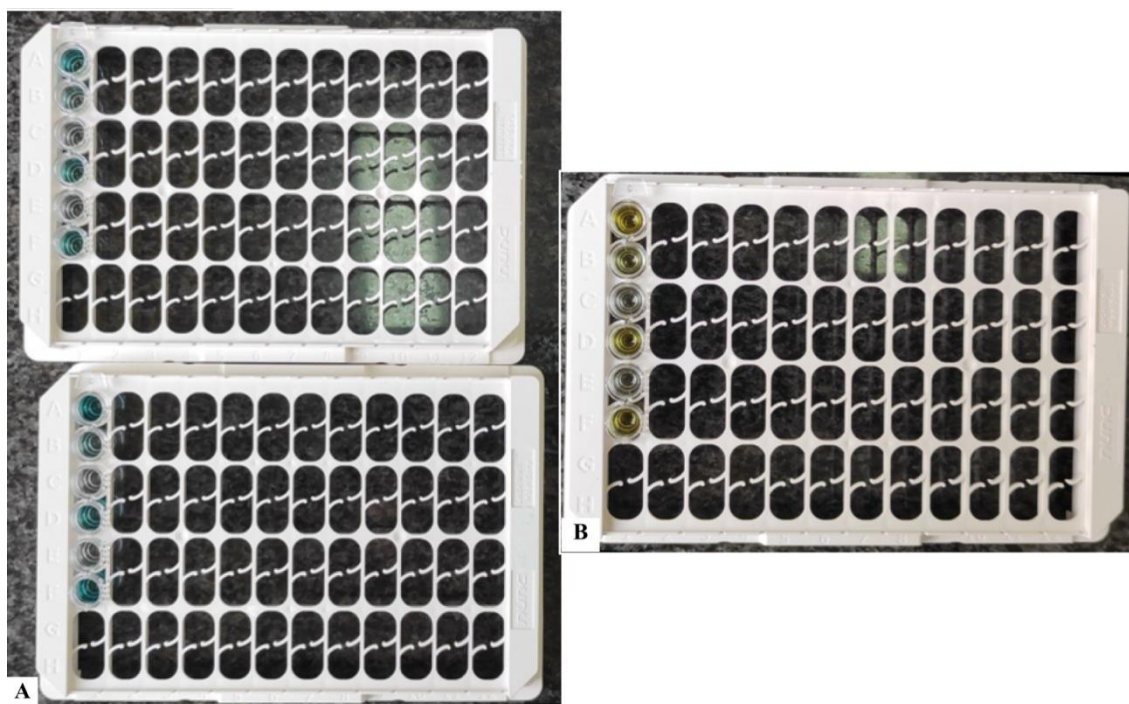
μ l). Przeciwciała wykorzystywane do oznaczenia NGAL i Cys C były uprzednio schłodzone. Płytki zaklejano folią i ponownie inkubowano:

- dwie godziny w temperaturze pokojowej (KIM-1 w moczu, CXCL-10, OPN),
- dwie godziny w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (500 ± 50 rpm) (KIM-1 w surowicy, CLU i TFF3),
- jedną godzinę w temperaturze pokojowej na wytrząsarce (500 rpm) (RBP-4),
- dwie godziny w temperaturze $2-8\text{ C}^\circ$ (NGAL)
- godzinę w temperaturze $2-8\text{ C}^\circ$ (Cys C).

Następnie płytkę trzykrotnie przepłukiwano jak uprzednio i dodawano $200\ \mu$ l substratu TMB, a następnie inkubowano przez 30 min. w zaciemnionym miejscu w temperaturze pokojowej (Ryc. 16A). Po tym czasie dodawano roztwór hamujący reakcję w objętości $50\ \mu$ l i mieszano pipetą aż do zmiany zabarwienia z niebieskiej na żółtą (Ryc.16B). Do odczytu wyniku wykorzystano aparat AsysExpert 96 Microplate (Biochrom Ltd., Cambridge, Wielka Brytania) (Ryc. 15B). Odczyt następował w ciągu 30 min. od wykonania testu przy długości fali 450 nm przy 4 punktowej krzywej standardowej.



Ryc. 15. Automatyczna płuczka do płukania testów ELISA (A) i czytnik do odczytu testów ELISA (B)



Ryc. 16. Zmiana zabarwienia w studzienkach po dodaniu substratu (A) i po dodaniu roztworu hamującego reakcję (B)

Oznaczenia w zależności od rodzaju biomarkera zostały wykonane i zinterpretowane zgodnie z zaleceniami producenta (R&D Systems, USA). Jednostki, zakres oraz wrażliwość testów zostały zestawione w tabeli 4.

Tabela 3. Rozcieńczenia biomarkerów wykorzystane w prezentowanych badaniach w testach ELISA

Biomarker	rozcieńczenie surowicy lub osocza*	rozcieńczenie moczu
NGAL	20-krotne	brak
KIM-1 w surowicy	brak	-
KIM-1 w moczu	-	brak
CXCL-10	brak	brak
OPN	25-krotne*	brak
Cys C	30-krotne	brak
RBP-4	1000-krotne	5-krotne
TFF3	50-krotne	200-krotne
CLU	2000-krotne	4-krotne

Tabela 4. Jednostki, zakres oraz wrażliwość biomarkerów wykorzystane w prezentowanych badaniach w testach ELISA i Luminex (R&d Systems, USA)

Biomarker	Rodzaj testu					
	ELISA			Luminex		
	jednostki	zakres testu	wrażliwość	jednostki	zakres testu	wrażliwość
NGAL	ng/ml	0,2–10,0	0,04	pg/ml	49,50- 36,10	63,10
KIM-1	w surowicy	pg/ml	10,9–700,0	3,63	159,0- 116,0	16,30
	w moczu	ng/ml	0,2–10,0	0,05		
CXCL-10	pg/ml	7,8–500,0	4,46		4,27- 3,11	0,69
OPN	ng/ml	0,3–20,0	0,02		405,0- 295,5	247,0
Cys C	ng/ml	3,1–100,0	0,23		664,0- 483,8	57,10
RBP-4	ng/ml	1,6–100,0	0,63		65,00- 47,40	124,0
TFF3	pg/ml	39,0- 2,50	13,10		15,10- 11,00	11,50
CLU	ng/ml	3,1–200,0	1,05		664,0- 483,8	64,30

3.4. Analiza statystyczna

Analizę statystyczną wyników wykonano z wykorzystaniem programu Statistica 13.3 (Statistica PL, StatSoft). Zbadano rozkład danych za pomocą testu Shapiro-Wilka z uwzględnieniem podziału na grupy badaną i kontrolną oraz oddzielnie dla wartości zmiennych uzyskanych w pierwszym dniu (A), po pół roku (B) i rok po (C) przeszczepie nerki. Oceniane zmienne cechował rozkład odbiegający od normalnego, dlatego dane prezentowano w tabelach oraz na wykresach w postaci mediany, wartości minimalnej i maksymalnej oraz dolnego i górnego kwartyła, a testy wykorzystywane w analizach były nieparametryczne.

4. Wyniki

4.1. Wartości biomarkerów oznaczonych metodami ELISA i Luminex

W tabelach 5 i 6 przedstawiono stężenia biomarkerów oznaczonych w surowicy i moczu pacjentów dzień, pół roku i rok po przeszczepieniu nerek, natomiast w tabeli 7 przedstawiono dane dotyczące stężenia badanych biomarkerów w grupie kontrolnej. Przedstawiono mediany oraz kwartył dolny i kwartył górny.

Do porównania stężeń biomarkerów uzyskanych z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya. Porównanie wykonano pomiędzy stężeniami uzyskanymi u pacjentów w grupie badanej odrębnie dla pobrania materiału w pierwszym dniu (A), po pół roku (B) i rok po przeszczepie nerki (C) oraz grupy kontrolnej. W tabeli 8 i 9 przedstawiono analizę porównawczą stężeń markerów oznaczonych metodą ELISA i Luminex.

Tabela 5. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu lub moczu badanych pacjentów pobranych dzień, pół i rok po przeszczepie nerek ocenianych z wykorzystaniem metody ELISA (Med., mediana; Q_d, dolny kwartył; Q_g, górny kwartył)

Biomarker	Czas po przeszczepieniu nerek					
	Dzień		Pół roku		Rok	
	surowica/osocze*	mocz	surowica/osocze*	mocz	surowica/osocze*	mocz
	Med. (Q _d -Q _g)	Med. (Q _d -Q _g)	Med. (Q _d -Q _g)	Med. (Q _d -Q _g)	Med. (Q _d -Q _g)	Med. (Q _d -Q _g)
NGAL (w ng/ml)	294,6 (234,8-332,5)	17,41 (6,49-23,55)	66,98 (32,62-146,0)	5,32 (2,61-12,10)	119,3 (64,14-145,0)	4,25 (3,36-10,28)
KIM-1	203,1 pg/ml (114,7-430,7)	1,42 ng/ml (0,63-1,88)	233,4 pg/ml (160,3-327,1)	0,47 ng/ml (0,22-1,17)	194,3 pg/ml (136,2-266,5)	0,30 ng/ml (0,11-1,00)
CXCL-10 (w pg/ml)	126,0 (84,39-227,3)	51,35 (15,78-134,88)	156,6 (103,0-318,0)	16,80 (11,86-47,06)	153,0 (124,2-400,5)	14,80 (6,74-33,08)
OPN (w ng/ml)	174,6* (114,4-242,6)	134,9 (47,80-348,05)	84,65* (74,95-163,1)	169,2 (73,85-446,4)	72,48* (48,90-110,3)	163,0 (87,63-573,5)
Cys C (w ng/ml)	3110 (2681,4-4665)	135,6 (18,47-185,7)	1602 (1215-2248)	18,69 (3,91-29,96)	1653 (1104-2418)	11,04 (4,37-47,50)
RBP-4 (w mg/l)	79,66 (66,46-98,12)	62,52 (43,47-85,69)	63,10 (56,32-70,99)	14,79 (2,75-91,14)	56,94 (42,38-81,36)	26,65 (1,23-78,52)
TFF3 (w ng/ml)	63,65 (31,51-82,58)	210,4 (66,62-273,9)	15,73 (12,76-24,89)	106,5 (43,38-268,1)	16,22 (10,54-20,94)	95,16 (54,80-290,8)
CLU	423,3 µg/ml (310,3-538,7)	11,88 ng/ml (4,63-261,2)	353,9 µg/ml (323,0-445,4)	5,26 ng/ml (2,17-66,47)	371,4 µg/ml (300,7-422,9)	3,68 ng/ml (2,00-19,66)

Tabela 6. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu lub moczu badanych pacjentów pobranych dzień, pół i rok po przeszczepie nerek ocenianych z wykorzystaniem metody metodą Luminex (Med., mediana; Q_d, dolny kwartył; Q_g, górny kwartył)

Biomarker	Czas po przeszczepieniu nerek					
	Dzień		Pół roku		Rok	
	surowica Med. (Q _d -Q _g)	mocz Med. (Q _d -Q _g)	surowica Med. (Q _d -Q _g)	mocz Med. (Q _d -Q _g)	surowica Med. (Q _d -Q _g)	mocz Med. (Q _d -Q _g)
NGAL (w ng/ml)	231,7 (134,7-325,6)	81,64 (19,18-225,0)	68,90 (52,8-206,7)	15,13 (7,46-39,82)	158,6 (66,65-212,3)	10,83 (5,58-87,66)
KIM-1	272,3 pg/ml (207,3-344,6)	0,27 ng/ml (0,21-0,34)	272,3 pg/ml (209,3-423,8)	0,15 ng/ml (0,10-0,22)	222,3 pg/ml (207,3-344,6)	0,15 ng/ml (0,10-0,27)
CXCL-10 (w pg/ml)	138,4 (80,76-230,7)	83,28 (29,85-218,3)	203,4 (67,94-255,5)	29,89 (19,90-43,44)	121,9 (75,27-298,4)	34,59 (13,04-51,33)
OPN (w ng/ml)	127,4 (97,94-174,4)	176,3 (85,10-328,2)	85,07 (56,56-132,3)	215,31 (99,63-349,5)	63,97 (33,23-86,39)	195,9 (77,53-673,8)
Cys C (w ng/ml)	4036 (2963-5553)	136,5 (48,82-179,5)	1984 (1760-2655)	30,19 (10,23-65,63)	2153 (1288-2848)	27,96 (6,11-69,06)
RBP-4 (w mg/l)	60,59 (26,60-103,1)	0,79 (0,52-0,92)	40,53 (21,64-58,23)	0,36 (0,05-0,63)	32,17 (17,46-61,40)	0,29 (0,05-0,71)
TFF3 (w ng/ml)	9,79 (8,24-21,46)	35,39 (14,85-72,29)	3,52 (2,71-6,78)	34,90 (16,13-76,40)	4,87 (2,76-6,97)	39,11 (19,64-83,27)
CLU	494,2 µg/ml (285,5-632,1)	119,1 ng/ml (42,55-410,6)	328,5 µg/ml (248,0-459,0)	7,54 ng/ml (3,6-89,12)	289,9 µg/ml (197,1-425,9)	10,05 ng/ml (3,37-24,58)

Tabela 7. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu i moczu pacjentów z grupy kontrolnej oceniane metodą ELISA i Luminex (Med., mediana; Q_d, dolny kwartył; Q_g, górny kwartył)

Biomarker	Metoda ELISA		Metoda Luminex	
	surowica/osocze* Med. Q_d-Q_g	mocz Med. (Q_d-Q_g)	surowica Med. (Q_d-Q_g)	mocz Med. (Q_d-Q_g)
NGAL (w ng/ml)	47,12 (42,26-49,12)	1,79 (1,26-2,66)	94,03 (91,88-104,0)	2,14 (1,86-3,92)
KIM-1	33,50 pg/ml (18,10-38,38)	0,03 ng/ml (0,01-0,04)	128,3 pg/ml (72,25-144,6)	0,06 ng/ml (0,03-0,08)
CXCL-10 (w pg/ml)	88,61 (68,12-90,03)	17,74 (15,46-21,58)	75,75 (65,27-90,57)	9,61 (9,61-16,48)
OPN (w ng/ml)	47,53* (38,13-56,90)	280,9 (205,4-309,1)	55,42 (24,16-58,80)	188,0 (169,0-336,7)
Cys C (w ng/ml)	721,7 (690,5-758,1)	9,36 (3,24-13,52)	1372 (1189-1590)	59,30 (37,00-60,70)
RBP-4 (w mg/l)	51,62 (30,29-75,21)	16,38 (12,37-26,42)	12,00 (9,10-13,58)	0,02 (0,01-0,04)
TFF3 (w ng/ml)	7,84 (6,11-8,17)	89,26 (79,72-90,78)	3,18 (2,10-3,86)	31,95 (23,88-37,78)
CLU	230,5 µg/ml (204,7-307,1)	2,55 ng/ml (2,48-4,87)	215,1 µg/ml (194,3-348,0)	0,09 ng/ml (0,09-0,18)

Stwierdzono istotną różnicę w stężeniu biomarkerów oznaczonych w surowicy – NGAL ($p=0,001$), KIM-1 ($p=0,001$), Cys C ($p=0,001$), RBP-4 ($p=0,039$), TFF3 ($p=0,001$) i CLU ($p=0,033$), osoczu – OPN ($p=0,001$) oraz moczu – NGAL ($p=0,002$), KIM-1 ($p=0,001$), Cys C ($p=0,007$) i RBP-4 ($p=0,010$) pobranych w pierwszym dniu po przeszczepie u pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej oznaczonych metodą ELISA. Po pół roku po przeszczepie istotne różnice wykazano w surowicy – KIM-1 ($p=0,001$), CXCL-10 ($p=0,033$), Cys C ($p=0,001$) i TFF3 ($p=0,009$), osoczu – OPN ($p=0,004$) oraz moczu – NGAL ($p=0,039$) i KIM-1 ($p=0,002$). Natomiast po roku po przeszczepieniu podobne zależności wykazano w surowicy – NGAL ($p=0,028$), KIM-1 ($p=0,002$), CXCL-10 ($p=0,002$), Cys C ($p=0,001$) i TFF3 ($p=0,013$) oraz moczu – KIM-1 ($p=0,002$).

Tabela 8. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów grupy badanej w różnym czasie od przeszczepu nerki i grupy kontrolnej uzyskanych z wykorzystaniem metody ELISA (GB, grupa badana; GK, grupa kontrolna; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; U, wartość testu Manna-Whitneya dla grup o małej liczebności; p, poziom istotności p=0,05)

Zmienna	Metoda ELISA											
	A				B				C			
	Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya		Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya		Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya	
		U	p			U	p			U	p	
NGAL w surowicy	285	15	0	0,001	254	46	31	0,255	269	31	16	0,028
NGAL w moczu	281	19	4	0,002	267	33	18	0,039	263	36	21	0,070
KIM-1 w surowicy	283	17	2	0,001	285	15	0	0,001	282	18	3	0,002
KIM-1 w moczu	285	15	0	0,001	281	19	4	0,002	282	18	3	0,002
CXCL-10 w surowicy	260	40	25	0,118	268	32	17	0,033	281	19	4	0,002
CXCL-10 w moczu	261	39	24	0,102	238	62	47	1,000	234	66	44	0,831
OPN w osoczu	284	16	1	0,001	279	21	6	0,004	263	37	22	0,076
OPN w moczu	220	81	29	0,214	227	73	37	0,477	230	70	40	0,619
Cys C w surowicy	285	15	0	0,001	285	15	0	0,001	285	15	0	0,001
Cys C w moczu	276	24	9	0,007	247	53	38	0,522	247	53	38	0,522
RBP-4 w surowicy	267	33	18	0,039	251	49	34	0,355	246	54	39	0,570
RBP-4 w moczu	274	26	11	0,010	238	62	47	1,000	242	58	43	0,776
TFF3 w surowicy	284	16	1	0,001	275	25	10	0,009	273	27	12	0,013
TFF3 w moczu	256	44	29	0,201	239	61	46	0,943	243	57	42	0,722
CLU w surowicy	268	32	17	0,033	264	36	21	0,065	262	38	23	0,088
CLU w moczu	263	37	22	0,076	248	52	37	0,477	241	59	44	0,831

Stwierdzono istotną różnicę w stężeniu biomarkerów oznaczonych w surowicy – NGAL (p=0,010), KIM-1 (p=0,001), OPN (p=0,001), Cys C (p=0,004), RBP-4 (p=0,001) i TFF3 (p=0,004) oraz moczu – NGAL (p=0,001), KIM-1 (p=0,003), CXCL-10 (p=0,014), RBP-4 (p=0,001) i CLU (p=0,001) pobranych w pierwszym dniu po przeszczepie u pacjentów w porównaniu do grupy kontrolnej oznaczonych metodą Luminex. Po pół roku po przeszczepie istotne różnice wykazano w surowicy – KIM-1 (p=0,001), OPN (p=0,023), Cys C (p=0,013) i RBP-4 (p=0,001) oraz moczu – NGAL (p=0,023), KIM-1 (p=0,023), CXCL-10 (p=0,047), RBP-4 (p=0,007) i CLU (p=0,001). Natomiast po roku po przeszczepieniu podobne zależności wykazano w surowicy – KIM-1 (p=0,001) Cys C (p=0,039) i RBP-4 (p=0,007) oraz moczu – KIM-1 (p=0,013), RBP-4 (p=0,028) i CLU (p=0,001).

Tabela 9. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów grupy badanej w różnym czasie od przeszczepu nerki i grupy kontrolnej uzyskanych z wykorzystaniem metody Luminex (A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; U, wartość testu Manna-Whitneya dla grup o małej liczebności; p, poziom istotności p=0,05)

Zmienna	Metoda Luminex											
	A				B				C			
	Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya U	p	Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya U	p	Suma rang GB	Suma rang GK	U Manna- Whitneya U	p
NGAL w surowicy	274	26	11	0,010	222	78	32	0,286	248	52	37	0,477
NGAL w moczu	283	17	2	0,001	270	30	15	0,023	261	39	24	0,102
KIM-1 w surowicy	284	16	1	0,001	285	16	1	0,001	284	16	1	0,001
KIM-1 w moczu	280	21	6	0,003	270	30	15	0,023	273	27	12	0,013
CXCL-10 w surowicy	265	36	21	0,060	261	40	25	0,110	263	38	23	0,082
CXCL-10 w moczu	273	28	13	0,014	266	34	19	0,047	256	45	30	0,214
OPN w surowicy	284	17	2	0,001	270	30	15	0,023	258	42	27	0,155
OPN w moczu	225	75	35	0,394	230	70	40	0,619	238	62	47	1,000
Cys C w surowicy	279	21	6	0,004	273	27	12	0,013	267	33	18	0,039
Cys C w moczu	262	38	23	0,088	221	79	31	0,255	225	75	35	0,394
RBP-4 w surowicy	285	15	0	0,001	283	17	2	0,001	276	24	9	0,007
RBP-4 w moczu	284	16	1	0,001	276	24	9	0,007	269	31	16	0,028
TFF3 w surowicy	279	21	6	0,004	253	47	32	0,286	258	42	27	0,155
TFF3 w moczu	242	58	43	0,776	239	61	46	0,943	246	54	39	0,570
CLU w surowicy	262	38	23	0,088	260	40	25	0,118	250	50	35	0,394
CLU w moczu	285	15	0	0,001	285	15	0	0,001	285	15	0	0,001

4.2. Zmiany wartości stężeń biomarkerów w czasie u pacjentów po przeszczepie nerki

Z uwagi na rozkład danych odbiegający od normalnego do analizy zmiany wartości stężenia badanych markerów w czasie, w pierwszym dniu (A), po pół roku (B) i rok po (C) przeszczepie nerki zastosowano nieparametryczny odpowiednik jednoczynnikowej analizy wariancji dla powtarzalnych pomiarów tj. test ANOVA Friedmana.

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość NGAL w surowicy pacjentów ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=25,68$; $p<0,0001$) (Tab. 10). Zaobserwowano spadek o około 70% wartości NGAL w surowicy pacjentów pół roku i rok po przeszczepie w porównaniu do wartości tego biomarkera w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Ponadto analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów NGAL w surowicy ocenianych metodą ELISA (0,68). Wykazano także istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość NGAL w moczu pacjentów ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=15,58$; $p<0,0001$). Zaobserwowano spadek o około 50% wartości NGAL w moczu pacjentów ocenianej pół roku i rok po przeszczepie nerki w porównaniu z wartością ocenianą w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów NGAL w moczu pacjentów ocenianych metodą ELISA (0,41). Podobne zależności zaobserwowano w przypadku oznaczeń wykonanych metodą fluorymetrii przepływowej. Wykazano wpływ czasu na wartość NGAL w surowicy oznaczaną metodą Luminex ($\chi^2=16,42$; $p<0,0001$). Stwierdzono spadek o około 40% wartości NGAL w surowicy pacjentów pół roku i rok po przeszczepie w porównaniu do wartości tego biomarkera uzyskanej w pierwszym dniu po przeszczepie nerek ($p<0,05$). Analiza współczynnika Kendalla wykazała zgodność wszystkich trzech pomiarów NGAL w surowicy ocenianych metodą Luminex (0,43). Również wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość NGAL w moczu ocenianą metodą Luminex ($\chi^2=18,49$; $p<0,0001$). Zaobserwowano spadek o około 60% wartości NGAL w moczu ocenianej pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu z wartościami tego parametru uzyskanymi w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Dodatkowo analiza wartości

współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów NGAL w moczu ocenianych metodą Luminex (0,49).

Tabela 10. Porównanie stężenia lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów			ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla	
				post-hoc Czas		ANOVA Friedmana			Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B				
test ELISA									
surowica	A	276,2	85,07		1,47*	$\chi^2=25,68$ $p<0,0001$	0,68		
	B	92,63	70,55	1,47*					
	C	106,5	50,81	1,37*	0,11				
mocz	A	14,68	7,62		1,05*	$\chi^2= 15,58$ $p<0,0001$	0,41		
	B	7,85	6,47	1,05*					
	C	6,87	6,08	1,16*	0,11				
metoda Luminex									
surowica	A	239,1	120,0		1,26*	$\chi^2= 16,42$ $p<0,0001$	0,43		
	B	110,7	85,68	1,26*					
	C	138,5	76,49	0,95*	0,32				
mocz	A	129,4	125,1		1,11*	$\chi= 18,49$ $p<0,0001$	0,49		
	B	47,02	78,13	1,11*					
	C	42,55	56,83	1,26*	0,16				

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość KIM-1 w moczu ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=13,58$; $p=0,001$) (Tab. 11). Zaobserwowano istotny spadek o około 40% wartości KIM-1 ocenianą w moczu pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu z wartościami tego parametru mierzonego w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Analiza

wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów KIM-1 w moczu ocenianych metodą ELISA (0,36). Również w przypadku analizy KIM-1 w moczu oznaczanego metodą Luminex zaobserwowano istotny wpływ czynnika czasu ($\chi^2=8,60$; $p=0,014$). Zaobserwowano spadek o 40% wartości KIM-1 w moczu pacjentów pół roku po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości KIM-1 ocenianej w pierwszym dniu po przeszczepie. Po roku od przeszczepienia narządu średnia wartość KIM-1 w moczu powróciła do wartości tego parametru notowanej w pierwszym dniu po przeszczepie nerki. Nie wykazano istotnego wpływ czynnika czasu po transplantacji nerki na wartość KIM-1 w surowicy oznaczaną metodą zarówno ELISA, jak Luminex.

Tabela 11. Porównanie stężenia cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy [pg/ml] i moczu [ng/ml] metodą ELISA i Luminex (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc Czas		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
surowica	A	283,6	220,7		0,05	$\chi^2=3,89$ $p=0,143$	0,10
	B	278,8	188,9	0,05			
	C	203,9	105,5	0,53	0,58		
mocz	A	1,46	1,04		0,95*	$\chi^2=13,58$ $p=0,001$	0,36
	B	0,85	0,85	0,95*			
	C	0,79	1,20	1,11*	0,16		
metoda Luminex							
surowica	A	292,2	128,6		0,21	$\chi^2=4,59$ $p=0,10$	0,12
	B	325,1	121,5	0,21			
	C	273,1	106,6	0,45	0,66		
mocz	A	0,26	0,13		0,74	$\chi^2=8,60$ $p=0,01$	0,23
	B	0,17	0,10	0,74			
	C	0,24	0,35	0,76	0,03		

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość CXCL-10 w moczu ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=11,79$; $p=0,003$) (Tab. 12). Zaobserwowano spadek o około 70% wartości CXCL-10 w moczu pacjentów pół roku i rok po transplantacji nerek w porównaniu z wartością tego biomarkera ocenianą w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów CXCL-10 w moczu ocenianych metodą ELISA (0,31). W przypadku wartości CXCL-10 w moczu oznaczonej metodą Luminex stwierdzono istotny wpływ czynnika czasu po wykonanej transplantacji nerki ($\chi^2=11,21$, $p=0,004$). Wykazano spadek wartości CXCL-10 w moczu pacjentów pół roku (o około 60%) i rok (40%) po przeszczepie nerek w porównaniu z wartością CXCL-10 ocenianą w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Nie stwierdzono wpływu czynnika czasu po transplantacji nerki na wartość CXCL-10 w surowicy oznaczanej metodą zarówno ELISA, jak Luminex.

Tabela 12. Porównanie stężenia chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [pg/ml] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc Czas		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
surowica	A	179,2	164,5		0,05	$\chi^2=2,00$ $p = 0,37$	0,05
	B	224,5	186,8	0,05			
	C	261,0	216,2	0,42	0,37		
mocz	A	102,7	124,2		0,84*	$\chi^2=11,79$ $p=0,003$	0,31
	B	34,37	43,00	0,84*			
	C	34,71	47,17	1,05*	0,21		
metoda Luminex							
surowica	A	276,3	480,0		0,05	$\chi^2=0,74$ $p=0,692$	0,19
	B	238,7	219,1	0,05			
	C	180,8	113,2	0,21	0,26		
mocz	A	134,5	134,4		0,82*	$\chi^2=11,21$ $p=0,004$	0,30
	B	46,39	45,58	0,82*			
	C	77,15	177,5	1*	0,18		

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość OPN w osoczu ocenianego metodą ELISA ($\chi^2=19,05$; $p<0,0001$) (Tab. 13). Zaobserwowano istotny spadek wartości OPN w osoczu o około 40% pół roku po przeszczepie i o około 50% rok po przeszczepie nerek w porównaniu z wartością OPN ocenianą w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów OPN w osoczu ocenianych metodą ELISA (0,50). Wykazano także istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość OPN w moczu ocenianego metodą ELISA ($\chi^2=24,00$; $p<0,0001$). Zaobserwowano wzrost wartości OPN w moczu pacjentów ocenianego pół roku po przeszczepie (o około 20%) i rok po przeszczepie (o

około 30%) w porównaniu do wartości w pierwszym dniu po przeszczepie nerki. Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów OPN w moczu ocenianych metodą ELISA (0,63). Wpływ czasu jako czynnik na OPN w surowicy oznaczany metodą Luminex był istotny statystycznie ($\chi^2=24,00$; $p<0,0001$). Stwierdzono istotny spadek wartości OPN w surowicy pacjentów o około 40% pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości notowanych w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Analiza współczynnika Kendalla wykazała zgodność wszystkich trzech pomiarów (0,63). Wpływ czynnika czasu po transplantacji nerki na wartość OPN w moczu oznaczanego metodą Luminex nie był istotny statystycznie.

Tabela 13. Porównanie stężenia osteopontyny (OPN) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy/osoczu i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc Czas		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
osocze	A	189,4	100,0		1*	$\chi^2=19,05$ $p<0,0001$	0,50
	B	126,0	85,03	1*			
	C	86,49	49,95	1,37*	0,37		
mocz	A	200,5	188,4		0,53	$\chi^2=24,00$ $p<0,0001$	0,63
	B	254,7	231,3	0,53			
	C	280,8	238,2	0,58	0,05		
metoda Luminex							
surowica	A	152,5	90,80		0,95*	$\chi^2=24,00$ $p<0,0001$	0,63
	B	90,87	41,34	0,95*			
	C	70,04	43,52	1,58*	0,63		
mocz	A	211,2	163,6		0,42	$\chi^2=2,95$ $p=0,230$	0,08
	B	290,7	278,0	0,42			
	C	410,6	479,0	0,53	0,11		

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość Cys C w surowicy ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=23,47$; $p<0,0001$) (Tab. 14). Zaobserwowano istotny spadek wartości Cys C w surowicy pacjentów o około 50% pół roku i rok po przeszczepie w porównaniu do średniej wartości tego parametru ocenianego w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów Cys C w surowicy ocenianych metodą ELISA (0,62). Wykazano także istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość Cys C w moczu ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=23,05$; $p<0,0001$). Zaobserwowano spadek o około 70% wartości Cys C w moczu pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerki w porównaniu do wartości tego parametru ocenianego w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów Cys C w moczu ocenianych metodą ELISA (0,61). Podobne zależności były obserwowane w przypadku oznaczeń wykonanych metodą fluorymetrii przepływowej. Wpływ czasu jako czynnika na Cys C w surowicy oznaczany metodą Luminex był istotny statystycznie ($\chi^2=18,00$; $p<0,0001$). Stwierdzono istotny spadek o około 50% wartości Cys C w surowicy pacjentów pół roku i rok po transplantacji nerek w porównaniu do wartości stwierdzonej pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Analiza współczynnika Kendalla wykazała zgodność wszystkich trzech pomiarów Cys C w surowicy ocenianych metodą Luminex (0,47). Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość Cys C w moczu ocenianą metodą Luminex ($\chi^2=10,21$; $p=0,006$). Zaobserwowano istotny spadek wartości Cys C w moczu pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerki odpowiednio o około 70 i 60% w porównaniu do wartości Cys C ocenianej w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$).

Tabela 14. Porównanie stężenia cystatyny C (Cys C) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc Czas		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
surowica	A	3512,6	1190,4		1,47*	$\chi^2=23,47$ $p<0,0001$	0,62
	B	1736,1	585,6	1,47*			
	C	1817,8	748,0	1,21*	0,26		
mocz	A	132,2	106,8		1,26*	$\chi^2=23,05$ $p<0,0001$	0,61
	B	21,4	23,3	1,26*			
	C	39,4	64,84	1,42*	0,16		
metoda Luminex							
surowica	A	4681,6	2416,3		1,26*	$\chi^2=18,00$ $p<0,0001$	0,47
	B	2102,0	621,27	1,26*			
	C	2354,3	1220,2	1,11*	0,16		
mocz	A	133,7	80,26		1,26*	$\chi^2=10,21$ $p=0,006$	0,27
	B	38,24	31,51	1,26*			
	C	48,06	53,58	1,42*	0,16		

Zaobserwowano istotny wpływ czynnika czasu po transplantacji nerki na wartość RBP-4 w surowicy ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=10,21$; $p=0,006$) (Tab. 15). Zaobserwowano spadek wartości RBP-4 o około 20% w surowicy pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerki w porównaniu do wartości tego białka mierzonego w surowicy pobranej w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Wykazano także istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość RBP-4 w moczu ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=8,53$; $p=0,014$). Zaobserwowano spadek wartości RBP-4 o około 40% w moczu u pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości tego parametru odnotowanego w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Podobne zależności zostały wykazane w przypadku oznaczeń wykonanych metodą fluorymetrii przepływowej. Wpływ czasu jako czynnika na RBP-4

w surowicy oznaczany metodą Luminex był istotny statystycznie ($\chi^2=8,84$; $p=0,012$). Stwierdzono spadek o około 40% wartości RBP-4 w surowicy pacjentów pół roku i rok po transplantacji nerek w porównaniu z wartością tego parametru w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Wykazano również istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość RBP-4 w moczu ocenianą metodą Luminex ($\chi^2=9,58$; $p=0,008$). Zaobserwowano spadek o około 40% wartości RBP-4 w moczu pacjentów pół roku i rok po przeszczepie w porównaniu do wartości ocenianej w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p<0,05$).

Tabela 15. Porównanie stężenia białka wiążącego retinol 4 (RBP-4) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [mg/l] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				post-hoc Czas A	B		
test ELISA							
surowica	A	79,81	19,34		0,74	$\chi^2=10,21$ $p=0,006$	0,27
	B	64,79	15,52	0,74			
	C	59,17	21,77	1,00*	0,26		
mocz	A	61,09	29,97		0,47	$\chi^2=8,53$ $p=0,014$	0,22
	B	35,97	39,83	0,47			
	C	33,06	35,41	0,95*	0,47		
metoda Luminex							
surowica	A	84,59	75,97		0,63	$\chi^2=8,84$ $p=0,012$	0,23
	B	54,30	49,63	0,63			
	C	47,43	57,94	0,95*	0,32		
mocz	A	0,70	0,29		0,58	$\chi^2=9,58$ $p=0,008$	0,25
	B	0,40	0,37	0,58			
	C	0,36	0,34	1,00*	0,42		

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość TFF3 w surowicy ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=22,84$; $p<0,0001$) (Tab. 16). Zaobserwowano spadek o około 70% wartości TFF3 w surowicy pacjentów pół roku i rok po transplantacji nerek do wartości uzyskanej w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Dodatkowo analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów TFF3 w surowicy ocenianych metodą ELISA (0,60). Wpływ czynnika czasu po transplantacji nerki na wartość TFF3 w moczu oznaczaną metodą ELISA oraz w surowicy i moczu oznaczaną metodą Luminex nie był istotny statystycznie. W przypadku TFF3 oznaczanego w surowicy metodą Luminex zmiana w czasie trzech pomiarów była nieistotna statystycznie. Analiza post-hoc wykazała istotny spadek wartości TFF3 w surowicy pacjentów o około 60% pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości tego parametru ocenianego w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$).

Tabela 16. Porównanie stężenia jelitowego czynnika trefoilowego 3 (TFF3) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml] (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności p=0,05). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc Czas		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
surowica	A	65,64	35,29		1,37*	$\chi^2=22,84$ p<0,0001	0,60
	B	18,32	9,52	1,37*			
	C	17,83	10,33	1,32*	0,05		
mocz	A	181,94	118,7		0,26	$\chi^2=0,73$ p=0,692	0,19
	B	157,56	145,8	0,26			
	C	186,0	185,3	0,21	0,05		
metoda Luminex							
surowica	A	14,96	10,79		0,89*	$\chi^2=0,95$ p=0,623	0,25
	B	5,09	3,41	0,89*			
	C	5,89	4,41	0,89*	1,79*		
mocz	A	46,78	36,07		0,16	$\chi^2=0,95$ p=0,623	0,29
	B	46,15	34,89	0,16			
	C	56,13	48,31	0,16	0,32		

Wykazano istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość CLU w moczu ocenianą metodą ELISA ($\chi^2=6,74$; p=0,034) (Tab. 17). Zaobserwowano spadek wartości CLU w moczu pacjentów pół roku i rok po transplantacji nerek odpowiednio o około 70 i 80% w porównaniu z wartością tego parametru w pierwszym dniu po przeszczepie (p<0,05). Wpływ czasu jako czynnika na RBP-4 w surowicy był istotny statystycznie w przypadku oznaczenia RBP-4 w surowicy metodą Luminex ($\chi^2=8,00$; p=0,018). Stwierdzono istotny spadek o około 30% wartości CLU w surowicy pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu z wartością uzyskaną w pierwszym dniu po przeszczepie (p<0,05). Wykazano również istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na

wartość CLU w moczu ocenianą metodą Luminex ($\chi^2=18,11$; $p<0,0001$). Zaobserwowano także istotny spadek wartości CLU w moczu pacjentów pół roku (o około 70%) i rok (o około 90%) po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości tego parametru ocenianego w pierwszym dniu po przeszczepie ($p<0,05$). Wartość współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów tylko w przypadku CLU w surowicy ocenianego metodą Luminex (0,48).

Tabela 17. Porównanie stężenia klusteryny (CLU) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy [$\mu\text{g/ml}$] i moczu [ng/ml] metodą ELISA i Luminex (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p=0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń biomarkera pomiędzy pomiarem A, B i C

Material	Czas	AM	SD	Wyniki testów post-hoc		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				A	B		
test ELISA							
surowica	A	415,86	126,22		0,5	$\chi^2=4,83$ $p=0,090$	0,13
	B	380,87	105,11	0,5			
	C	371,55	107,72	0,68	0,18		
mocz	A	140,37	234,54		0,42	$\chi^2=6,74$ $p=0,034$	0,18
	B	50,08	83,31	0,42			
	C	19,67	43,19	0,84*	0,42		
metoda Luminex							
surowica	A	456,72	203,40		0,74	$\chi^2=8,00$ $p=0,018$	0,21
	B	347,54	131,14	0,74			
	C	319,82	143,64	0,84*	0,11		
mocz	A	307,48	409,16		1,13*	$\chi^2=18,11$ $p<0,0001$	0,48
	B	79,17	177,98	1,13*			
	C	24,47	53,28	1,24*	0,11		

Stwierdzono istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość kreatyniny w surowicy ($\chi^2=26,59$; $p<0,0001$) (Tab. 18). Zaobserwowano istotny spadek o około 70% wartości kreatyniny w surowicy pacjentów pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości stwierdzonej w pierwszym dniu po

przeszczepie ($p < 0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów (0,70).

Tabela 18. Porównanie stężenia kreatyniny u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianego w surowicy (mg/dl) (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności $p = 0,05$). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich stężeń kreatyniny pomiędzy pomiarem A, B i C

	Czas	AM	SD	Wyniki testów		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				post-hoc			
				Czas A	Czas B		
Kreatynina w surowicy	A	4,68	2,86			$\chi^2 = 26,59$ $p < 0,0001$	0,70
	B	1,36	0,27	1,55*			
	C	1,37	0,28	1,29*	0,26		

Stwierdzono istotny wpływ czynnika czasu po wykonanym przeszczepie nerki na wartość eGFR ($\chi^2 = 20,32$; $p < 0,0001$) (Tab. 19). Zaobserwowano istotny wzrost o około 30% wartości eGFR pół roku i rok po przeszczepie nerek w porównaniu do wartości uzyskanych w pierwszym dniu po przeszczepie nerki ($p < 0,05$). Analiza wartości współczynnika Kendalla wykazała zgodność wykonanych trzech pomiarów (0,54).

Tabela 19. Porównanie poziomu eGFR (ml/min/1,73) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki (AM, średnia arytmetyczna; SD, odchylenie standardowe; A, pierwszy dzień po przeszczepie nerki; B, po pół roku po przeszczepie nerki; C, rok po przeszczepie nerki; *poziom istotności p=0,05). W wynikach testów post-hoc przedstawiono zmianę średnich wartości eGFR pomiędzy pomiarem A, B i C

	Czas	AM	SD	Wyniki testów		ANOVA Friedmana	Współczynnik zgodności Kendalla
				post-hoc			
				Czas A	Czas B		
eGFR	A	20,74	19,35		1,55*	$\chi^2=20,32$ p<0,0001	0,54
	B	54,42	12,03	1,55*			
	C	53,74	12,24	1,29*	0,26		

4.3. Analiza związków

Za pomocą współczynnika korelacji rang Spearmana ustalono zależności pomiędzy ocenianymi w badaniach parametrami. Związek analizowanych zmiennych oceniono odrębnie dla każdego z markerów uzyskanych w materiale pobranym w pierwszym dniu, pół roku i rok po przeszczepie nerki dla wszystkich badanych pacjentów oraz z uwzględnieniem podziału na płeć. Zbadano również związek pomiędzy wartościami stężenia badanych markerów, a stężeniem kreatyniny i eGFR w pobranym materiale w pierwszym dniu, pół roku i rok po przeszczepie nerki dla całej grupy badanej oraz z uwzględnieniem podziału na płeć.

4.3.1. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w surowicy metodą ELISA

Porównując wartości badanych biomarkerów oznaczonych w surowicy metodą ELISA u wszystkich pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepie nerki stwierdzono istotną dodatnią wartość współczynnika korelacji pomiędzy CXCL-10 a RBP-4 (p=0,008) oraz Cys C a CLU (p=0,034). Natomiast u badanych mężczyzn odnotowano istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL a TFF3 (p=0,016), KIM-1 a CXCL-10 (p=0,016) oraz CXCL-10 a Cys C (p=0,003). W grupie badanych kobiet wykazano dodatnią korelację pomiędzy TFF3 a CLU (p=0,050).

Porównanie badanych biomarkerów w surowicy metodą ELISA u badanych pacjentów pół roku po przeszczepie nerki wykazało istotną statystycznie dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 a Cys C ($p=0,048$), OPN a RBP-4 ($p=0,013$) oraz RBP-4 a CLU ($p=0,029$). Wykazano również ujemną korelację pomiędzy OPN a Cys C ($p=0,016$) oraz Cys C a RBP-4 ($p=0,001$). Natomiast w grupie mężczyzn wykazano dodatnią korelację pomiędzy OPN a Cys C ($p=0,013$), a ujemną pomiędzy Cys C a CLU ($p=0,002$). W przypadku kobiet wykazano dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 a TFF3 ($p = 0,050$).

Dokonując porównania badanych parametrów w surowicy pacjentów metodą ELISA rok od przeszczepienia nerki wykazano dodatnią korelację pomiędzy NGAL a Cys C ($p=0,013$), KIM-1 a OPN ($p=0,007$), KIM-1 a RBP-4 ($p=0,032$), OPN a RBP-4 ($p=0,028$) oraz Cys C a TFF3 ($p<0,0001$), natomiast ujemną zależność pomiędzy NGAL a CLU ($p=0,040$). W grupie mężczyzn stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy NGAL a Cys C ($p=0,009$) oraz Cys C a TFF3 ($p=0,006$), a u kobiet wykazano dodatnią korelację między Cys C a TFF3 ($p<0,001$) i ujemną między Cys C a CLU ($p=0,013$) oraz TFF3 a CLU ($p=0,002$).

4.3.2. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w moczu metodą ELISA

Stwierdzono istotną dodatnią wartość współczynnika korelacji pomiędzy stężeniem NGAL a CXCL-10 ($p=0,001$), Cys C ($p<0,0001$) oraz TFF3 ($p<0,0001$) w badanej grupie pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepie nerki. Po uwzględnieniu płci badanych, u mężczyzn stwierdzono, że wartość NGAL istotnie wzrastała wraz ze wzrostem CXCL-10 ($p<0,0001$), OPN ($p=0,004$), CysC ($p<0,0001$) oraz TFF3 ($p=0,008$). Zaobserwowano także istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 a OPN ($p=0,017$) i Cys C ($p=0,024$) w grupie wszystkich badanych pacjentów. Zauważono także, że stężenie CXCL-10 istotnie wzrastało wraz ze wzrostem RBP-4 ($p=0,008$) i CLU ($p=0,002$). Po uwzględnieniu płci, u badanych mężczyzn wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy CXCL-10 a OPN ($p=0,011$), Cys C ($p<0,0001$) i TFF3 ($p=0,004$). U wszystkich badanych pacjentów wykazano dodatnią korelację pomiędzy OPN a RBP-4 ($p=0,05$), a u mężczyzn zaobserwowano, że stężenie OPN istotnie wzrastało wraz ze wzrostem Cys C ($p=0,004$) i TFF3 ($p=0,038$). Wykazano również dodatni związek pomiędzy wartością stężenia Cys C a TFF3 ($p=0,040$). Tą

samą zależność, pomiędzy Cys C a TFF3 ($p=0,003$), stwierdzono u mężczyzn (Tab. 20, Tab. 21). Natomiast u kobiet nie wykazano istotnych związków pomiędzy biomarkerami z wyjątkiem ujemnej korelacji pomiędzy RBP-4 a TFF3 ($p=0,020$).

Tabela 20. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,38	1,04	0,68	0,001	0,37	0,123	0,83	<0,0001	0,30	0,205	0,75	<0,0001	0,21	0,393
KIM-1			0,40	0,091	0,54	0,017	0,51	0,024	0,11	0,652	0,14	0,581	0,27	0,257
CXCL-10					0,36	0,124	0,39	0,099	0,59	0,008	0,18	0,459	0,65	0,002
OPN							-0,03	0,892	0,46	0,050	0,44	0,063	0,35	0,137
Cys C									0,17	0,488	0,47	0,040	0,65	0,003
RBP-4											-0,18	0,468	0,06	0,808
TFF3													0,08	0,732

Tabela 21. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,59	0,070	0,93	$p<0,0001$	0,82	0,004	0,93	<0,0001	0,58	0,082	0,78	0,008	0,15	0,679
KIM-1			0,56	0,090	0,56	0,090	0,41	0,244	0,24	0,511	0,43	0,214	0,52	0,128
CXCL-10					0,76	0,011	0,96	<0,0001	0,44	0,200	0,82	0,004	0,43	0,214
OPN							0,82	0,004	0,60	0,067	0,66	0,038	0,05	0,881
Cys C									0,52	0,128	0,83	0,003	0,21	0,556
RBP-4											0,15	0,676	-0,03	0,934
TFF3													0,20	0,580

Stwierdzono istotny dodatni związek pomiędzy wartością stężenia NGAL a KIM-1 ($p=0,004$), CXCL-10 ($p=0,031$), Cys C ($p=0,011$), RBP-4 ($p=0,041$) i CLU ($p=0,037$) w grupie badanej ocenianej łącznie pół roku po przeszczepie nerki. Zauważono, że w grupie mężczyzn wartość NGAL istotnie wzrastała wraz ze wzrostem KIM-1 ($p=0,002$), OPN ($p=0,002$), Cys C ($p=0,022$), RBP-4 ($p=0,009$), TFF3 ($p=0,033$) i CLU ($p=0,002$). Zaobserwowano również istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 a CXCL-10 ($p<0,0001$), RBP-4 ($p=0,003$), TFF3 ($p=0,003$) i CLU ($p=0,004$). W grupie mężczyzn odnotowano, że stężenie KIM-1 wzrasta istotnie wraz ze wzrostem CXCL-10 ($p=0,013$), OPN ($p<0,0001$), Cys C ($p=0,002$), RBP-4 ($p=0,016$), TFF3 ($p=0,002$) i CLU ($p=0,002$). Wykazano istotny dodatni związek pomiędzy wartością stężenia CXCL-10 a Cys C ($p=0,044$). W badanej grupie mężczyzn stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy CXCL-10 a OPN ($p=0,019$). Wykazano także, że w grupie badanej ocenianej łącznie stężenie OPN wzrastało istotnie wraz ze wzrostem Cys C ($p=0,023$) oraz CLU ($p=0,015$). W grupie mężczyzn zaobserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy OPN a Cys C ($p=0,005$), RBP-4 ($p=0,034$), TFF3 ($p=0,006$) i CLU ($p=0,005$). U badanych pacjentów stwierdzono także istotną dodatnią zależność pomiędzy Cys C a RBP-4 ($p<0,0001$), TFF3 ($p=0,001$) i CLU ($p=0,001$). Podobnie istotne zależności pomiędzy Cys C a RBP-4 ($p<0,0001$), TFF3 ($p<0,0001$) i CLU ($p=0,006$) odnotowano w grupie mężczyzn. Istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 a TFF3 ($p=0,026$) i CLU ($p<0,0001$) stwierdzono u badanych pacjentów. Podobną zależność stwierdzono w grupie mężczyzn, pomiędzy RBP-4 a TFF3; ($p=0,004$) i CLU ($p=0,004$). Wykazano także, że wraz ze wzrostem RBP-4 istotnie wzrasta CLU ($p=0,006$) u pacjentów po przeszczepie nerki ($n=19$). Taką samą istotną zależność obserwowano w grupie mężczyzn, pomiędzy RBP-4 a CLU ($p=0,009$) (Tab. 22, Tab. 23). W grupie kobiet odnotowano jedynie istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 i TFF3 ($p=0,005$).

Tabela 22. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,63	0,004	0,49	0,031	0,31	0,198	0,57	0,011	0,47	0,041	0,38	0,106	0,48	0,037
KIM-1			0,73	<0,0001	0,16	0,523	0,37	0,116	0,65	0,003	0,64	0,003	0,63	0,004
CXCL-10					-0,01	0,960	0,47	0,044	0,25	0,297	0,03	0,915	0,17	0,495
OPN							0,52	0,023	0,42	0,075	0,24	0,332	0,55	0,015
Cys C									0,79	<0,0001	0,72	0,001	0,72	0,001
RBP-4											0,51	0,026	0,85	<0,0001
TFF3													0,60	0,006

Tabela 23. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	P	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,84	0,002	0,61	0,060	0,85	0,002	0,71	0,022	0,77	0,009	0,67	0,033	0,84	0,002
KIM-1			0,75	0,013	0,93	<0,0001	0,84	0,002	0,73	0,016	0,85	0,002	0,84	0,002
CXCL-10					0,72	0,019	0,42	0,229	0,25	0,489	0,43	0,214	0,36	0,310
OPN							0,80	0,005	0,67	0,034	0,79	0,006	0,80	0,005
Cys C									0,92	<0,0001	0,94	<0,0001	0,79	0,006
RBP-4											0,82	0,004	0,82	0,004
TFF3													0,77	0,009

Stwierdzono istotny dodatni związek pomiędzy wartością stężenia NGAL a KIM-1 ($p=0,005$), CXCL-10 ($p=0,001$), Cys C ($p<0,0001$), RBP-4 ($p<0,0001$) i TFF3 ($p=0,001$) w grupie badanej ocenianej bez podziału na płeć rok po przeszczepieniu nerki. W grupie mężczyzn wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy NGAL a CXCL-10 ($p=0,019$), Cys C ($p=0,002$), RBP-4 ($p=0,008$) i TFF3 ($p=0,019$). W grupie kobiet istotną zależność zaobserwowano pomiędzy NGAL a RBP-4 ($p=0,025$) i TFF3 ($p=0,020$). Odnotowano również istotny wzrost stężenia KIM-1 wraz ze wzrostem CXCL-10 ($p=0,019$), Cys C ($p=0,005$), RBP-4 ($p=0,004$) i TFF3 ($p<0,0001$) w grupie wszystkich badanych pacjentów. W grupie mężczyzn stwierdzono istotnie statystycznie dodatnią korelację pomiędzy KIM-1 a CXCL-10 ($p=0,029$) i CLU ($p=0,038$). W grupie kobiet natomiast odnotowano dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 a CXCL-10 ($p=0,025$) i TFF3 ($p=0,016$). Wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy CXCL-10 a Cys C ($p=0,001$), RBP-4 ($p=0,002$) i TFF3 ($p<0,0001$). W grupie mężczyzn istotną zależność stwierdzono pomiędzy CXCL-10 a Cys C ($p=0,004$), RBP-4 ($p=0,004$), TFF3 ($p=0,001$) i CLU ($p=0,033$). Stwierdzono również istotny dodatni związek pomiędzy CXCL-10 a TFF3 ($p<0,0001$) w grupie kobiet. Wykazano także, że stężenie Cys C wzrasta istotnie w grupie ocenianej łącznie wraz ze wzrostem RBP-4 ($p<0,0001$) i TFF3 ($p=0,002$). W grupie mężczyzn stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy Cys C a RBP-4 ($p<0,0001$), TFF3 ($p=0,008$) i CLU ($p=0,048$). Wykazano również istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 a TFF3 ($p<0,0001$). W grupie mężczyzn z kolei zaobserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 a TFF3 ($p=0,006$) i CLU ($p=0,019$). Nie wykazano korelacji pomiędzy OPN a innymi biomarkerami oznaczanymi w moczu po roku od przeszczepienia metodą ELISA (Tab. 24, Tab. 25, Tab. 26).

Tabela 24. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,61	0,005	0,71	0,001	0,38	0,113	0,75	<0,0001	0,77	<0,0001	0,70	0,001	0,29	0,229
KIM-1			0,68	0,001	0,44	0,057	0,61	0,005	0,63	0,004	0,73	<0,0001	0,42	0,076
CXCL-10					0,29	0,222	0,71	0,001	0,67	0,002	0,88	<0,0001	0,22	0,375
OPN							0,34	0,157	0,24	0,312	0,41	0,083	-0,25	0,293
Cys C									0,74	<0,0001	0,67	0,002	0,38	0,104
RBP-4											0,75	<0,0001	0,33	0,168
TFF3													0,22	0,375

Tabela 25. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,47	0,174	0,72	0,019	0,27	0,446	0,84	0,002	0,78	0,008	0,72	0,019	0,52	0,128
KIM-1			0,68	0,029	0,37	0,293	0,56	0,090	0,62	0,054	0,62	0,054	0,66	0,038
CXCL-10					0,14	0,701	0,82	0,004	0,82	0,004	0,87	0,001	0,67	0,033
OPN							0,30	0,405	0,13	0,726	0,35	0,328	-0,22	0,533
Cys C									0,92	<0,0001	0,78	0,008	0,64	0,048
RBP-4											0,79	0,006	0,72	0,019
TFF3													0,58	0,082

Tabela 26. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych kobiet po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,65	0,058	0,62	0,077	0,36	0,342	0,62	0,077	0,73	0,025	0,75	0,020	0,32	0,406
KIM-1			0,73	0,025	0,48	0,194	0,47	0,205	0,57	0,112	0,77	0,016	0,45	0,224
CXCL-10					0,39	0,295	0,47	0,205	0,43	0,244	0,95	<0,0001	0,20	0,606
OPN							0,33	0,391	0,32	0,404	0,42	0,262	-0,08	0,847
Cys C									0,37	0,332	0,52	0,154	0,37	0,332
RBP-4											0,63	0,067	0,15	0,700
TFF3													0,12	0,765

4.3.3. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w surowicy metodą Luminex

W przypadku oznaczenia biomarkerów w surowicy wszystkich badanych pacjentów z wykorzystaniem aparatu Luminex w pierwszym dniu po przeszczepie nerki stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy NGAL i Cys C ($p=0,021$), NGAL i TFF3 ($p=0,001$), Cys C i CLU ($p<0,0001$) oraz RBP-4 i TFF3 ($p=0,008$). W grupie tej stwierdzono także istotną ujemną korelację pomiędzy NGAL i CLU ($p=0,015$). Natomiast w grupie mężczyzn wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL i TFF3 ($p=0,004$), CXCL-10 i Cys C ($p=0,001$), Cys C i TFF3 ($p=0,002$) oraz RBP-4 i CLU ($p=0,038$). Z kolei w grupie tej istotną ujemną korelację odnotowano między NGAL i CLU ($p=0,009$). W przypadku grupy kobiet wykazano istotną ujemną korelację pomiędzy NGAL a RBP-4 ($p=0,013$).

Badanie surowicy pacjentów ($n=19$) z wykorzystaniem metody Luminex pół roku po przeszczepie nerek wykazało istotną dodatnią zależność pomiędzy CXCL-10 i TFF3 ($p=0,043$), Cys C i CLU ($p<0,0001$) oraz RBP-4 i TFF3 ($p<0,0001$). W grupie tej stwierdzono także istotną ujemną korelację pomiędzy KIM-1 i RBP-4 ($p=0,035$), KIM-1 i CLU ($p=0,016$), Cys C i TFF3 ($p=0,030$), Cys C i RBP-4 ($p=0,029$) oraz TFF3 i CLU ($p=0,039$). Natomiast w grupie mężczyzn wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy KIM-1 i RBP-4 ($p=0,036$), KIM-1 i CLU ($p=0,046$), Cys C i TFF3 ($p=0,001$) oraz RBP-4 i CLU ($p<0,0001$). A także istotną ujemną korelację między KIM-1 i Cys C ($p=0,022$) oraz KIM-1 i CLU ($p=0,046$). W przypadku grupy kobiet wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL i KIM ($p=0,045$), Cys C i TFF3 ($p=0,013$) oraz RBP-4 i CLU ($p=0,005$).

W przypadku oznaczenia biomarkerów w surowicy z wykorzystaniem metody Luminex u wszystkich badanych pacjentów rok po przeszczepie nerki wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy NGAL i TFF3 ($p=0,003$), natomiast ujemną istotną korelację pomiędzy NGAL i KIM-1 ($p=0,055$) oraz NGAL i CLU ($p=0,028$). W grupie mężczyzn stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL i TFF3 ($p=0,043$). U badanych pacjentów odnotowano istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 i RBP-4 ($p=0,004$) oraz KIM-1 i CLU ($p<0,0001$), natomiast ujemną istotną zależność pomiędzy KIM-1 i Cys C ($p=0,003$) oraz KIM-1 i TFF3 ($p=0,006$). W grupie mężczyzn zaobserwowano, że wraz ze wzrostem KIM-1 istotnie rośnie stężenie RBP-4 ($p=0,004$) i CLU ($p=0,009$), a ze spadkiem KIM-1 istotnie wzrasta stężenie Cys C ($p=0,005$).

U badanych pacjentów odnotowano istotną dodatnią zależność pomiędzy CXCL-10 i RBP-4 ($p=0,016$) oraz istotną ujemną zależność pomiędzy CXCL-10 i Cys C ($p=0,022$) oraz CXCL-10 i TFF3 ($p=0,034$). W grupie mężczyzn natomiast stwierdzono tylko istotną ujemną korelację pomiędzy CXCL-10 i Cys C ($p=0,035$) oraz CXCL-10 i TFF3 ($p=0,037$). U badanych pacjentów wykazano także istotną dodatnią korelację pomiędzy OPN i RBP-4 ($p=0,010$). Taką samą istotną zależność zaobserwowano w grupie mężczyzn ($p=0,007$). W grupie pacjentów po przeszczepie nerek stwierdzono istotny dodatni związek między Cys C i TFF3 ($p<0,0001$) oraz ujemny pomiędzy Cys C i CLU ($p=0,002$). W grupie mężczyzn wykazano takie same zależności między Cys C i TFF3 ($p<0,0001$) oraz Cys C i CLU ($p=0,002$). Ponadto w grupie wszystkich badanych pacjentów stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 i CLU ($p=0,023$) oraz ujemną pomiędzy TFF3 i CLU ($p=0,002$). W grupie mężczyzn wykazano istotną ujemną korelację pomiędzy TFF3 i CLU ($p=0,033$) (Tab. 27, Tab. 28). Natomiast w grupie kobiet stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 i CLU ($p=0,002$), CXCL-10 i RBP-4 ($p=0,001$) oraz Cys C i TFF3 ($p=0,016$) oraz ujemną pomiędzy KIM-1 i TFF3 ($p=0,017$) oraz TFF3 i CLU ($p=0,025$).

Tabela 27. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w surowicy metodą Luminex u badanych po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	-0,45	0,055	-0,39	0,097	-0,17	0,488	0,41	0,084	-0,43	0,066	0,64	0,003	-0,50	0,028
KIM-1			0,44	0,057	0,30	0,214	-0,65	0,003	0,62	0,004	-0,60	0,006	0,80	<0,0001
CXCL-10					0,33	0,169	-0,52	0,022	0,54	0,016	-0,49	0,034	0,38	0,113
OPN							-0,13	0,604	0,57	0,010	-0,17	0,493	0,27	0,260
Cys C									-0,35	0,141	0,81	0,000	-0,65	0,002
RBP-4											-0,37	0,115	0,52	0,023
TFF3													-0,66	0,002

Tabela 28. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w surowicy metodą Luminex u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	-0,35	0,327	-0,43	0,213	-0,34	0,336	0,59	0,074	-0,42	0,229	0,65	0,043	-0,49	0,150
KIM-1			0,57	0,087	0,47	0,168	-0,80	0,005	0,69	0,028	-0,61	0,059	0,77	0,009
CXCL-10					0,13	0,724	-0,67	0,035	0,47	0,172	-0,66	0,037	0,35	0,318
OPN							-0,24	0,510	0,79	0,007	-0,09	0,802	0,51	0,132
Cys C									-0,49	0,150	0,90	<0,0001	-0,84	0,002
RBP-4											-0,22	0,533	0,54	0,108
TFF3													-0,67	0,033

4.3.4. Analiza związków pomiędzy biomarkerami ocenianymi w moczu metodą Luminex

W przypadku oznaczenia biomarkerów w moczu z wykorzystaniem metody Luminex u badanych pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepie nerek stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy NGAL i CXCL-10 ($p < 0,0001$) oraz OPN ($p = 0,028$) i TFF3 ($p < 0,0001$). W grupie mężczyzn wykazano, że wraz ze wzrostem NGAL istotnie wzrastało stężenie KIM-1 ($p = 0,028$), CXCL-10 ($p = 0,002$), OPN ($p = 0,002$), Cys C ($p = 0,013$) i TFF3 ($p < 0,0001$). Zauważono, że KIM-1 istotnie dodatnio korelowało z OPN ($p = 0,015$), RBP-4 ($p = 0,031$) i CLU ($p = 0,021$) u badanych pacjentów po przeszczepie nerki. Natomiast w grupie mężczyzn stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 i CXCL-10 ($p = 0,003$), OPN ($p = 0,005$), Cys C ($p < 0,0001$), TFF3 ($p = 0,044$) oraz CLU ($p = 0,019$). U badanych pacjentów zauważono także istotny dodatni związek pomiędzy CXCL-10 i OPN ($p = 0,011$), Cys C ($p < 0,0001$), RBP-4 ($p = 0,012$) oraz CLU ($p < 0,0001$). Natomiast w grupie mężczyzn odnotowano istotną dodatnią korelację pomiędzy CXCL-10 i OPN ($p < 0,0001$), Cys C ($p = 0,002$) oraz TFF3 ($p = 0,009$). Zauważono, że OPN wykazywał istotną dodatnią zależność z RBP-4 ($p = 0,015$) i CLU ($p = 0,012$), a w grupie mężczyzn stwierdzono istotną dodatnią korelację z Cys C ($p = 0,005$) i TFF3 ($p = 0,013$). U badanych pacjentów stwierdzono także istotną dodatnią korelację pomiędzy Cys C i TFF3 ($p = 0,013$). W grupie mężczyzn zauważono, że wraz ze wzrostem Cys C istotnie wzrastało stężenie RBP-4 ($p = 0,038$) (Tab. 29, Tab. 30). W przypadku grupy kobiet wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL i CXCL-10 ($p = 0,007$), a także NGAL i TFF3 ($p = 0,002$), CXCL-10 i OPN ($p = 0,030$) oraz CXCL-10 i TFF3 ($p = 0,004$).

Tabela 29. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,41	0,081	0,77	<0,0001	0,50	0,028	0,39	0,094	-0,05	0,853	0,88	<0,0001	0,51	0,026
KIM-1			0,42	0,073	0,55	0,015	0,40	0,088	0,49	0,031	0,17	0,474	0,53	0,021
CXCL-10					0,57	0,011	0,82	<0,0001	0,57	0,012	0,16	0,504	0,74	<0,0001
OPN							0,29	0,229	0,55	0,015	0,31	0,190	0,56	0,012
Cys C									0,34	0,161	0,56	0,013	0,30	0,218
RBP-4											-0,24	0,318	-0,13	0,586
TFF3													0,44	0,058

Tabela 30. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,69	0,028	0,85	0,002	0,84	0,002	0,75	0,013	0,32	0,365	0,94	<0,0001	0,41	0,244
KIM-1			0,83	0,003	0,81	0,005	0,91	<0,0001	0,39	0,270	0,64	0,044	0,72	0,019
CXCL-10					0,96	<0,0001	0,84	0,002	0,48	0,162	0,77	0,009	0,54	0,108
OPN							0,81	0,005	0,44	0,200	0,75	0,013	0,50	0,138
Cys C									0,66	0,038	0,59	0,074	0,60	0,067
RBP-4											0,02	0,960	0,14	0,701
TFF3													0,45	0,187

Analizując wyniki badań biomarkerów oznaczanych w moczu wszystkich pacjentów pół roku po przeszczepie nerek z wykorzystaniem aparatu Luminex wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy NGAL i Cys C ($p=0,001$) oraz CLU ($p=0,027$). W grupie mężczyzn zauważono, że wraz ze wzrostem NGAL istotnie wzrasta stężenie KIM-1 ($p=0,035$), Cys C ($p=0,033$), TFF3 ($p=0,033$) oraz CLU ($p=0,003$).

Analizując wyniki wszystkich badanych pacjentów odnotowano również dodatnią istotną korelację pomiędzy KIM-1 i CXCL-10 ($p=0,001$), OPN ($p=0,003$), Cys C ($p=0,036$), RBP-4 ($p=0,028$), TFF3 ($p=0,046$) oraz CLU ($p=0,027$). Natomiast w grupie mężczyzn wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 i CXCL-10 ($p=0,001$), OPN ($p=0,027$), Cys C ($p=0,025$) oraz CLU ($p<0,0001$). Ponadto w grupie wszystkich badanych osób stwierdzono istotny dodatni związek pomiędzy CXCL-10 i OPN ($p=0,005$), Cys C ($p=0,002$) oraz RBP-4 ($p=0,039$), a w grupie mężczyzn pomiędzy CXCL-10 i OPN ($p=0,012$) oraz CLU ($p=0,005$). W przypadku analizy relacji OPN z pozostałymi biomarkerami u wszystkich badanych pacjentów stwierdzono jedynie istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 ($p=0,022$), natomiast w grupie mężczyzn dodatnią zależność pomiędzy OPN i Cys C ($p=0,048$) oraz CLU ($p=0,019$). Z kolei analiza wyników dotyczących Cys C u wszystkich pacjentów wykazała, że wraz ze wzrostem wartości tego biomarkera istotnie wzrasta także stężenie RBP-4 ($p=0,009$), TFF3 ($p=0,018$) i CLU ($p=0,004$). Natomiast w grupie mężczyzn istotną dodatnią korelację stwierdzono pomiędzy Cys C i TFF3 ($p=0,025$) oraz CLU ($p=0,009$). W przypadku RBP-4 wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy tym biomarkerem i TFF3 ($p=0,027$) oraz CLU ($p=0,004$), natomiast w grupie mężczyzn taką samą zależność stwierdzono między RBP-4 i TFF3 ($p=0,004$). W grupie ocenianej łącznie zaobserwowano także istotnie dodatnią korelację pomiędzy TFF3 i CLU ($p=0,036$) (Tab. 31, Tab. 32). W przypadku grupy kobiet wykazano jedynie istotną dodatnią korelację pomiędzy KIM-1 i TFF3 ($p=0,026$), a także RBP-4 i TFF3 ($p=0,020$).

Tabela 31. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,18	0,452	0,26	0,274	0,25	0,295	0,71	0,001	0,41	0,080	0,39	0,096	0,50	0,027
KIM-1			0,70	0,001	0,64	0,003	0,48	0,036	0,50	0,028	0,47	0,043	0,61	0,005
CXCL-10					0,62	0,005	0,66	0,002	0,48	0,039	0,21	0,381	0,17	0,492
OPN							0,37	0,122	0,52	0,022	0,01	0,963	0,24	0,322
Cys C									0,58	0,009	0,53	0,018	0,63	0,004
RBP-4											0,51	0,027	0,63	0,004
TFF3													0,48	0,036

Tabela 32. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,67	0,035	0,47	0,172	0,35	0,328	0,67	0,033	0,61	0,062	0,67	0,033	0,83	0,003
KIM-1			0,89	0,001	0,89	0,027	0,70	0,025	0,50	0,144	0,50	0,140	0,90	0,0001
CXCL-10					0,75	0,012	0,48	0,160	0,30	0,407	0,17	0,638	0,80	0,005
OPN							0,64	0,048	0,29	0,413	0,25	0,489	0,72	0,019
Cys C									0,56	0,093	0,70	0,025	0,77	0,009
RBP-4											0,79	0,007	0,49	0,154
TFF3													0,47	0,174

Analizowano także wartości biomarkerów w moczu pacjentów rok po przeszczepie nerek z wykorzystaniem metody Luminex. W grupie wszystkich badanych pacjentów stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy NGAL i CXCL-10 ($p=0,001$), Cys C ($p=0,001$), RBP-4 ($p<0,0001$) i TFF3 ($p<0,0001$). W grupie mężczyzn zaobserwowano takie same zależności pomiędzy NGAL i CXCL-10 ($p<0,001$), Cys C ($p<0,001$), RBP-4 ($p<0,0001$) oraz TFF3 ($p=0,003$). W grupie wszystkich badanych pacjentów wykazano także istotną dodatnią korelację pomiędzy KIM-1 i CXCL-10 ($p<0,0001$), RBP-4 ($p=0,046$), TFF3 ($p=0,001$) oraz CLU ($p=0,010$), natomiast w grupie mężczyzn stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy KIM-1 i TFF3 ($p=0,033$). W moczu pacjentów rok po przeszczepie nerek zauważono, że stężenie CXCL-10 istotnie dodatnio korelowało z Cys C ($p=0,010$), RBP-4 ($p=0,003$) oraz TFF3 ($p<0,0001$), natomiast w grupie mężczyzn wykazano dodatnie istotne zależności pomiędzy CXCL-10 i Cys C ($p<0,0001$), RBP-4 ($p=0,003$), TFF3 ($p=0,004$) oraz pomiędzy OPN i TFF3 ($p=0,043$). W grupie tej wykazano również, że stężenia Cys C istotnie wzrasta wraz ze wzrostem RBP-4 ($p=0,001$) oraz TFF3 ($p=0,011$). W grupie mężczyzn stwierdzono takie same zależności pomiędzy Cys C i RBP-4 ($p=0,001$) oraz TFF3 ($p=0,005$). Zauważono istotną dodatnią korelację pomiędzy RBP-4 i TFF3 ($p=0,001$) oraz CLU ($p=0,046$). W przypadku grupy kobiet stwierdzono istotną dodatnią korelację pomiędzy TFF3 i NGAL ($p=0,010$), KIM-1 ($p=0,021$), CXCL-10 ($p=0,010$), RBP-4 ($p=0,042$) oraz CLU ($p=0,025$). Wykazano także istotny dodatni związek pomiędzy CLU i KIM-1 ($p=0,017$) oraz RBP-4 ($p=0,036$), a także CXCL-10 i KIM-1 ($p<0,0001$) oraz NGAL i RBP-4 ($p=0,025$) (Tab. 33, Tab. 34, Tab. 35).

Tabela 33. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,43	0,066	0,70	0,001	0,32	0,181	0,72	0,001	0,85	<0,0001	0,78	<0,0001	0,39	0,101
KIM-1			0,75	<0,0001	0,15	0,533	0,28	0,253	0,46	0,046	0,72	0,001	0,57	0,010
CXCL-10					0,39	0,103	0,58	0,010	0,64	0,003	0,82	<0,0001	0,43	0,069
OPN							0,42	0,077	0,19	0,424	0,47	0,043	-0,16	0,521
Cys C									0,69	0,001	0,57	0,011	0,14	0,566
RBP-4											0,72	0,001	0,46	0,046
TFF3													0,30	0,216

Tabela 34. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ; poziom istotności p=0,05)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,56	0,093	0,94	<0,0001	0,24	0,510	0,95	<0,0001	0,91	<0,0001	0,83	0,003	0,13	0,713
KIM-1			0,61	0,062	0,24	0,506	0,57	0,084	0,48	0,162	0,67	0,033	0,39	0,265
CXCL-10					0,47	0,172	0,98	<0,0001	0,83	0,003	0,81	0,004	0,19	0,590
OPN							0,42	0,229	0,03	0,934	0,36	0,310	-0,33	0,347
Cys C									0,87	0,001	0,81	0,005	0,19	0,603
RBP-4											0,62	0,054	0,22	0,533
TFF3													-0,05	0,881

Tabela 35. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych kobiet po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Biomarker	KIM-1		CXCL-10		OPN		Cys C		RBP-4		TFF3		CLU	
	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p	R	p
NGAL	0,34	0,366	0,43	0,244	0,37	0,332	0,15	0,700	0,73	0,025	0,80	0,010	0,65	0,058
KIM-1			0,93	<0,0001	-0,09	0,814	-0,20	0,604	0,47	0,203	0,74	0,021	0,76	0,017
CXCL-10					0,12	0,765	-0,18	0,637	0,32	0,406	0,80	0,010	0,65	0,058
OPN							0,25	0,516	0,13	0,732	0,43	0,244	-0,12	0,765
Cys C									0,20	0,606	0,10	0,798	-0,28	0,460
RBP-4											0,68	0,042	0,70	0,036
TFF3													0,73	0,025

4.3.5. Analiza związków pomiędzy kreatyniną a biomarkerami

Analiza korelacji pomiędzy stężeniem kreatyniny, a stężeniem biomarkerów w pierwszym dniu po przeszczepie nerki wykazała wiele istotnych korelacji. W badaniach z wykorzystaniem testu ELISA w grupie wszystkich badanych pacjentów stwierdzono istotną dodatnią zależność pomiędzy stężeniem kreatyniny i NGAL w moczu ($p=0,019$), KIM-1 w surowicy ($p=0,032$), Cys C w surowicy ($p=0,002$), Cys C w moczu ($p=0,001$) i TFF3 w moczu ($p=0,022$). Natomiast w badaniach z wykorzystaniem metody Luminex odnotowano istotne dodatnie korelacje pomiędzy stężeniem kreatyniny i NGAL w surowicy ($p=0,034$), NGAL w moczu ($p=0,036$), Cys C w surowicy ($p<0,0001$), i TFF3 w surowicy ($p=0,006$). W grupie mężczyzn z kolei wykorzystując test ELISA wykazano istotny dodatni związek pomiędzy kreatyniną i CXCL-10 w surowicy ($p=0,008$), CXCL-10 w moczu ($p=0,019$), Cys C w surowicy ($p=0,004$) i Cys C w moczu ($p=0,019$), natomiast z zastosowaniem metody Luminex CXCL-10 w surowicy ($p=0,006$) oraz Cys C w surowicy ($p=0,008$). Natomiast w grupie kobiet zaobserwowano, że wraz ze wzrostem kreatyniny istotnie wzrasta stężenie NGAL w moczu ($p=0,042$) oraz TFF3 w moczu ($p=0,030$) i TFF3 w moczu ($p=0,013$), badania przeprowadzono odpowiednio z wykorzystaniem metody Luminex i ELISA (Tab. 36).

Tabela 36. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	Kreatynina (mg/dl)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	p	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	0,02	0,935	0,26	0,467	-0,32	0,406
NGAL w moczu (ELISA)	0,53	0,019	0,55	0,099	0,35	0,356
NGAL w surowicy (Luminex)	0,49	0,034	0,41	0,244	0,30	0,433
NGAL w moczu (Luminex)	0,48	0,036	0,60	0,067	0,68	0,042
KIM-1 w surowicy (ELISA)	0,49	0,032	0,47	0,174	0,28	0,460
KIM-1 w moczu (ELISA)	-0,14	0,581	-0,03	0,934	-0,20	0,606
KIM-1 w surowicy (Luminex)	0,13	0,584	0,28	0,428	0,12	0,761
KIM-1 w moczu (Luminex)	0,28	0,252	0,36	0,313	0,46	0,209
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	0,29	0,226	0,78	0,008	-0,27	0,488
CXCL-10 w moczu (ELISA)	0,37	0,115	0,72	0,019	0,22	0,576
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	0,38	0,108	0,79	0,006	0,07	0,865
CXCL-10 w moczu (Luminex)	0,34	0,156	0,55	0,098	0,38	0,308
OPN w osoczu (ELISA)	0,18	0,450	0,10	0,777	0,15	0,700
OPN w moczu (ELISA)	0,07	0,786	0,27	0,446	-0,53	0,139
OPN w surowicy (Luminex)	0,03	0,898	-0,16	0,651	0,33	0,381
OPN w moczu (Luminex)	-0,02	0,943	0,47	0,174	-0,25	0,516
Cys C w surowicy (ELISA)	0,66	0,002	0,82	0,004	0,30	0,433
Cys C w moczu (ELISA)	0,69	0,001	0,72	0,019	0,28	0,460
Cys C w surowicy (Luminex)	0,86	<0,0001	0,78	0,008	0,62	0,077
Cys C w moczu (Luminex)	0,39	0,094	0,62	0,054	-0,32	0,406
RBP-4 w surowicy (ELISA)	0,13	0,606	0,26	0,467	0,15	0,700
RBP-4 w moczu (ELISA)	0,16	0,500	0,19	0,603	-0,48	0,187
RBP-4 w surowicy (Luminex)	0,08	0,732	0,10	0,777	-0,32	0,406
RBP-4 w moczu (Luminex)	0,27	0,263	0,62	0,054	-0,62	0,077
TFF3 w surowicy (ELISA)	0,22	0,367	0,44	0,200	-0,30	0,433
TFF3 w moczu (ELISA)	0,52	0,022	0,61	0,060	0,78	0,013
TFF3 w surowicy (Luminex)	0,61	0,006	0,59	0,074	0,30	0,433
TFF3 w moczu (Luminex)	0,34	0,156	0,42	0,229	0,72	0,030
CLU w surowicy (ELISA)	-0,05	0,828	-0,50	0,143	0,02	0,966
CLU w moczu (ELISA)	0,21	0,387	0,28	0,425	0,25	0,516
CLU w surowicy (Luminex)	-0,10	0,673	-0,37	0,293	-0,23	0,546
CLU w surowicy (ELISA)	0,28	0,251	0,43	0,214	0,52	0,154

Analiza stężenia kreatyniny i biomarkerów u pacjentów pół roku po przeszczepie nerek wykazała jedynie istotny dodatni związek pomiędzy kreatyniną i Cys C w surowicy ($p=0,047$) przeprowadzoną z wykorzystaniem metody Luminex. Natomiast analizując wyniki w grupie kobiet z wykorzystaniem metody Luminex zaobserwowano istotną dodatnią zależność między stężeniem kreatyniny i CXCL-10 w surowicy ($p=0,016$), Cys C w surowicy ($p=0,004$) i TFF3 w surowicy ($p=0,050$), natomiast zastosowanie techniki ELISA wykazało istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kreatyniny i Cys C w surowicy ($p=0,030$) (Tab. 37).

Tabela 37. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	Kreatynina (mg/dl)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	p	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	0,20	0,411	0,33	0,345	0,12	0,765
NGAL w moczu (ELISA)	0,37	0,117	0,58	0,077	0,33	0,381
NGAL w surowicy (Luminex)	0,39	0,097	0,52	0,126	0,35	0,356
NGAL w moczu (Luminex)	0,26	0,286	0,53	0,111	0,18	0,637
KIM-1 w surowicy (ELISA)	0,17	0,481	0,12	0,751	0,45	0,224
KIM-1 w moczu (ELISA)	0,33	0,170	0,27	0,444	0,50	0,170
KIM-1 w surowicy (Luminex)	0,09	0,716	0,29	0,416	-0,07	0,862
KIM-1 w moczu (Luminex)	0,16	0,504	0,34	0,336	0,05	0,897
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	-0,17	0,495	0,23	0,521	-0,62	0,077
CXCL-10 w moczu (ELISA)	0,20	0,418	0,49	0,154	0,15	0,700
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	-0,07	0,764	0,43	0,213	-0,77	0,016
CXCL-10 w moczu (Luminex)	0,18	0,456	0,53	0,115	0,00	1,000
OPN w osoczu (ELISA)	0,17	0,484	0,35	0,318	-0,23	0,546
OPN w moczu (ELISA)	0,31	0,191	0,38	0,277	0,22	0,576
OPN w surowicy (Luminex)	0,00	0,986	0,37	0,291	-0,37	0,332
OPN w moczu (Luminex)	0,20	0,409	0,36	0,300	0,30	0,433
Cys C w surowicy (ELISA)	0,27	0,255	0,07	0,841	0,72	0,030
Cys C w moczu (ELISA)	0,30	0,215	0,23	0,521	0,42	0,265
Cys C w surowicy (Luminex)	0,46	0,047	0,22	0,544	0,85	0,004
Cys C w moczu (Luminex)	0,26	0,290	0,22	0,532	0,40	0,286
RBP-4 w surowicy (ELISA)	0,27	0,265	0,30	0,393	-0,05	0,898
RBP-4 w moczu (ELISA)	0,39	0,097	0,38	0,283	0,45	0,224
RBP-4 w surowicy (Luminex)	0,15	0,535	0,46	0,179	-0,57	0,112
RBP-4 w moczu (Luminex)	0,43	0,068	0,35	0,325	0,12	0,765
TFF3 w surowicy (ELISA)	0,27	0,268	0,14	0,700	0,47	0,205
TFF3 w moczu (ELISA)	0,23	0,340	0,10	0,789	0,45	0,224
TFF3 w surowicy (Luminex)	0,21	0,385	-0,01	0,973	0,67	0,050
TFF3 w moczu (Luminex)	0,11	0,657	-0,02	0,947	0,28	0,460
CLU w surowicy (ELISA)	-0,17	0,477	0,07	0,841	-0,48	0,187
CLU w moczu (ELISA)	0,14	0,566	0,17	0,638	0,02	0,966
CLU w surowicy (Luminex)	0,06	0,792	0,31	0,383	-0,58	0,099
CLU w surowicy (ELISA)	0,13	0,598	0,58	0,077	-0,25	0,516

Analiza danych pomiędzy stężeniem kreatyniny i biomarkerami w surowicy i moczu pacjentów rok po przeszczepie wykazała jedynie istotny ujemny związek pomiędzy stężeniem kreatyniny i CLU w surowicy ($p=0,021$), a w grupie mężczyzn zaobserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy kreatyniną i CXCL-10 w surowicy ($p=0,033$), badania były przeprowadzone z wykorzystaniem testu ELISA. W grupie kobiet stwierdzono zarówno ujemny związek pomiędzy kreatyniną i OPN w osoczu ($p=0,016$) oznaczone z wykorzystaniem testu ELISA, a także dodatnią korelację pomiędzy kreatyniną i RBP-4 w moczu ($0,042$) i TFF3 w surowicy ($p=0,025$) z użyciem odpowiednio testu ELISA i metody Luminex (Tab. 38).

Tabela 38. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	Kreatynina (mg/dl)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	p	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	0,15	0,552	-0,09	0,803	0,33	0,381
NGAL w moczu (ELISA)	0,24	0,318	0,19	0,603	0,42	0,265
NGAL w surowicy (Luminex)	0,18	0,463	-0,02	0,960	0,38	0,308
NGAL w moczu (Luminex)	0,22	0,355	0,16	0,650	0,47	0,205
KIM-1 w surowicy (ELISA)	-0,16	0,521	-0,36	0,310	-0,13	0,732
KIM-1 w moczu (ELISA)	-0,09	0,721	-0,22	0,533	-0,02	0,966
KIM-1 w surowicy (Luminex)	-0,41	0,083	-0,19	0,602	-0,51	0,162
KIM-1 w moczu (Luminex)	-0,05	0,842	-0,18	0,614	-0,03	0,949
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	0,04	0,872	0,67	0,033	-0,53	0,139
CXCL-10 w moczu (ELISA)	0,11	0,650	0,20	0,580	0,07	0,865
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	-0,31	0,200	0,43	0,220	-0,62	0,077
CXCL-10 w moczu (Luminex)	-0,01	0,957	0,08	0,828	-0,02	0,966
OPN w osoczu (ELISA)	-0,43	0,069	-0,30	0,405	-0,77	0,016
OPN w moczu (ELISA)	0,25	0,309	0,04	0,907	0,47	0,203
OPN w surowicy (Luminex)	-0,43	0,066	-0,33	0,354	-0,57	0,112
OPN w moczu (Luminex)	0,19	0,443	-0,04	0,907	0,48	0,187
Cys C w surowicy (ELISA)	0,18	0,456	-0,30	0,405	0,57	0,112
Cys C w moczu (ELISA)	0,13	0,606	0,15	0,676	0,23	0,546
Cys C w surowicy (Luminex)	0,40	0,087	0,07	0,855	0,62	0,077
Cys C w moczu (Luminex)	0,14	0,556	0,22	0,533	0,18	0,637
RBP-4 w surowicy (ELISA)	-0,36	0,125	-0,55	0,098	-0,30	0,433
RBP-4 w moczu (ELISA)	0,38	0,111	0,04	0,907	0,68	0,042
RBP-4 w surowicy (Luminex)	-0,40	0,094	-0,42	0,229	-0,50	0,170
RBP-4 w moczu (Luminex)	0,40	0,087	0,22	0,533	0,58	0,099
TFF3 w surowicy (ELISA)	0,15	0,528	-0,19	0,603	0,57	0,112
TFF3 w moczu (ELISA)	0,24	0,314	0,18	0,627	0,25	0,516
TFF3 w surowicy (Luminex)	0,23	0,349	-0,22	0,533	0,73	0,025
TFF3 w moczu (Luminex)	0,19	0,437	-0,05	0,881	0,30	0,433
CLU w surowicy (ELISA)	-0,53	0,021	-0,44	0,200	-0,53	0,139
CLU w moczu (ELISA)	0,16	0,518	0,15	0,676	-0,17	0,668
CLU w surowicy (Luminex)	-0,41	0,081	-0,36	0,310	-0,30	0,433
CLU w surowicy (ELISA)	0,03	0,896	0,05	0,881	0,02	0,966

4.3.6. Analiza związków pomiędzy eGFR a biomarkerami

Analiza zależności pomiędzy wartościami eGFR i biomarkerami ocenianymi w surowicy i moczu pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepie nerki wykazały istotny ujemny związek pomiędzy eGFR a stężeniem NGAL w surowicy ($p=0,022$), stężeniem KIM-1 w surowicy ($p=0,015$), stężeniem Cys C w surowicy ($p=0,005$) i w moczu ($p=0,001$) oraz TFF3 w moczu ($p=0,004$), ocenianymi testem ELISA. Natomiast badania z wykorzystaniem metody Luminex wykazały ujemny związek pomiędzy stężeniem eGFR a NGAL w moczu ($p=0,011$), stężeniem CXCL-10 w moczu ($p=0,047$), stężeniem Cys C w surowicy ($p<0,0001$), oraz TFF3 w surowicy ($p=0,004$). W grupie mężczyzn zaobserwowano istotną ujemną korelację pomiędzy eGFR i stężeniem CXCL-10 w surowicy ($p=0,003$), CXCL-10 w moczu ($p=0,018$), Cys C w surowicy ($p=0,001$) i w moczu ($p=0,026$) badanymi z wykorzystaniem testu ELISA oraz ujemną korelację pomiędzy eGFR i CXCL-10 w surowicy ($p=0,001$), Cys C w surowicy ($p=0,002$) oraz RBP-4 w moczu ($p=0,046$) z użyciem metody Luminex. Natomiast w grupie kobiet stwierdzono ujemną zależność pomiędzy eGFR i NGAL w moczu ($p=0,012$), Cys C w surowicy ($p=0,024$) i TFF3 w moczu ($p=0,006$) z wykorzystaniem metody Luminex oraz TFF3 w moczu ($p=0,002$) z użyciem testu ELISA (Tab. 39).

Tabela 39. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	eGFR (ml/min/1,73)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	P	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	0,01	0,967	-0,23	0,531	0,48	0,194
NGAL w moczu (ELISA)	-0,52	0,022	-0,55	0,099	-0,42	0,262
NGAL w surowicy (Luminex)	-0,38	0,110	-0,39	0,265	-0,07	0,864
NGAL w moczu (Luminex)	-0,57	0,011	-0,56	0,092	-0,79	0,012
KIM-1 w surowicy (ELISA)	-0,55	0,015	-0,52	0,125	-0,52	0,152
KIM-1 w moczu (ELISA)	0,09	0,723	-0,02	0,947	0,32	0,404
KIM-1 w surowicy (Luminex)	-0,17	0,478	-0,33	0,358	-0,09	0,811
KIM-1 w moczu (Luminex)	-0,35	0,142	-0,34	0,337	-0,40	0,287
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	-0,36	0,130	-0,84	0,003	0,20	0,604
CXCL-10 w moczu (ELISA)	-0,45	0,054	-0,73	0,018	-0,24	0,529
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	-0,38	0,112	-0,87	0,001	0,04	0,915
CXCL-10 w moczu (Luminex)	-0,46	0,047	-0,57	0,087	-0,62	0,075
OPN w osoczu (ELISA)	-0,12	0,628	-0,04	0,907	-0,01	0,983
OPN w moczu (ELISA)	-0,11	0,657	-0,24	0,497	0,37	0,330
OPN w surowicy (Luminex)	0,05	0,826	0,18	0,613	-0,15	0,699
OPN w moczu (Luminex)	-0,11	0,652	-0,45	0,191	-0,01	0,983
Cys C w surowicy (ELISA)	-0,61	0,005	-0,88	0,001	0,00	1,000
Cys C w moczu (ELISA)	-0,70	0,001	-0,70	0,026	-0,46	0,213
Cys C w surowicy (Luminex)	-0,83	<0,0001	-0,85	0,002	-0,74	0,024
Cys C w moczu (Luminex)	-0,41	0,084	-0,59	0,072	0,22	0,574
RBP-4 w surowicy (ELISA)	-0,20	0,413	-0,30	0,402	-0,28	0,472
RBP-4 w moczu (ELISA)	-0,14	0,566	-0,22	0,542	0,38	0,318
RBP-4 w surowicy (Luminex)	-0,15	0,549	-0,19	0,601	0,05	0,898
RBP-4 w moczu (Luminex)	-0,31	0,196	-0,64	0,046	0,45	0,222
TFF3 w surowicy (ELISA)	-0,19	0,438	-0,48	0,159	0,48	0,194
TFF3 w moczu (ELISA)	-0,63	0,004	-0,59	0,072	-0,88	0,002
TFF3 w surowicy (Luminex)	-0,63	0,004	-0,63	0,052	-0,41	0,273
TFF3 w moczu (Luminex)	-0,45	0,053	-0,40	0,249	-0,83	0,006
CLU w surowicy (ELISA)	0,07	0,762	0,43	0,210	0,02	0,966
CLU w moczu (ELISA)	-0,29	0,234	-0,38	0,281	-0,28	0,458
CLU w surowicy (Luminex)	0,17	0,494	0,35	0,325	0,27	0,486
CLU w surowicy (ELISA)	-0,36	0,129	-0,43	0,219	-0,53	0,145

W grupie pacjentów bez podziału na płeć po pół roku od przeszczepienia nerek wykazano istotną ujemną zależność pomiędzy eGFR i stężeniem NGAL w moczu ($p=0,043$) badanych z wykorzystaniem testu ELISA oraz NGAL w moczu ($p=0,043$), Cys C w surowicy ($p=0,004$) oraz TFF3 w surowicy ($p=0,031$), do badań wykorzystano metodę Luminex. Wykorzystując tą samą metodę stwierdzono, badając grupę kobiet, dodatni związek pomiędzy eGFR i CXCL-10 w surowicy ($p=0,009$), a także ujemną korelację między eGFR i Cys C w surowicy ($p=0,026$) i TFF3 w surowicy ($p=0,032$). W grupie mężczyzn nie wykazano istotnych korelacji (Tab. 40).

Tabela 40. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	eGFR (ml/min/1,73)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	p	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	-0,13	0,601	-0,35	0,328	-0,03	0,932
NGAL w moczu (ELISA)	-0,47	0,043	-0,59	0,074	-0,27	0,486
NGAL w surowicy (Luminex)	-0,29	0,229	-0,54	0,108	-0,23	0,559
NGAL w moczu (Luminex)	-0,47	0,043	-0,59	0,074	-0,25	0,515
KIM-1 w surowicy (ELISA)	-0,02	0,920	0,08	0,829	-0,37	0,330
KIM-1 w moczu (ELISA)	-0,30	0,205	-0,21	0,556	-0,42	0,262
KIM-1 w surowicy (Luminex)	0,10	0,688	-0,12	0,748	0,15	0,694
KIM-1 w moczu (Luminex)	-0,08	0,740	-0,23	0,518	-0,26	0,493
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	0,25	0,298	-0,30	0,405	0,62	0,075
CXCL-10 w moczu (ELISA)	-0,27	0,266	-0,36	0,310	-0,27	0,486
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	0,27	0,260	-0,43	0,214	0,80	0,009
CXCL-10 w moczu (Luminex)	-0,14	0,556	-0,39	0,266	-0,15	0,698
OPN w osoczu (ELISA)	0,03	0,889	-0,28	0,425	0,23	0,559
OPN w moczu (ELISA)	-0,12	0,616	-0,36	0,304	-0,30	0,431
OPN w surowicy (Luminex)	0,02	0,932	-0,25	0,489	0,31	0,417
OPN w moczu (Luminex)	-0,30	0,210	-0,22	0,533	-0,51	0,160
CysC w surowicy (ELISA)	-0,33	0,170	-0,07	0,855	-0,66	0,053
CysC w moczu (ELISA)	-0,21	0,387	-0,25	0,489	-0,34	0,366
CysC w surowicy (Luminex)	-0,63	0,004	-0,42	0,229	-0,73	0,026
CysC w moczu (Luminex)	-0,28	0,244	-0,24	0,511	-0,52	0,152
RBP-4 w surowicy (ELISA)	-0,03	0,918	-0,10	0,777	0,15	0,699
RBP-4 w moczu (ELISA)	-0,31	0,195	-0,41	0,244	-0,44	0,242
RBP-4 w surowicy (Luminex)	0,28	0,246	-0,39	0,260	0,54	0,130
RBP-4 w moczu (Luminex)	-0,23	0,351	-0,24	0,498	-0,18	0,651
TFF3 w surowicy (ELISA)	-0,34	0,152	-0,22	0,533	-0,45	0,222
TFF3 w moczu (ELISA)	-0,21	0,387	-0,10	0,777	-0,58	0,104
TFF3 w surowicy (Luminex)	-0,50	0,031	-0,22	0,533	-0,71	0,032
TFF3 w moczu (Luminex)	-0,25	0,295	-0,02	0,960	-0,45	0,222
CLU w surowicy (ELISA)	0,15	0,542	-0,03	0,934	0,45	0,222
CLU w moczu (ELISA)	-0,12	0,629	-0,24	0,511	-0,01	0,983
CLU w surowicy (Luminex)	0,32	0,186	-0,22	0,533	0,53	0,145
CLU w surowicy (ELISA)	-0,21	0,390	-0,53	0,117	0,09	0,814

Analiza związków pomiędzy wartością eGFR i stężeniami biomarkerów ocenianymi u wszystkich pacjentów rok po przeszczepie nerki nie wykazała istotnych korelacji. Natomiast w grupie mężczyzn zauważono wykorzystując do badań test ELISA dodatnią zależność pomiędzy eGFR i RBP-4 w surowicy ($p=0,043$) oraz istotną ujemną zależność pomiędzy eGFR i CXCL-10 w surowicy ($p=0,003$). W grupie kobiet z kolei wykazano istotną dodatnią korelację pomiędzy eGFR i CLU w surowicy ($p=0,013$) oraz istotną ujemną zależność między eGFR i OPN w moczu ($p=0,035$), CysC w surowicy ($p=0,042$) i TFF3 w surowicy ($p=0,010$) ocenianymi z wykorzystaniem testu ELISA. Badania tej grupy z użyciem metody Luminex wykazały istotną ujemną zależność między eGFR i Cys C w surowicy ($p=0,030$), i TFF3 w surowicy ($p=0,004$) (Tab. 41).

Tabela 41. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych po roku po przeszczepieniu nerki (R, rho, ρ ; poziom istotności $p=0,05$)

Zmienna	eGFR (ml/min/1,73)					
	Grupa badana (n=19)		Mężczyźni (n=10)		Kobiety (n=9)	
	R	p	R	p	R	p
NGAL w surowicy (ELISA)	0,17	0,486	0,19	0,603	-0,23	0,546
NGAL w moczu (ELISA)	-0,13	0,604	0,09	0,803	-0,23	0,546
NGAL w surowicy (Luminex)	-0,14	0,581	0,03	0,934	-0,45	0,224
NGAL w moczu (Luminex)	-0,14	0,566	0,08	0,828	-0,27	0,488
KIM-1 w surowicy (ELISA)	0,31	0,203	0,39	0,260	-0,25	0,516
KIM-1 w moczu (ELISA)	0,07	0,770	0,42	0,229	-0,05	0,898
KIM-1 w surowicy (Luminex)	0,18	0,473	-0,02	0,947	0,41	0,277
KIM-1 w moczu (Luminex)	0,09	0,709	0,25	0,494	0,03	0,932
CXCL-10 w surowicy (ELISA)	-0,30	0,206	-0,83	0,003	0,47	0,205
CXCL-10 w moczu (ELISA)	-0,14	0,581	0,14	0,701	-0,10	0,798
CXCL-10 w surowicy (Luminex)	-0,01	0,974	-0,48	0,160	0,50	0,170
CXCL-10 w moczu (Luminex)	-0,04	0,858	0,24	0,510	0,00	1,000
OPN w osoczu (ELISA)	0,44	0,057	0,15	0,676	0,53	0,139
OPN w moczu (ELISA)	-0,41	0,083	0,09	0,803	-0,70	0,035
OPN w surowicy (Luminex)	0,41	0,082	0,16	0,650	0,35	0,356
OPN w moczu (Luminex)	-0,40	0,086	0,15	0,676	-0,65	0,058
Cys C w surowicy (ELISA)	-0,03	0,889	0,58	0,082	-0,68	0,042
Cys C w moczu (ELISA)	-0,03	0,909	0,12	0,751	0,07	0,865
Cys C w surowicy (Luminex)	-0,17	0,477	0,13	0,726	-0,72	0,030
Cys C w moczu (Luminex)	-0,03	0,898	0,09	0,803	0,12	0,765
RBP-4 w surowicy (ELISA)	0,45	0,050	0,65	0,043	0,18	0,637
RBP-4 w moczu (ELISA)	-0,23	0,336	0,10	0,777	-0,50	0,170
RBP-4 w surowicy (Luminex)	0,45	0,055	0,33	0,347	0,30	0,433
RBP-4 w moczu (Luminex)	-0,19	0,448	-0,01	0,987	-0,33	0,381
TFF3 w surowicy (ELISA)	-0,27	0,260	0,41	0,244	-0,80	0,010
TFF3 w moczu (ELISA)	-0,21	0,387	-0,02	0,960	-0,25	0,516
TFF3 w surowicy (Luminex)	-0,18	0,459	0,43	0,214	-0,85	0,004
TFF3 w moczu (Luminex)	-0,13	0,598	0,19	0,603	-0,28	0,460
CLU w surowicy (ELISA)	0,21	0,397	0,24	0,511	0,78	0,013
CLU w moczu (ELISA)	0,37	0,114	0,07	0,855	0,50	0,170
CLU w surowicy (Luminex)	0,26	0,279	0,02	0,960	0,45	0,224
CLU w surowicy (ELISA)	0,15	0,545	0,26	0,467	0,05	0,898

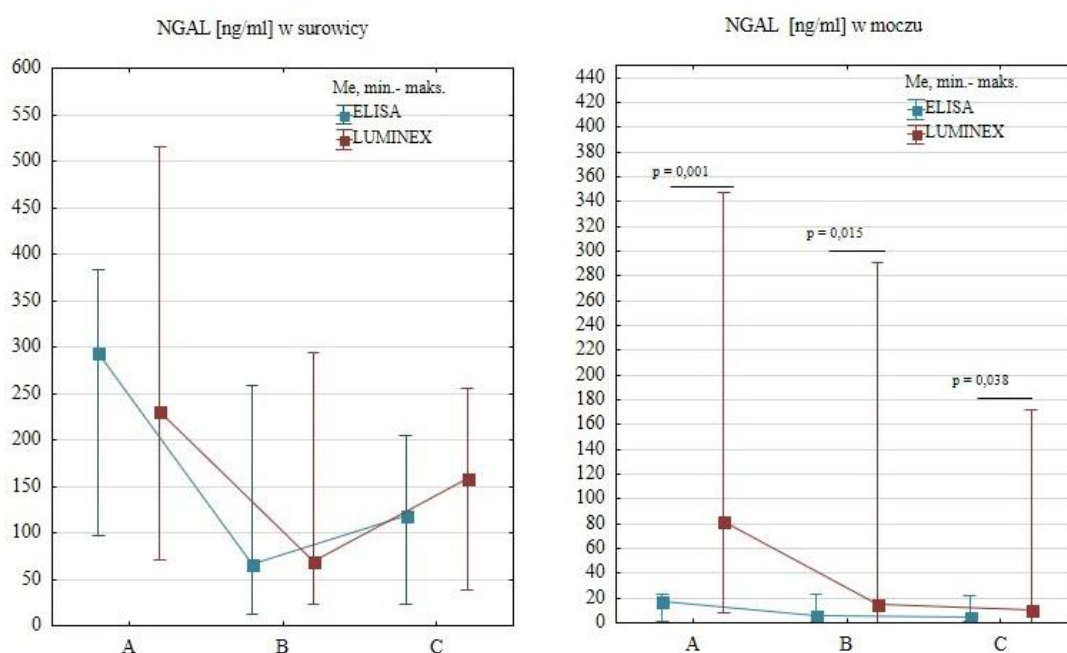
4.4. Porównanie wartości biomarkerów uzyskanych metodami ELISA i Luminex w grupie badanej

Do porównania wyników uzyskanych z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex zastosowano nieparametryczny test U Manna-Whitneya. Porównanie wykonano odrębnie dla pobrania materiału w pierwszym dniu (A), po pół roku (B) i rok po przeszczepie nerki (C) oraz dla wszystkich pobrań łącznie. W tabeli 42 przedstawiono analizę porównawczą wartości wybranych markerów oznaczonych metodą ELISA i Luminex w grupie badanej z trzech pobrań materiału biologicznego łącznie.

Tabela 42. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów po przeszczepie nerki uzyskanych z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex (Med., mediana; Q_d, dolny kwartył; Q_g, górny kwartył; U, wartość testu Manna-Whitneya dla grup o małej liczebności; p, poziom istotności p=0,05)

Zmienna	Metoda								U Manna-Whitneya	
	ELISA				Luminex				U	p
	Suma rang	Med	Q _d	Q _g	Suma rang	Med.	Q _d	Q _g		
NGAL w surowicy	3236	136,3	65,72	252,7	3319	146,9	68,90	232,9	1583	0,816
NGAL w moczu	2520	8,16	3,63	16,87	4035	20,75	9,80	102,3	867	<0,0001
KIM-1 w surowicy	2803	205,5	145,91	327,1	3752	272,3	207,3	344,6	1150	0,007
KIM-1 w moczu	4241	0,75	0,27	1,43	2314	0,21	0,10	0,27	661	0,000
CXCL-10 w surowicy	3393	137,0	105,2	287,1	3162	179,6	75,75	250,5	1509	0,515
CXCL-10 w moczu	2890	25,65	11,70	56,45	3665	39,11	19,85	83,28	1237	0,028
OPN w surowicy/osoczu*	3585	107,15*	72,48*	174,55*	2970	86,39	61,50	132,29	1317	0,082
OPN w moczu	3151	161,80	83,80	387,48	3404	195,85	85,28	409,86	1498	0,475
Cys C w surowicy	2922	2248,02	1471,17	2757,42	3633	2655,32	1806,52	3544,88	1269	0,044
Cys C w moczu	2987	20,33	5,80	82,25	3568	46,79	13,74	112,87	1334	0,100
RBP-4 w surowicy	3884	68,04	55,06	85,51	2671	38,19	21,49	75,60	1018	0,001
RBP-4 w moczu	4878	36,54	5,59	82,15	1678	0,44	0,14	0,83	25	<0,0001
TFF3 w surowicy	4478	20,35	13,29	38,15	2077	6,02	2,92	9,81	424	<0,0001
TFF3 w moczu	4206	122,33	49,52	268,09	2349	35,39	18,24	76,40	696	<0,0001
CLU w surowicy	3468	373,13	310,29	445,39	3087	319,52	248,91	494,16	1434	0,282
CLU w moczu	2869	6,10	2,36	41,03	3686	19,85	5,43	114,83	1216	0,021

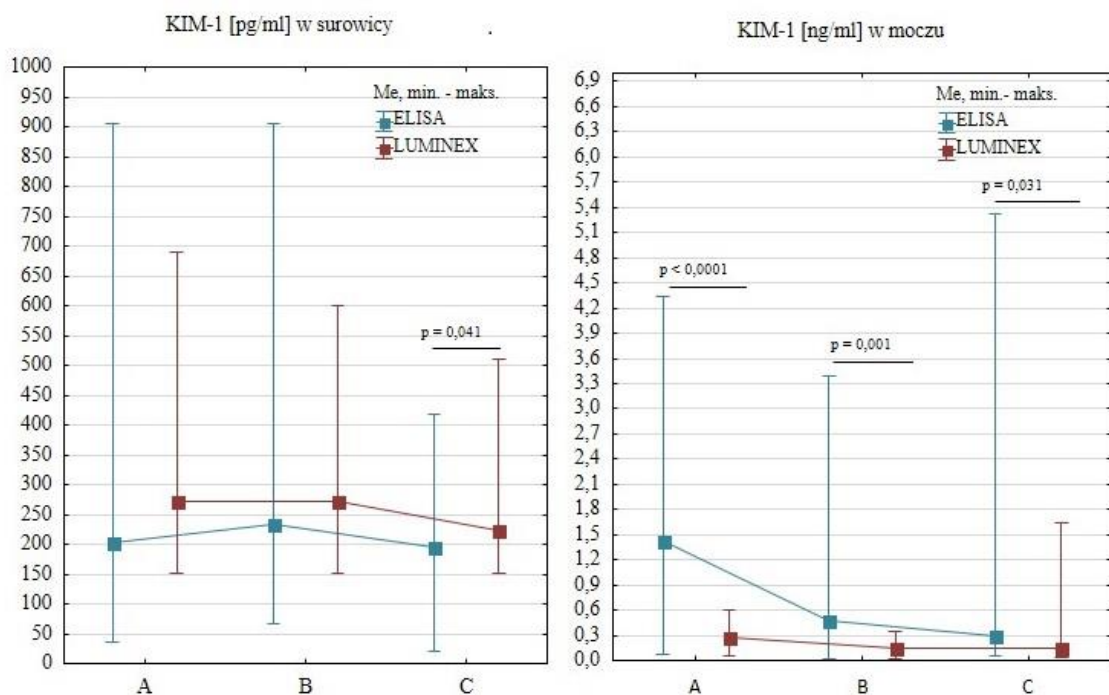
Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu NGAL oznaczonego w surowicy z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex ($p=0,816$). Wykazano natomiast istotnie większe wartości tego markera ($p<0,0001$) oznaczonego metodą Luminex w moczu ($Me=20,75$ ng/ml) w porównaniu z wartością oznaczoną metodą ELISA ($Me=8,16$ ng/ml). Do tej analizy wykorzystano wartości średnie z trzech różnych pobrań materiału biologicznego. Potwierdzono to analizą dla każdego z trzech pobrań. Dzień po przeszczepie wartości NGAL w moczu oznaczonego metodą Luminex były istotnie wyższe ($p=0,001$), podobnie pół roku ($p=0,015$) i rok po przeszczepie ($p=0,038$) nerki w porównaniu do wartości tego biomarkera oznaczanego metodą ELISA (Ryc. 17).



Ryc. 17. Porównanie wartości NGAL w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Porównując uśrednione dane z trzech pobrań (dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek) stwierdzono istotnie większe wartości KIM-1 ($p=0,007$) oznaczane metodą Luminex w surowicy pacjentów ($Me=272,25$ pg/ml) w porównaniu do wartości tego parametru oznaczonego metodą ELISA ($Me=205,53$ pg/ml). W szczegółowych porównaniach wykazano, że wartość KIM-1 oceniana metodą Luminex była istotnie większa w surowicy pacjentów rok po przeszczepie nerek ($p=0,041$) w porównaniu do wartości tego parametru uzyskanej z wykorzystaniem metody ELISA. Natomiast

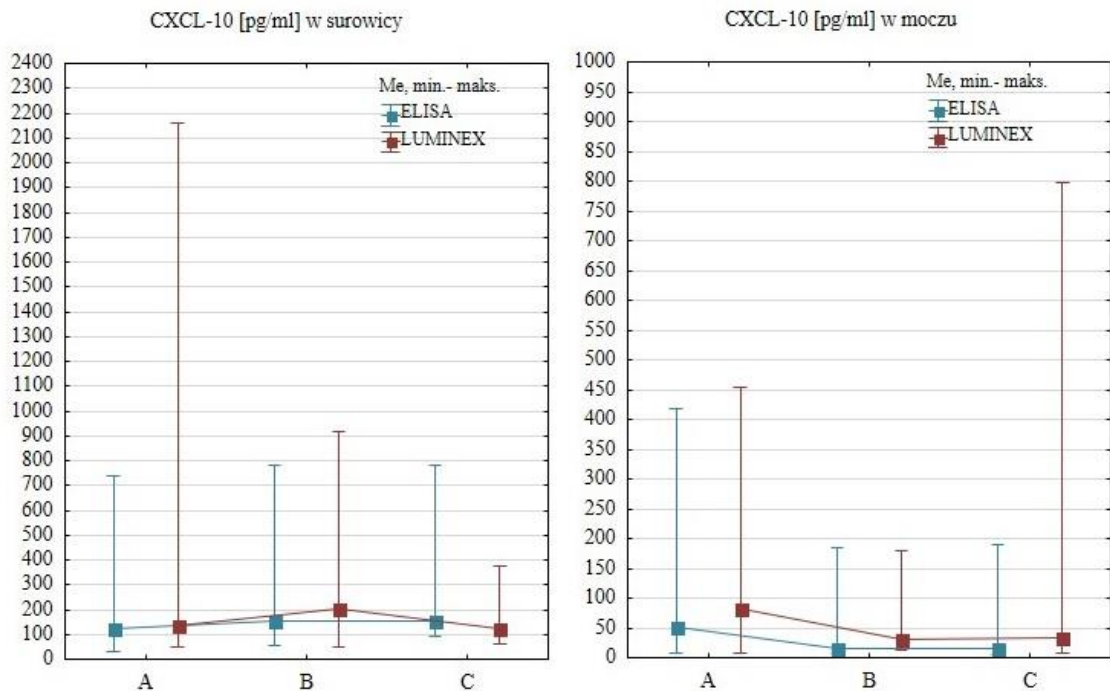
w surowicy krwi pacjentów pobranej w pierwszym dniu i pół roku po przeszczepie nerek wartości KIM-1 z wykorzystaniem obu tych metod nie różniły się istotnie względem siebie. Wartości średnia KIM-1 oznaczana w moczu pacjentów w trzech punktach czasowych (A, B i C) z wykorzystaniem techniki ELISA ($Me=0,75$ ng/ml) była istotnie większa w porównaniu do wartości tego biomarkera ($p<0,0001$) oznaczonego metodą Luminex ($Me=0,21$ ng/ml). Potwierdziła to analiza szczegółowa dla każdego z trzech punktów czasowych pobrań. Dzień po przeszczepie nerki wartość KIM-1 w moczu pacjentów oznaczona metodą ELISA była istotnie większa ($p<0,0001$), podobnie pół roku ($p=0,001$) i rok po przeszczepie ($p=0,031$) w porównaniu do wartości tego biomarkera oznaczanego metodą Luminex (Ryc. 18).



Ryc. 18. Porównanie wartości KIM-1 w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

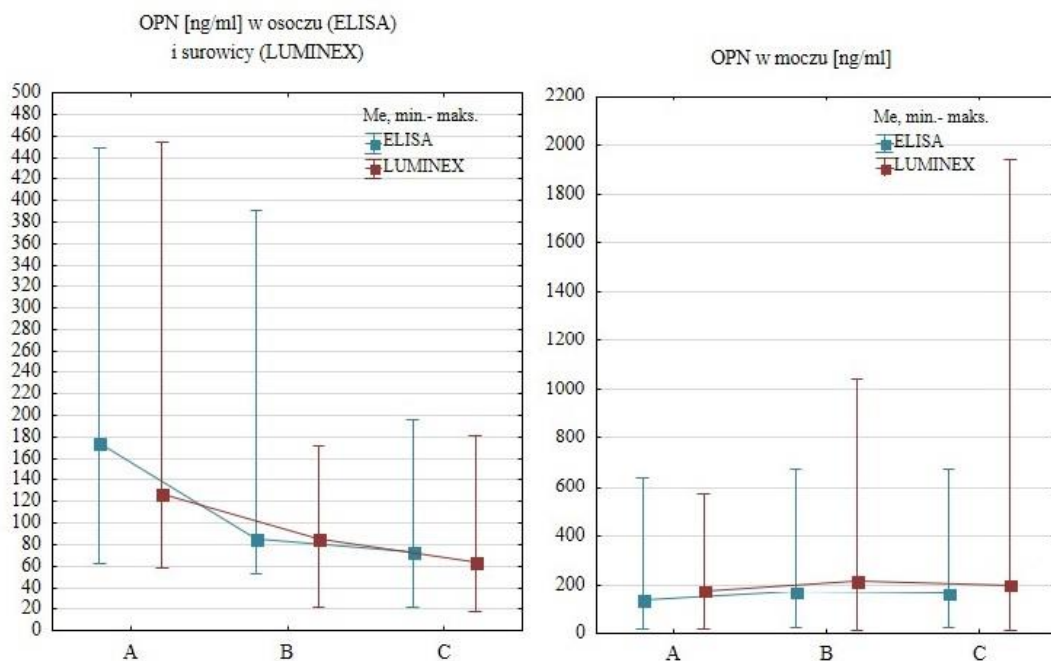
Nie stwierdzono istotnych różnic w wartościach stężenia CXCL-10 oznaczonego w surowicy pacjentów z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex ($p=0,515$). Analizując wartości średnie z trzech pobrań (dzień, pół roku i rok po przeszczepie) stwierdzono istotnie większą wartość CXCL-10 ($p=0,028$) oznaczanego metodą Luminex w moczu pacjentów ($Me=39,11$ pg/ml) względem wartości oznaczonych metodą ELISA ($Me=25,65$ pg/ml). Natomiast dokonując szczegółowych porównań

wartości w trzech punktach czasowych (dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek) nie wykazano istotności statystycznej (Ryc. 19).



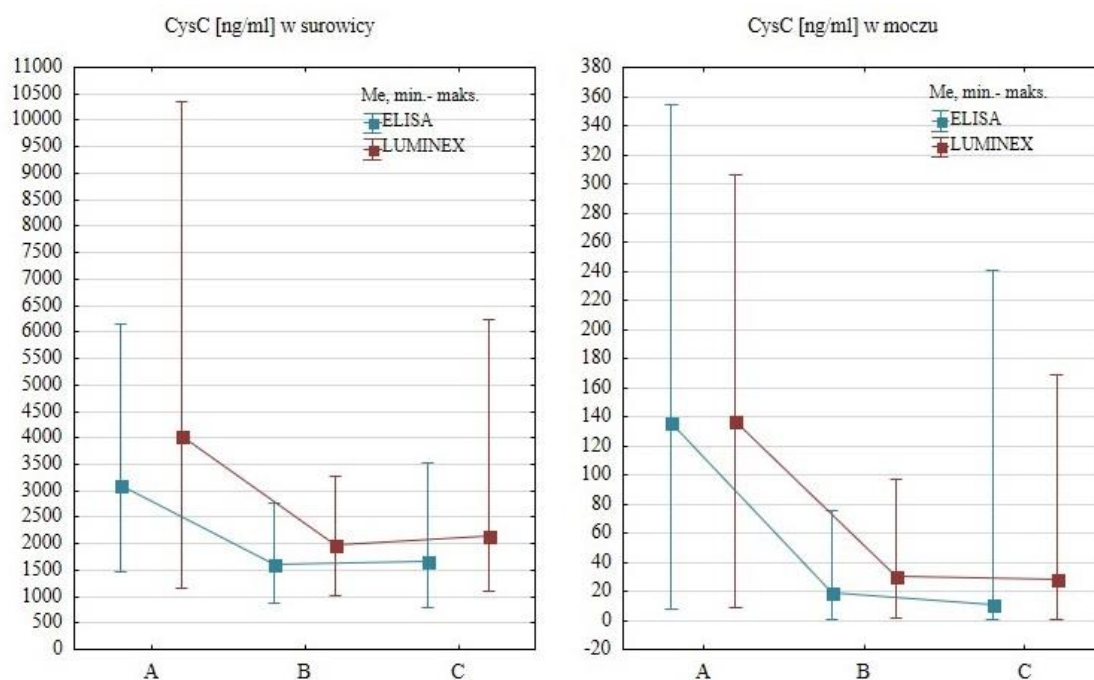
Ryc. 19. Porównanie wartości CXCL-10 w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Nie wykazano istotnych różnic statystycznych w stężeniu OPN w surowicy/osoczu i moczu pacjentów oznaczanych metodami ELISA i Luminex (odpowiednio $p=0,082$ i $p=0,475$). W analizie wzięto pod uwagę wartości uśrednione z pobrań materiału biologicznego w trzech punktach czasowych. Szczegółowe porównania stężenia OPN badanej objęta metodami w surowicy/osoczu i moczu pacjentów pobranych dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek również nie wykazały istotności statystycznej (Ryc. 20).



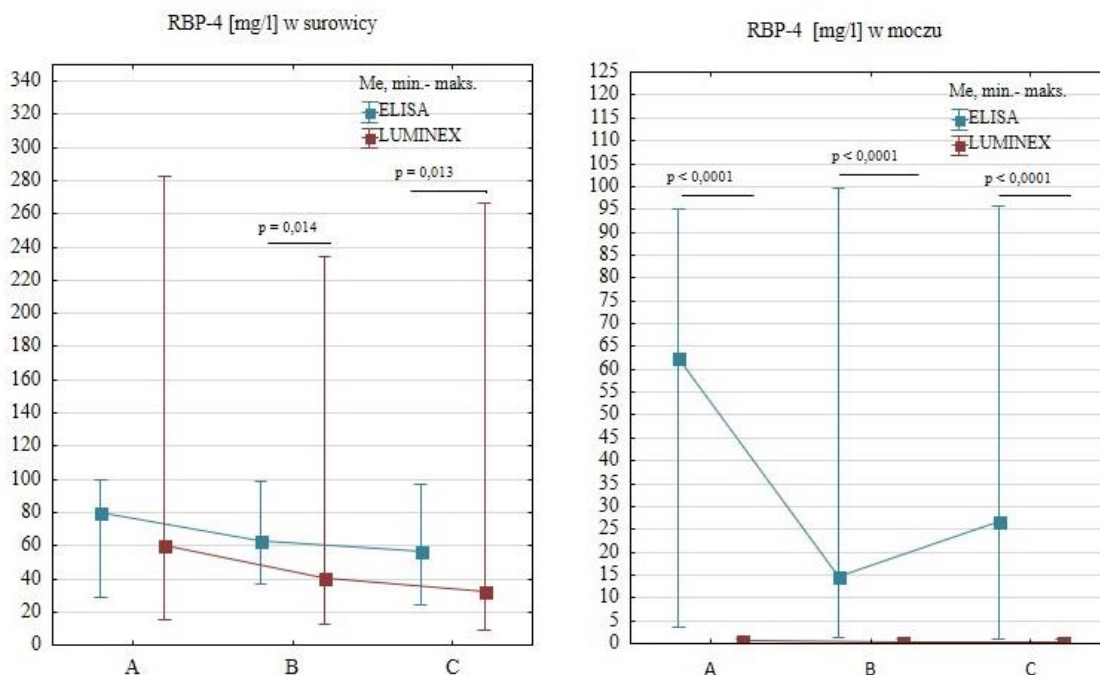
Ryc. 20. Porównanie stężenia OPN w surowicy/osoczu i moczu pacjentów pobranych dzień po (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepieniu nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Stwierdzono istotnie większe stężenie Cys C ($p=0,044$) oznaczanego metodą Luminex w surowicy ($Me=2655,32$ ng/ml) względem wartości oznaczonych metodą ELISA ($Me=2248,02$ ng/ml). W analizie uwzględniono uśrednione wartości Cys C oznaczone w trzech punktach czasowych łącznie. W szczegółowych porównaniach dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek wykazano, że wartości Cys C uzyskane z wykorzystaniem metody ELISA i Luminex nie różniły się istotnie. Ponadto nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych pomiędzy wartościami Cys C uzyskanymi w moczu z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex ($p=0,100$). W analizie wykorzystano wartości uśrednione uzyskane w materiale biologicznym pobranym w trzech punktach czasowych łącznie. Potwierdziła to również szczegółowa analiza stężenia Cys C w moczu pobranym od pacjentów dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerki (Ryc. 21).



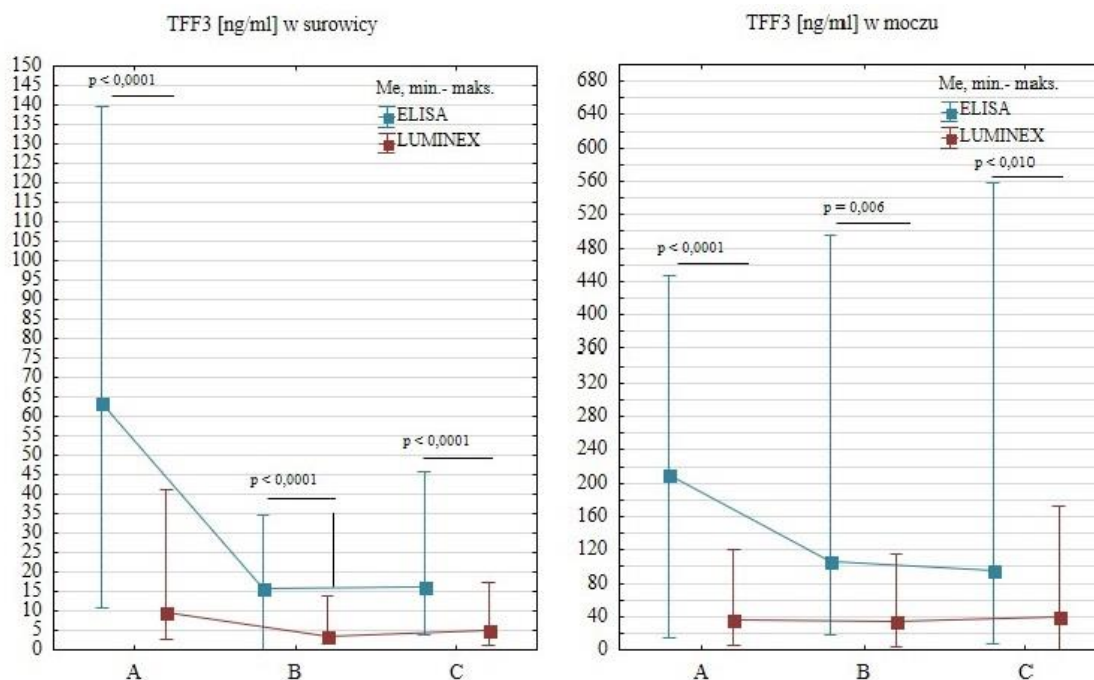
Ryc. 21. Porównanie stężenia Cys C w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Stwierdzono istotnie wyższe wartości RBP-4 ($p=0,001$) w surowicy pacjentów pobranej w trzech punktach czasowych łącznie oznaczanego metodą ELISA ($Me=68,04$ mg/l) względem wartości uzyskanych z wykorzystaniem metody Luminex ($Me=38,19$ mg/l). Szczegółowe porównania wykazały, że stężenie RBP-4 oceniane metodą ELISA było istotnie większe pół roku ($p=0,014$) i rok po przeszczepie ($p=0,013$) nerki względem wartości uzyskanych z wykorzystaniem metody Luminex. Natomiast porównanie wartości RBP-4 w surowicy pobranej od pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepie nerek uzyskanych z wykorzystaniem obu metod nie różniły się istotnie. Porównanie uśrednionych wartości RBP-4 w moczu pobranego od pacjentów w trzech punktach czasowych wykazało istotnie wyższe wartości tego biomarkera ($p<0,0001$) oznaczanego metodą ELISA ($Me=36,54$ mg/l) w porównaniu do wartości oznaczonych metodą Luminex ($Me=0,44$ mg/l). Potwierdzono to analizami szczegółowymi dla każdego z trzech punktów czasowych łącznie. Dzień po przeszczepie nerki stężenie RBP-4 w moczu pacjentów oznaczonego metodą ELISA było istotnie większe ($p<0,0001$), podobnie pół roku ($p<0,0001$) i rok ($p<0,0001$) po przeszczepie niż wartości tego biomarkera oznaczanego metodą Luminex (Ryc. 22).



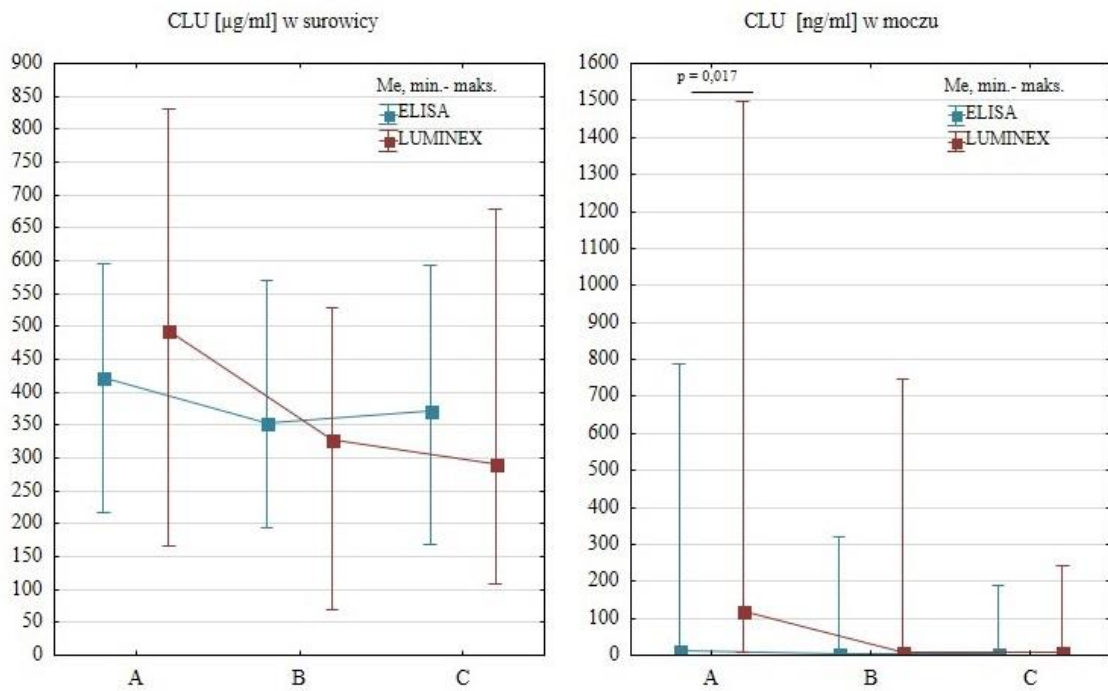
Ryc. 22. Porównanie stężenia RBP-4 w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Wykazano istotnie wyższe wartości TFF3 ($p < 0,0001$) oznaczane w surowicy pacjentów pobranych w trzech punktach czasowych łącznie z użyciem metody ELISA ($Me = 20,35$ ng/ml) względem wartości TFF3 oznaczonych metodą Luminex ($Me = 6,02$ ng/ml). Zostało to potwierdzone w analizie szczegółowej dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek. Wartość TFF3 w surowicy oceniana z wykorzystaniem metody ELISA była istotnie wyższa, dzień po ($p < 0,0001$), pół roku ($p < 0,0001$) oraz rok po przeszczepie nerki ($p < 0,0001$) względem wartości uzyskanych metodą Luminex. Po uśrednieniu wartości TFF3 oznaczanego w moczu pacjentów pobranego w trzech punktach czasowych łącznie, stwierdzono istotnie wyższe wartości tego biomarkera ($p < 0,0001$) oznaczanego metodą ELISA ($Me = 122,33$ ng/ml) względem wartości oznaczonych metodą Luminex ($Me = 35,39$ ng/ml). Potwierdzono to również analizami szczegółowymi odrębnie dla każdego z trzech pobrań. Dzień po przeszczepie nerek wartości TFF3 w moczu pacjentów oznaczonego metodą ELISA były istotnie wyższe ($p < 0,0001$), podobnie pół roku ($p = 0,006$) i rok ($p = 0,010$) po przeszczepie w porównaniu do wartości tego biomarkera oznaczanego metodą Luminex (Ryc. 23).



Ryc. 23. Porównanie wartości TFF3 w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Natomiast nie wykazano istotnych różnic statystycznych w stężeniu CLU w surowicy pacjentów pobranej dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerki metodami ELISA i Luminex ($p=0,282$). Szczegółowe porównania dotyczące stężenia CLU w surowicy dzień, pół roku i rok po przeszczepie nerek z użyciem obu metod również nie wykazały istotności statystycznej. Po uśrednieniu wartości CLU oznaczanego w moczu pacjentów pobranego w trzech punktach czasowych po przeszczepie nerki stwierdzono istotnie wyższe wartości tego biomarkera ($p=0,021$) oznaczanego metodą Luminex ($Me=19,85$ ng/ml) względem wartości oznaczonych metodą ELISA ($Me=6,10$ ng/ml). Szczegółowe porównania wykazały, że wartość CLU oceniana metodą Luminex była istotnie wyższa tylko dzień po przeszczepie nerek ($p=0,017$) względem wartości uzyskanych metodą ELISA. Natomiast wartości CLU oznaczane w moczu pobranym pół roku i rok po przeszczepie nerek z wykorzystaniem obu metod nie różniły się istotnie między sobą (Ryc. 24).



Ryc. 24. Porównanie wartości CLU w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

5. Dyskusja

Pośrednia ocena uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki oparta głównie na ocenie wartości klasycznych parametrów laboratoryjnych, w tym stężenia w surowicy elektrolitów, mocznika, kreatyniny z oszacowaniem eGFR oraz badanie ogólne moczu, jest niewystarczająca. Dlatego badania należy poszerzyć o nowe parametry, w tym białkowe biomarkery. Spośród tych substancji najczęściej nadziei budzą między innymi NGAL, KIM-1, Cys C, CXCL-10 i TFF3. Zastosowanie tych biomarkerów pozwala na wcześniejsze i pewniejsze rozpoznanie uszkodzenia nerek, co umożliwi szybkie wdrożenie odpowiedniego leczenia. Oznaczanie w surowicy i moczu białkowych biomarkerów może stać się z czasem rutynowym postępowaniem diagnostycznym u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki. W tabeli 43 zestawione dane z piśmiennictwa naukowego i badań własnych dotyczące uzyskanych wartości NGAL, KIM-1, Cys C, CXCL-10 i TFF3 w surowicy i/lub moczu pacjentów po przeszczepieniu nerek.

Tabela 43. Zestawienie stężenia biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów po przeszczepieniu nerek na podstawie danych z piśmiennictwa naukowego i badań własnych (AM*, średnia arytmetyczna; Med.**, mediana; zakres min.-max.***, zakres od wartości minimalnej do maksymalnej; DGF, opóźniona funkcja przeszczepu; fDGF, funkcjonalnie opóźniona funkcja przeszczepu; IGF, natychmiastowa funkcja przeszczepu; SGF, powolna funkcja przeszczepu; uKIM-1, KIM-1 w moczu; uCr, kreatynina w moczu; Cr, kreatynina w surowicy; ACR, ostre odrzucanie przeszczepu)

Metoda diagnostyczna	Charakterystyka badanej grupy	n	Czas po przeszczepieniu nerki	Stężenie biomarkerów	Piśmiennictwo
NGAL w surowicy					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerki w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	294,6** ng/ml	Prezentowane badania
Luminex			pół roku	66,98** ng/ml	
			rok	119,3** ng/ml	
Luminex			1 dzień	231,7** ng/ml	
			pół roku	68,90** ng/ml	
			rok	158,56** ng/ml	
ELISA	pacjenci z DGF	20	1 dzień	491–1,666*** μ mol/l	Den Akker i wsp. (2014)
	pacjenci z IGF			232–481*** μ mol/l	
Fluorymetria immunologiczna	pacjenci z DGF	50	1 dzień	662,7 \pm 97,2* ng/ml	Cantallupi i wsp. (2015)
	pacjenci bez DGF			379,7 \pm 139,7* ng/ml	
ELISA	pacjenci z IGF, średni wiek 39,4 lat	45	14 dni	108,1** ng/ml	Lee i wsp. (2012)
	pacjenci z DGF, średni wiek 46,8 lat	14		194,6** ng/ml	

NGAL w moczu							
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	17,41** ng/ml	Prezentowane badania		
Luminex			pół roku	5,32** ng/ml			
			rok	4,25** ng/ml			
		1 dzień	81,64** ng/ml				
ELISA		pacjenci z DGF, średni wiek 51,6 lat	91	1 dzień		15,13** ng/ml	Hall i wsp. (2010)
						10,83** ng/ml	
	1035** ng/ml						
Luminex	pacjenci z SGF, średni wiek 51,6 lat	233	1 dzień	248,0** ng/ml	Michon i wsp. (2021)		
				60,5** ng/ml			
Dwuetapowy chemiluminescencyjny test immunologiczny	Pacjenci po przeszczepieniu nerek, średni wiek 51,8 lat	18	7 dni	5,45** µg/mmol		Fonseca i wsp. (2013)	
				407** ng/ml			
ELISA	pacjenci z DGF, średni wiek 51,1 lat	22	30 dni	34** ng/ml			Capelli i wsp. (2016)
				31,6** pg/ml			
ELISA	pacjenci z IGF, średni wiek 51,6 lat	18	30 dni	55,7** pg/ml			
				25			

KIM-1 w surowicy					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	203,1** pg/ml	Prezentowane badania
			pół roku	233,4** pg/ml	
			rok	194,3** pg/ml	
Luminex		19	1 dzień	272,3** pg/ml	
			pół roku	272,3** pg/ml	
			rok	222,3** pg/ml	
ELISA	pacjenci z dysfunkcją graftu, średni wiek 41,8 lat	52	3 miesiące	6,27** ng/ml	Keshavarz Shahbaz i wsp. (2019)
	pacjenci z dobrze funkcjonującym graftem, średni wiek 41,8 lat			3,28** ng/ml	
	pacjenci z dysfunkcją graftu, średni wiek 41,8 lat	52	6 miesięcy	4,91** ng/ml	
	pacjenci z dobrze funkcjonującym graftem, średni wiek 41,8 lat			3,07** ng/ml	

KIM-1 w moczu					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	1,42** ng/ml	Prezentowane badania
Luminex			pół roku	0,47** ng/ml	
			rok	0,30** ng/ml	
			1 dzień	0,27** ng/ml	
			pół roku	0,15** ng/ml	
			rok	0,15** ng/ml	
ELISA	pacjenci z dysfunkcją graftu, średni wiek 41,8 lat	52	3 miesiące	1,63 ng/mg** Cr	Keshavarz Shahbaz i wsp. (2019)
	pacjenci z dobrze funkcjonującym graftem, średni wiek 41,8 lat			0,85 ng/mg** Cr	
	pacjenci z dysfunkcją graftu, średni wiek 41,8 lat		6 miesięcy	1,43 ng/mg** Cr	
	pacjenci z dobrze funkcjonującym graftem, średni wiek 41,8 lat			0,86 ng/mg** Cr	
Luminex	pacjenci po przeszczepieniu nerek	145	przynajmniej rok	0,72** ng na dobę	Van Timmeren i wsp. (2007)
ELISA	pacjenci z fDGF w wieku 31,5–48,5 lat	37	3 dni	4,36** ng/mmol	Zhu i wsp. (2021)
	pacjenci z IGF w wieku 32,0–50,0 lat	103		3,70** ng/mmol	

CXCL-10 w surowicy							
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	126,0** pg/ml	Prezentowane badania		
Luminex			pół roku	156,6** pg/ml			
			rok	153,0** pg/ml			
		1 dzień	138,4** pg/ml				
ELISA		pacjenci z brakiem cech odrzucania, średni wiek 35,9 lat	70	1 miesiąc		49,34±2,17* ng/ml	Ciftci i wsp. (2019)
				3 miesiące		88,34±6,28* ng/ml	
	1 dzień			45,56±2,34* ng/ml			
Luminex	pacjenci z cechami odrzucania, średni wiek 33,4 lat	15	1 miesiąc	76,04±4,38* ng/ml			
			3 miesiące	86,22±5,39* ng/ml			
			1 dzień	45,56±2,34* ng/ml			
CXCL-10 w moczu							
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	51,35** pg/ml	Prezentowane badania		
Luminex			pół roku	16,80** pg/ml			
			Rok	14,80** pg/ml			
		1 dzień	83,28** pg/ml				
ELISA		pacjenci z brakiem cech odrzucania, średni wiek 35,9 lat	70	pół roku		29,89** pg/ml	Ciftci i wsp. (2019)
				rok		34,59** pg/ml	
	1 dzień			65,07±24,47* ng/ml			
Luminex	pacjenci z cechami odrzucania, średni wiek 33,4 lat	15	1 miesiąc	61,85±13,60* ng/ml			
			3 miesiące	62,13±9,51* ng/ml			
			1 dzień	168,94 ± 60,04* ng/ml			
ELISA	pacjenci z brakiem cech odrzucania, średni wiek 35,9 lat	70	1 miesiąc	136,24±67,26* ng/ml	Ciftci i wsp. (2019)		
			3 miesiące	69,18±8,36* ng/ml			
			1 dzień	168,94 ± 60,04* ng/ml			

OPN w surowicy/osoczu					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	174,6** ng/ml	Prezentowane badania
Luminex			pół roku	84,65** ng/ml	
			rok	72,48** ng/ml	
		1 dzień	127,4** ng/ml		
Luminex		pół roku	85,07** ng/ml		
		rok	63,97** ng/ml		
	ELISA	22		41,84±18,51* ng/ml	Wang i wsp. (2013)
ELISA	16	-	19,38±8,23* ng/ml		
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek, średni wiek 52,10 lat	70	72,56±42,09	15,53** ng/ml	Yang i wsp. (2022)
OPN w moczu					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	134,9** ng/ml	Prezentowane badania
Luminex			pół roku	169,2** ng/ml	
			rok	163,0** ng/ml	
		1 dzień	176,3** ng/ml		
Luminex		pół roku	215,31** ng/ml		
		rok	195,9** ng/ml		

Cys C w surowicy					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	3110** ng/ml	Prezentowane badania
			pół roku	1602** ng/ml	
			rok	1653** ng/ml	
Luminex			1 dzień	4036** ng/ml	
			pół roku	1984** ng/ml	
			rok	2153** ng/ml	
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek, średni wiek 41,18 lat	49	14 dni	4390±2476* ng/ml	Taghizadeh i wsp. (2017)
Turbidymetryczny test immunologiczny	Pacjenci po przeszczepieniu nerek, średni wiek 43,13 lat	30	ponad 6 miesięcy	1,40±0,25* mg/dl	Krishnamurthy i wsp. (2011)
Cys C w moczu					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	135,6** ng/ml	Prezentowane badania
			pół roku	18,69** ng/ml	
			rok	11,04** ng/ml	
Luminex			1 dzień	136,5** ng/ml	
			pół roku	30,19** ng/ml	
			rok	27,96** ng/ml	

RBP-4 w surowicy						
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	79,66** mg/l	Prezentowane badania	
Luminex			pół roku	63,10** mg/l		
			rok	56,94** mg/l		
		1 dzień	60,59** mg/l			
Turbidymetryczny test immunologiczny		pacjenci po przeszczepieniu nerek, średni wiek 34,1 lat	24	pół roku		40,53 **mg/l
				rok		32,17** mg/l
	1 dzień		65,34±28,35* mg/l			
			1 miesiąc	53,13±25,52* mg/l	Zhang i wsp. (2014)	
RBP-4 w moczu						
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	62,52** mg/l	Prezentowane badania	
Luminex			pół roku	14,79** mg/l		
			rok	26,65** mg/l		
		1 dzień	0,79** mg/l			
ELISA		Pacjenci po przeszczepie nerek, średni wiek 31±13 lat	92	pół roku		0,36** mg/l
				rok		0,29** mg/l
	Pacjenci po przeszczepie nerek, średni wiek 38,3 lat	49	9 (3,1–110) miesięcy	0,47** mg/l	Câmara i wsp. (2004)	
			105 (30–690) dni	0,24** mg/l	De Matos i wsp. (2010)	

TFF3 w surowicy					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	63,65** ng/ml	Prezentowane badania
			pół roku	15,73** ng/ml	
			rok	16,22** ng/ml	
Luminex			1 dzień	9,79** ng/ml	
			pół roku	3,52** ng/ml	
			rok	4,87** ng/ml	
TFF3 w moczu					
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	210,4** ng/ml	Prezentowane badania
			pół roku	106,5** ng/ml	
			rok	95,16** ng/ml	
Luminex			1 dzień	35,39** ng/ml	
			pół roku	34,90** ng/ml	
			rok	39,11** ng/ml	

CLU w surowicy						
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	423,3**	µg/ml	Prezentowane badania
			pół roku	353,9**	µg/ml	
			rok	371,4**	µg/ml	
Luminex		1 dzień	494,2**	µg/ml		
		pół roku	328,5**	µg/ml		
		rok	289,9**	µg/ml		
CLU w moczu						
ELISA	pacjenci po przeszczepieniu nerek w wieku od 26 do 71 r.ż. (średni wiek 51,9 lat)	19	1 dzień	11,88**	ng/ml	Prezentowane badania
			pół roku	5,26**	ng/ml	
			rok	3,68**	ng/ml	
Luminex		1 dzień	119,1**	ng/ml		
		pół roku	7,54**	ng/ml		
		rok	10,05**	ng/ml		
ELISA	pacjenci z DGF w wieku 47-52 lat	23	4 godziny	2999**	µg/mmol	Pianta i wsp. (2015B)
	pacjenci bez DGF w wieku 40-58lat	58		594**	µg/mmol	

5.1. NGAL jako biomarker uszkodzenia nerek

Wiele ośrodków naukowych na świecie zajmuje się badaniami dotyczącymi wykorzystania sNGAL i uNGAL do diagnostyki ostrego uszkodzenia nerek (AKI) (Ho i wsp. 2015). Uważa się, że u pacjentów po transplantacji nerki sNGAL i uNGAL mogą być wykorzystane do diagnozowania krótko- i długoterminowych czynności nerek (Hall i wsp. 2010).

Kanter i wsp. (2013) u pacjentów po przeszczepie nerki od zmarłych dawców z DGF (n=15) i bez objawów tego schorzenia (n=23) stwierdzili, że stężenie uNGAL jest znacznie wyższe u pacjentów z opóźnioną funkcją przeszczepionej nerki niż u pacjentów bez DGF. Podobnie Nielsen i wsp. (2019) prowadząc badania u biorców nerek (n=255) zauważyli, że badanie stężenia NGAL w osoczu może być wykorzystywane do wczesnego diagnozowania DGF u pacjentów w krótkim czasie po przeszczepie nerki. Jednak autorzy nie wykazali korelacji pomiędzy stężeniem NGAL w osoczu, a funkcją graftu po 12 miesiącach od przeszczepienia nerek. Nieto-Rios i wsp. (2016) badając pacjentów po przeszczepie nerek (n=79) wykazali, że poziom uNGAL wynoszący ponad 120 ng/ml mierzony po 48 godzinach po zabiegu przeszczepienia może wskazywać na opóźnioną funkcję graftu. Do takich samych wniosków doszli Hollmen i wsp. (2014) badając poziom NGAL w surowicy pobranej od 176 biorców nerek. Fonseca i wsp. (2013) badając grupę 40 dorosłych biorców nerki, wykazali, że uNGAL jest wczesnym markerem uszkodzenia graftu. Również Pezeshgi i wsp. (2016) analizując sNGAL oraz Mishra i wsp. (2005) oceniając biopsaty nerek potwierdzili, że NGAL może być dobrym wskaźnikiem uszkodzenia nerek, a ponadto wskazali możliwość predykcji między stężeniem sNGAL, a ostrym uszkodzeniem nerki.

Warto zauważyć, że oznaczenie stężenie NGAL oraz interleukiny 18 (IL-18) w moczu może być wykorzystane do wczesnego i nieinwazyjnego prognozowania zaburzeń w funkcjonowaniu przeszczepionych nerek (Parikh i wsp. 2006). Co zostało potwierdzone przez Cui i wsp. (2015). Natomiast Lee i wsp. (2012) oznaczając stężenie NGAL i IL-18 w surowicy potwierdzili jedynie rolę NGAL jako wczesnego i czułego markera dysfunkcji graftu. Hall i wsp. (2010) badając stężenie NGAL w moczu pacjentów z opóźnioną funkcją przeszczepu (n=34), z powolną funkcją przeszczepu (n=33) i natychmiastową funkcją przeszczepu (n=24) wykazali, że stężenie tego parametru nie różniło się u poszczególnych grup pacjentów. Sugeruje to, że badanie

poziomu NGAL nie stanowi użytecznego markera do diagnostyki funkcji nerki po transplantacji. Capelli i wsp. (2017) na podstawie retrospektywnej oceny danych klinicznych i wyników badań laboratoryjnych pacjentów po przeszczepieniu nerki (n=43) stwierdzili, że uNGAL wraz z innymi markerami może być przydatny w ocenie czynności nerek w pierwszych 30 dniach po transplantacji. Ponadto, Lacquaniti i wsp. (2016), badając grupę 124 pacjentów po przeszczepie nerki odnotowali, że zarówno badanie stężenia NGAL w moczu, jak i w surowicy dostarcza wiarygodnych informacji na temat przewidywania uszkodzenia nerek. Jednak pochodzenie NGAL w surowicy i moczu jest różne. NGAL we krwi pochodzi nie tylko z uszkodzonych nerek, ale także z puli systemowej, natomiast NGAL w moczu pochodzi z procesu syntezy zachodzącej w dystalnej części nefronów, a nie z filtrowanej krwi (Kuwabara i wsp. 2009). W związku z tym uNGAL powinien lepiej odzwierciedlać uszkodzenia nerek niż sNGAL. Jednak Li i wsp. (2019) takiej zależności nie stwierdzili. W prezentowanych badaniach również zauważono, że zarówno stężenie NGAL oznaczone w surowicy, jak moczu odzwierciedla stan nerki niezależnie od wyboru metody diagnostycznej.

W prospektywnym badaniu kohortowym 64 osób dorosłych po przeszczepieniu nerki stwierdzono, że poziom NGAL w moczu był wyższy u biorców z AKI w porównaniu z pacjentami bez tego schorzenia (Rostami i wsp. 2013). Çiçek i wsp. (2015) zauważyli, że NGAL w surowicy może być stosowany do oceny stanu zapalnego u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek, w tym po przeszczepach (n=163). Do podobnych wniosków doszli Małyszko i wsp. (2009) badając 100 biorców allogenicznym nerki. Podkreślili oni znaczenie NGAL jako wczesnego i czułego markera uszkodzenia graftu. Dodatkowo w tym samym badaniu podkreślono rolę NGAL w wykrywaniu neurotoksyczności leków i monitorowaniu terapii immunosupresyjnej. Rahimzadeh i wsp. (2012) badając grupę pediatrycznych biorców nerki (n=27), udowodnili, że podwyższony poziom NGAL zarówno w surowicy, jak i moczu po transplantacji może wynikać ze stosowania leków immunosupresyjnych, a nie tylko być wynikiem samego uszkodzenia graftu. Z kolei Field i wsp. (2014) badając grupę biorców nerki z niezgodnościami w obrębie antygenów HLA, którzy odrzucili przeszczep w ciągu pierwszego miesiąca, zaobserwowali istotny wzrost stężenia NGAL w surowicy już w pierwszym dniu po zabiegu. W badaniu 12 biorców nerki od dawców żywych z cechami ostrego odrzucenia potwierdzonego biopsją zauważono, że uNGAL jest czułym markerem do wykrywania tego typu odrzucenia (Kohei i wsp. 2013). Jafari i wsp. (2017) wykazali, że stężenie NGAL w osoczu po

2, 24 i 96 godzinach po przeszczepieniu nerek może przewidywać utratę graftu w okresie trzymiesięcznym od zabiegu. Autorzy przebadali 45 biorców nerki wykazując wyższe stężenia NGAL w osoczu u pacjentów, u których doszło do utraty alloprzeszczepu w ciągu trzech miesięcy. Ponadto badacze zaobserwowali, że stężenie kreatyniny nie jest na tyle czułym i specyficznym parametrem, żeby stanowić użyteczny biomarker w okresie pooperacyjnym. Natomiast w prezentowanych badaniach zauważono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem NGAL w surowicy badanych pacjentów po przeszczepieniu nerki ocenione testem Luminex oraz w moczu ocenione testem ELISA i Luminex, a poziomem kreatyniny w pierwszym dniu po zabiegu. Jednak pół roku i rok od przeszczepienia nerek takiej zależności nie wykazano. Ponadto u badanych pacjentów zauważono, że wartość eGFR ujemnie korelowała z poziomem NGAL w moczu oznaczonym zarówno metodą ELISA, jak i Luminex w pierwszym dniu i po pół roku po przeszczepieniu nerki. Ponadto w prezentowanych badaniach zauważono wpływ płci na omawiane zależności. U badanych kobiet w pierwszym dniu po przeszczepie nerek stwierdzono dodatnią zależność pomiędzy stężeniem NGAL w moczu oznaczonym metodą Luminex a poziomem kreatyniny oraz ujemną zależność pomiędzy stężeniem eGFR i stężeniem NGAL w moczu oznaczonym metodą Luminex.

Heyne i wsp. (2012) badając pacjentów z allogenicznymi przeszczepami nerki (n=182) poddanych immunosupresji podtrzymującej zauważyli, że oznaczanie poziomu NGAL w moczu może być parametrem różnicującym AKI po przeszczepie od odrzucania graftu o typie ostrym. Ponadto oznaczanie poziomu NGAL w moczu, NGAL w surowicy oraz stosunek NGAL/kreatynina może dostarczać cennych informacji na temat funkcji graftu, co wykazali Kielar i wsp. (2020) prowadząc badania biorców nerki (n=109) ze stabilną funkcją graftu rok po przeszczepie. Cantaluppi i wsp. (2015) oceniając stężenie NGAL w osoczu 50 pacjentów po przeszczepieniu nerki wykazali, że analiza stężenia NGAL może wcześniej zapowiadać zmiany w funkcjonowaniu nerki niż obserwacja poziomu kreatyniny w surowicy. W prezentowanej pracy zauważono, że stężenie NGAL oznaczone zarówno w surowicy, jak i w moczu pacjentów po przeszczepieniu nerki zmieniało się istotnie w czasie niezależnie od wyboru metody diagnostycznej. Również w przypadku oznaczania NGAL w surowicy wartości tego parametru nie zależą od wyboru metody. Natomiast wartość stężenia NGAL w moczu jest większa przy wykorzystaniu do badania w testu Luminex w porównaniu do testu ELISA.

Na podstawie wyników badań własnych oraz innych autorów można stwierdzić, że NGAL to obiecujący parametr, który może być wprowadzony do pakietu diagnostycznego u pacjentów po przeszczepie nerki. Zarówno NGAL w surowicy jak i w moczu wydaje się przydatnym biomarkerem po przeszczepie nerki do oceny funkcji narządu. Stężenie tego parametru koreluje z wieloma innymi markerami, między innymi Cys C i CXCL-10 co wskazuje na istotną rolę NGAL jako parametru pomocniczego do całościowego określenia stanu graftu.

5.2. KIM-1 jako biomarker uszkodzenia nerek

Potencjalna rola KIM-1 jako biomarkera uszkodzenia nerek jest przedmiotem intensywnych badań. Stwierdzono, że ta zewnątrzkomórkowa ektodomena jest czułym i swoistym markerem uszkodzenia kanalika proksymalnego (Han i wsp. 2002; Marchewka i Płonka 2013). Wzrost ekspresji i wzmożonej syntezy KIM-1 występuje głównie w obszarach uszkodzenia kanalikowo-mięsżowego z zapaleniem i włóknieniem (Bonventre 2009).

Jin i wsp. (2013) wykazali, że stężenie KIM-1 w surowicy oznaczone metodą Luminex w pierwszych dniach po transplantacji wzrasta szybciej u pacjentów z cechami odrzucenia graftu (n=32) niż u biorców bez cech odrzucenia (n=45). Ponadto badacze zaobserwowali, że jednoczesne oznaczenie stężenia KIM-1 i OPN we krwi może odzwierciedlać ryzyko immunologiczne odrzucania przeszczepu. Natomiast w prezentowanych badaniach dzień po przeszczepieniu nerki korelacji pomiędzy tymi markerami oznaczonymi metodą Luminex nie stwierdzono, ale wykazano taką zależność w badaniu z wykorzystaniem metody ELISA. Shahbaz i wsp. (2017) prowadzili badania pacjentów z ostrym odrzuceniem graftu (n=24), przewlekłą dysfunkcją graftu (n=19) i pacjentów po przeszczepie bez cech odrzucenia (n=42). Na podstawie wyników tych badań wykazano, że oznaczanie stężenia KIM-1 we krwi i w moczu może być użytecznym parametrem do diagnozowania pogarszającej się funkcji nerki, w tym ostrego odrzucenia i przewlekłej dysfunkcji graftu. Ponadto zaobserwowano, że im wyższe było stężenie KIM-1 w moczu i we krwi tym niższy był poziom eGFR. Podobnie w prezentowanych badaniach stwierdzono ujemną korelację pomiędzy KIM-1 w surowicy a eGFR u badanych pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek. Ponadto wykazano dodatnią zależność pomiędzy stężeniem KIM-1 w surowicy oznaczonym metodą ELISA, a poziomem kreatyniny u badanych

pacjentów dzień po przeszczepieniu nerek. Nie odnotowano natomiast zależności pomiędzy stężeniem KIM-1, a poziomem eGFR i kreatyniny u pacjentów po pół i po roku od transplantacji nerek. Van Timmeren i wsp. (2007) ocenili wydalanie KIM-1 z moczem u biorców nerek (n=145). Badacze zauważyli, że wysokie stężenie KIM-1 w moczu było związane z niskim klirensem kreatyniny. Dodatkowo analiza wieloczynnikowa poziomu KIM-1 w moczu pacjentów po przeszczepieniu nerek wykazała, że ta glikoproteina może być niezależnym markerem długoterminowej utraty graftu. Stwierdzono także, że wartość tego parametru nie zależy od cech fizykochemicznych moczu i nie wpływają na jego wartość substancje zawarte w moczu (Lisowska-Myjak 2010; Timmeren i wsp. 2007). Szeto i wsp. (2010) prowadząc badania 63 biorców nerek wymagających biopsji ze względu na pogarszającą się funkcję nerki oraz podejrzenie mechanizmu odrzucania wykazali, że analiza stężenia KIM-1 dostarcza cennych informacji prognostycznych na temat funkcji nerki przeszczepionej, w tym dotyczących oszacowania czasu wystąpienia odrzucenia przeszczepu. Natomiast Zhu i wsp. (2021) prowadząc badania u 140 biorców nerek wykazali, że KIM-1 może być parametrem służącym ocenie graftu, w krótkim czasie po transplantacji. Natomiast w prezentowanych badaniach zaobserwowano, że wartość stężenia KIM-1 oznaczanego w moczu zmienia się istotnie w czasie niezależnie od metody diagnostycznej. Badania własne wykazały również, że w przypadku oznaczania KIM-1 w surowicy krwi istotnie wyższe wartości występują podczas oceny tego biomarkera metodą Luminex, a w przypadku oznaczania KIM-1 w moczu wyższe wartości występują w przypadku wykorzystania do oznaczenia testu ELISA.

Na podstawie wyników badań własnych oraz innych autorów można stwierdzić, że KIM-1 to obiecujący parametr, który może być wprowadzony do pakietu diagnostycznego u pacjentów po przeszczepie nerki. W prezentowanych badaniach wykazano, że KIM-1, zwłaszcza oznaczany w surowicy jest przydany w ocenie funkcji nerki po przeszczepie, ponieważ w pierwszym dniu po przeszczepieniu koreluje istotnie z poziomem kreatyniny i eGFR. Wskazuje to na jego istotną rolę w ocenie krótkoterminowej u pacjentów po przeszczepie nerki.

5.3. CXCL-10 jako biomarker uszkodzenia nerek

CXCL-10 jako białko znajdujące się u wielu komórek, w tym komórkach immunokompetentnych może brać udział w występowaniu stanu zapalnego (Liu i wsp.

2011). Upatruje się roli tego białka w schorzeniach nerek, co jest przedmiotem badań (Gao i wsp. 2020).

W prezentowanej pracy analizowano, czy CXCL10 oznaczony w surowicy i moczu może być przydatnym markerem u pacjentów po przeszczepie nerki. Ciftci i wsp. (2019) badali mocz pobrany od 75 biorców nerki według następującego schematu: przed przeszczepem, jeden i siedem dni po zabiegu transplantacji nerek oraz jeden i trzy miesiące po przeszczepie. Badacze wykorzystując metodę immunoenzymatyczną wykazali, że stężenie CXCL-10 w moczu wzrasta u pacjentów z objawami odrzucenia przeszczepu nerki, co zostało potwierdzone biopsją narządu. Dodatkowo poziom CXCL-10 w moczu korelował ze stężeniem kreatyniny i wartością eGFR. W prezentowanych badaniach stwierdzono, że stężenie CXCL-10 w moczu ocenione testem ELISA istotnie dodatnio korelowało ze stężeniem kreatyniny dzień po przeszczepieniu nerek, ale tylko u pacjentów płci męskiej. Zaobserwowano również istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem CXCL-10 w surowicy badanych mężczyzn, a poziomem kreatyniny niezależnie od zastosowanej metody diagnostycznej w pierwszym dniu po zabiegu przeszczepienia. Natomiast pół roku po przeszczepieniu nerek u badanych kobiet odnotowano istotnie ujemną zależność pomiędzy stężeniem kreatyniny i CXCL-10 w surowicy oznaczonym metodą Luminex. Rok po przeszczepieniu nerek u badanych mężczyzn zaobserwowano dodatnią istotnie korelację między poziomem CXCL-10 oznaczonym w surowicy metodą ELISA i kreatyniną. U badanych mężczyzn w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek odnotowano istotną ujemną zależność pomiędzy eGFR, a CXCL-10 w surowicy oznaczonego obiema metodami oraz CXCL-10 oznaczonego w moczu metodą ELISA. Natomiast u wszystkich badanych pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek CXCL-10 w moczu oznaczonym metodą Luminex korelował istotnie ujemnie z eGFR. U kobiet pół roku po przeszczepieniu nerki odnotowano istotnie dodatnią korelację pomiędzy eGFR i CXCL-10 w surowicy oznaczonego metodą Luminex. U badanych mężczyzn po roku od przeszczepienia nerek odnotowano ujemną korelację pomiędzy eGFR a CXCL-10 w surowicy oznaczonym metodą ELISA. Rabant i wsp. (2015) badając grupę pacjentów po przeszczepie nerki (n=244) potwierdzili, że poziom CXCL-10 w moczu wzrasta u pacjentów z objawami wykazującymi odrzucanie narządu, zwłaszcza o typie zależnym od limfocytów T. Ponadto badacze stwierdzili, że stosunek CXCL-10/kreatynina wraz z innymi parametrami może być przydatny do oceny odrzucania przeszczepionej nerki. W badaniu retrospektywnym obejmującym 54 biorców nerki,

w którym analizowano przypadki odrzucania przeszczepionej nerki stwierdzono, że ekspresja mRNA CXCL-10 u tych pacjentów była wyższa niż u osób z grupy kontrolnej (Matz i wsp. 2006). Zwiększoną ekspresję genu CXCL-10 zauważono już kilka dni przed rozpoczęciem procesu odrzucania o typie ostrym. Doniesienia te potwierdzają wyniki badań Tatapudi i wsp. (2004), którzy badając 63 próbki moczu pochodzące od biorców nerek (n=58) wykazali, że przy odpowiednim punkcie odcięcia poziom mRNA CXCL-10 cechuje się 100% czułością w ostrym odrzucaniu narządu. Rotondi i wsp. (2004) badając pacjentów po przeszczepie nerki pochodzącej od dawcy zmarłego (n=316) zauważyli, że przed przeszczepem należałoby oznaczać stężenie IP-10. Stwierdzono, że analiza poziomu CXCL-10 w surowicy może mieć znaczenie predykcyjne utraty przeszczepu nerek w perspektywie długoterminowej, a co za tym idzie umożliwi dopasowanie schematu leczenia immunosupresyjnego celem uniknięcia odrzucania przeszczepu. Lazzeri i wsp. (2005) w badaniach retrospektywnych obejmujących 316 zmarłych biorców nerek zaobserwowali, że poziom CXCL-10 powyżej 150 pg/ml w surowicy pobranej przed zabiegiem transplantacji może zapowiadać zarówno odrzucanie o typie ostrym, jak i o typie przewlekłym. Jackson i wsp. (2011) przeprowadzili badania z wykorzystaniem metody opartej na fluorymetrii fazy stałej Luminex w moczu pacjentów pediatrycznych (n=46) i osób dorosłych (n=79) po transplantacji nerek oraz zdrowych osób (n=31), stanowiących grupę kontrolną. Stwierdzono, że pomiar stężenia chemokiny CXCL-10 w moczu jest bardziej czułym parametrem niż oznaczanie poziomu kreatyniny w diagnostyce ostrego odrzucania przeszczepu nerek lub zakażenia wirusem BK. Niestety badacze wykazali także, że podwyższony poziom CXCL-10 w moczu nie pozwala na identyfikację tego typu zmian w nerce przeszczepionej i nie różni się znacząco od grupy kontrolnej. W badaniach własnych stwierdzono istotne różnice pomiędzy medianą CXCL-10 oznaczonego w surowicy metodą ELISA pół roku i roku po przeszczepie w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast w przypadku oznaczania metodą Luminex wykazano, że CXCL-10 w moczu różni się istotnie od grupy kontrolnej dzień i pół roku po przeszczepie. Weseslindtner i wsp. (2020) w badaniach retrospektywnych obejmujących 95 biorców nerek zaobserwowali, że stężenie chemokiny CXCL-10 rośnie wraz z replikacją wirusa BK i koreluje z rozwojem nefropatii wywołanej wirusem. W prezentowanych badaniach w przypadku oznaczania CXCL-10 w moczu stwierdzono istotnie wyższe wartości tego biomarkera oznaczone testem Luminex, natomiast wydaje się, że wybór metody przy oznaczaniu CXCL-10 w surowicy nie ma znaczenia.

Na podstawie badań własnych oraz innych badaczy, stwierdzono że CXCL-10 może służyć jako biomarker pomocniczy w monitorowaniu pacjentów po przeszczepie. Dodatkowo CXCL-10 koreluje z innymi parametrami, w tym RBP-4, TFF3 i Cys C, co wskazuje na jego dużą wartość diagnostyczną.

5.4. OPN jako biomarker uszkodzenia nerek

Rola osteopontyny jako inhibitora kalcyfikacji została potwierdzona w licznych badaniach. Podobnie stwierdzono użyteczną wartość tego parametru w chorobach nerek. Rouschop i wsp. (2006) prowadząc badania obejmujące pacjentów po przeszczepie nerek, w tym z cechami odrzucania (n=23) i bez cech odrzucania (n=9) stwierdzili, że poziom osteopontyny w osoczu był znacznie wyższy u pacjentów bez cech odrzucania niż w osoczu osób zdrowych. Ponadto badacze nie stwierdzili korelacji pomiędzy stężeniem OPN w kanalikach nerkowych, a stężeniem OPN w osoczu. Alchi i wsp. (2005) badali biopaty nerki pobrane od pacjentów z ostrym odrzuceniem nerek (n=22), biopaty protokolarne bez odrzucenia (n=9) oraz okołoperacyjne biopaty od dawców (n=35) pod kątem wewnątrznerkowej ekspresji OPN. Badacze wykazali wzrost poziomu tego białka w biopatach alloprzeszczepu nerki z ostrym odrzuceniem. Wang i wsp. (2013) zauważyli, że poziom OPN w płynach ustrojowych, szczególnie w osoczu, pozwala przewidzieć i ocenić ciężkość ACR u biorców przeszczepów nerki. Wyniki badań diagnostycznych pokrywały się ze zmianami widocznymi w obrazie biopatu pobranego w tym samym czasie. W alloprzeszczepach nerki silną ekspresję OPN w nabłonku kanalików proksymalnych odnotowano w biopatach pobranych w krótkim czasie po przeszczepie. Natomiast u pacjentów, którzy nie doświadczyli epizodów odrzucenia, ekspresja OPN w nabłonku kanalików proksymalnych była znacznie niższa (Xie i wsp. 2001). Natomiast Hudkins i wsp. (2001) w biopatach pobranych od dawców nerek (n=7) i biopatach przeszczepu nerki z toksycznością cyklosporyny A (n=23) stwierdzili, że ekspresja OPN w nabłonku kanalików proksymalnych była umiarkowana w porównaniu z biopatami graftu, które wykazywały cechy odrzucania. Badając pacjentów z ostrym odrzuceniem przeszczepu (n=32) oraz grupę bez odrzucenia (n=45) Jin i wsp. (2013) udowodnili, że stężenie OPN w surowicy pacjentów z ostrym odrzucaniem przeszczepu było dużo wyższe niż u pacjentów niewykazujących epizodów odrzucania graftu. W badaniach Mansour i wsp. (2021) obejmujących 1298 dawców i 2430 biorców nerek stwierdzili, że stosunek

uromoduliny do osteopontyny ≤ 3 chroni przed niepowodzeniem i odrzuceniem przeszczepu powikłanego śmiercią biorcy oraz przed śmiercią z innej przyczyny. Ouyang i wsp. (2010) w badaniach na modelu szczurzym wykazali, że ekspresja OPN wzrasta w ostrym odrzucaniu nerki, zwłaszcza w początkowym etapie. W badaniach na grupie 70 biorców nerki pochodzących z Tajwanu wykazano, że stężenie OPN w surowicy krwi może stanowić wskaźnik hospitalizacji po transplantacji nerki oraz śmiertelności (Yang i wsp. 2022). Analizując dostępne piśmiennictwo naukowe stwierdzono, że w tych badaniach stężenie OPN oznaczane jest głównie w biopsjach nerki lub w surowicy. W prezentowanych badaniach wykazano, że stężenie OPN w surowicy oznaczone z użyciem obu metod zmienia się istotnie w czasie. OPN w surowicy/osoczu nie korelował istotnie ani ze stężeniem kreatyniny ani z eGFR w żadnym punkcie czasowym, tj. dzień po, pół roku po i rok po przeszczepie nerek zarówno u wszystkich badanych, jak i w grupie mężczyzn. Natomiast wykazano istotny ujemny związek pomiędzy stężeniem kreatyniny i OPN oznaczonym w osoczu badanych kobiet z wykorzystaniem testu ELISA rok po przeszczepieniu nerek. W prezentowanych badaniach dokonano również oceny stężenia OPN w moczu. Stwierdzono, że stężenie OPN w moczu oznaczone metodą ELISA zmienia się istotnie w czasie. Zauważono także istotnie ujemną korelację pomiędzy stężeniem OPN w moczu kobiet rok po przeszczepieniu nerek oznaczonym metodą ELISA i wartością eGFR. Może to świadczyć o przydatności tego markera w ocenie długoterminowej po przeszczepie. Dodatkowo zauważono, że wybór metody diagnostycznej nie wpływa na wartości OPN oznaczane w surowicy i moczu pacjentów.

5.5. Cys C jako biomarker uszkodzenia nerek

Do oceny funkcji nerek można wykorzystać także cystatynę C jako marker filtracji kłębuszkowej. Stwierdzono, że stężenie Cys C we krwi zależy od wielkości przesączania, natomiast stężenie cystatyny C w moczu jest wypadkową filtracji kłębuszkowej oraz zdolności resorpcyjnej kanalików proksymalnych (Čabarkapa 2015).

Krishnamurthy i wsp. (2011) badając grupę 30 pacjentów powyżej 6 miesięcy po przeszczepie nerki i stabilną funkcją nerki oraz 29 osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną zaobserwowali, że stężenie kreatyniny oraz stężenie Cys C w surowicy były istotnie wyższe u biorców nerki niż w grupie kontrolnej, co potwierdzone zostało również w badaniach własnych przy wykorzystaniu metody ELISA dzień, pół roku i po

roku od zabiegu przeszczepienia. W przypadku metody Luminex istotne różnice pomiędzy grupą badaną, a kontrolną odnotowano w moczu dzień, pół roku i rok po przeszczepie. Wskazuje to, że stężenie Cys C jest cenniejszym parametrem niż stężenie kreatyniny w ocenie funkcji nerek u biorców nerek. Stwierdzono również, że Cys C może służyć jako dodatkowy parametr w dostosowaniu dawki leków immunosupresyjnych. W badaniu prospektywnym obejmujących 49 pacjentów po przeszczepie nerki pobierano krew zgodnie ze schematem: 3, 8 i 14 dni po transplantacji (Taghizadeh-Afshari i wsp. 2017). Badacze zaobserwowali, że stężenie Cys C w surowicy w trzecim dniu wykazuje większą czułość w porównaniu do kreatyniny w przypadku obniżenia się eGFR poniżej 60ml/min/1,73 m². Do podobnych wniosków doszli Le Bricon i wsp. (1999) w badaniu 30 biorców nerek. Zauważyli oni, że w czasie czterech pierwszych dni po przeszczepie zmniejszanie stężenia Cys C w osoczu było szybsze niż w przypadku kreatyniny. W prezentowanej pracy wykazano, że stężenie Cys C zmienia się istotnie w czasie zarówno w surowicy, jak i moczu badanych pacjentów z wykorzystaniem do oceny obu metod. Zhou i wsp. (2022) badając pacjentów po przeszczepie nerki (n=198) stwierdzili, że Cys C w surowicy cechuje się zarówno wysoką czułością, jak i swoistością w przewidywaniu opóźnionej funkcji przeszczepu. Z kolei u biorców pediatrycznych (n=24, średnia wieku: 10,5), u których codziennie oznaczano kreatyninę i Cys C w surowicy wykazano, że nie ma istotnych różnic w wykrywaniu ostrej dysfunkcji przeszczepu w tej grupie (Slort i wsp. 2012). Prawdopodobnie wzrost stężenia Cys C kilka godzin lub dni po przeszczepie nerki wynika z podawania leków immunosupresyjnych i w związku z tym nie odzwierciedla prawidłowo zmian w szybkości filtracji kłębuszkowej (Pöge i wsp. 2004). W związku z tym Geramizadeh i wsp. (2009) badając grupę 60 pacjentów po przeszczepie nerki uznali, że Cys C w surowicy może być użytecznym markerem oceniającym funkcję graftu, ale po tygodniu od transplantacji. W badaniu własnym stężenie Cys C w surowicy i w moczu oznaczone z wykorzystaniem metody ELISA istotnie korelowały dodatnio z kreatyniną zarówno u wszystkich badanych pacjentów bez podziału na płeć, jak i w grupie mężczyzn dzień po przeszczepieniu nerek. Podobną zależność wykazano w stężeniu Cys C w surowicy oznaczanym metodą Luminex. U badanych pacjentów pół roku po przeszczepieniu nerek odnotowano istotnie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem kreatyniny, a Cys C w surowicy oznaczonym metodą ELISA, natomiast stężenie Cys C w surowicy oznaczone metodą Luminex korelowało dodatnio z kreatyniną u wszystkich badanych pacjentów oraz w grupie kobiet. Z kolei

w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek zaobserwowano istotnie ujemną zależność pomiędzy eGFR a Cys C w surowicy oznaczoną z wykorzystaniem obu metod i w moczu oznaczonej metodą ELISA zarówno u wszystkich badanych pacjentów, jak i w grupie mężczyzn. Ponadto, w grupie badanych kobiet istotnie ujemna korelacja występowała pomiędzy eGFR, a stężeniem Cys C w surowicy ocenianym metodą Luminex w pierwszym dniu oraz pół roku po przeszczepieniu nerek. Podobną zależność odnotowano u wszystkich badanych pacjentów. Ponadto rok po przeszczepieniu nerek zaobserwowano istotnie ujemną korelację pomiędzy stężeniem Cys C w surowicy oznaczonym z użyciem obu metod a eGFR.

Wydaje się, że oznaczanie Cys C w surowicy i moczu ma podobną wartość diagnostyczną w monitorowaniu pacjentów po przeszczepie nerki. Wybór metody oznaczania Cys C w surowicy ma istotny wpływ na stężenie tego biomarkera, wartości oznaczone testem Luminex były wyższe względem wartości uzyskanych z wykorzystaniem testu ELISA. Natomiast w przypadku oznaczania Cys C w moczu takiej zależności nie odnotowano.

5.6. RBP-4 jako biomarker uszkodzenia nerek

Stwierdzono, że oznaczenie stężenia RBP w moczu może być markerem uszkodzenia kanalików proksymalnych. Zwiększenie stężenia RBP w moczu jest spowodowane dużym stężeniem tego białka w surowicy związane z upośledzeniem funkcji filtracyjnej nerek lub zmniejszonej resorpcji kanalikowej w wyniku uszkodzenia komórek kanalików proksymalnych (Cámara i wsp. 2004). RBP wykazuje stabilność w moczu, a na zwiększenie stężenia tego białka w surowicy wpływa niewydolność nerek (Kirsztajn i wsp. 2000).

W badaniach obejmujących dorosłych biorców nerek (n=50), wykazano że stosunek RBP-4/kreatynina w moczu korelował z poziomem kreatyniny w surowicy (Jeon i wsp. 2022). Stwierdzono również, że stosunek ten był wyższy u pacjentów z eGFR poniżej 60ml/min/1,73 m² w porównaniu do pacjentów z eGFR powyżej 60ml/min/1,73 m². Ponadto badacze dowiedli, że stosunek RBP-4/kreatyniny w moczu był wyższy u pacjentów z szybkim pogorszeniem funkcji nerek (n=19) niż u pacjentów ze stabilną funkcją graftu (n=31). Wskazuje to, że białko wiążące retinol 4 może być markerem predykcyjnym pogarszającej się funkcji nerki po przeszczepie. W badaniu 221 pacjentów po transplantacji nerek, Hosaka i wsp. (2003) zaobserwowali, że

u pacjentów z prawidłową funkcją graftu (stężenie kreatyniny od 0,5 do 1,6 mg/dl) w ciągu pierwszych 3 miesięcy, stężenie RBP w moczu wyższe niż 0,6 mg/dl wiązało się z dysfunkcją przeszczepu po roku. Z kolei Li i wsp. (2018) przebadali 180 pacjentów z glomerulopatią po przeszczepie pod kątem klinicznym i laboratoryjnym. Badacze udowodnili, że stężenie RBP-4 w moczu obok innych parametrów laboratoryjnych może być użytecznym predyktorem funkcji nerki po przeszczepie. Natomiast Câmara i wsp. (2004) w badaniach prowadzonych przez pięć lat obejmujących 192 pacjentów ze stabilną funkcją graftu wykazali przydatność RBP w prognozowaniu przewlekłej nefropatii alloprzeszczepu oraz jego utraty. de Matos i wsp. (2010) w badaniach obejmujących pacjentów po przeszczepie nerki ze stabilną funkcją graftu (n=49), zaobserwowali, że stężenie RBP-4 w moczu może wzrastać w perspektywie długoterminowej po przeszczepie nerek pomimo braku zmian w morfologii narządu. W prezentowanych badaniach zależność ta nie została potwierdzona, stężenie RBP-4 w moczu spadało istotnie w ciągu roku od przeszczepu. Podobne wyniki otrzymali Zhang i wsp. (2014), zauważyli oni istotny spadek stężenia RBP-4 po przeszczepieniu nerek. Requião-Mourai i wsp. (2018) badając prospektywnie biorców nerek (n=152), stwierdzili że pacjenci z wysokim stężeniem RBP-4 w moczu podczas aktywnego zakażenia CMV wykazywali znacznie gorszą funkcję przeszczepionego narządu niż pacjenci z niskim poziomem uRBP-4. Zhang i wsp. (2014) przebadali surowicę pochodzącą od 24 pacjentów według schematu: przed przeszczepem, 1 dzień po przeszczepie, tydzień po przeszczepie i miesiąc po przeszczepie. Badacze zaobserwowali, że stężenie RBP-4 w surowicy przed przeszczepem było istotnie wyższe niż po przeszczepie nerek, natomiast wartości te były nadal wyższe niż w grupie kontrolnej. Dodatkowo badacze wykazali dodatnią korelację pomiędzy stężeniem RBP-4 w surowicy przed i po przeszczepie, a stężeniem kreatyniny, prealbuminy, fosforanów oraz azotu mocznikowego. Natomiast stężenie RBP-4 było ujemnie skorelowane z wartością eGFR. W badaniach własnych natomiast zaobserwowano ujemną korelację pomiędzy poziomem RBP-4 w moczu oznaczonym z użyciem metody Luminex, a wartością eGFR u mężczyzn dzień po przeszczepieniu nerki. Natomiast dodatnią korelację pomiędzy stężeniem RBP-4 w surowicy oznaczonym z wykorzystaniem testu ELISA, a eGFR wykazano u badanych pacjentów bez podziału na płeć rok po przeszczepieniu nerek.

W prezentowanej pracy wykazano, że stężenie RBP-4 zmienia się istotnie w czasie zarówno w surowicy, jak i moczu oznaczone z wykorzystaniem obu metod

diagnostycznych. RBP-4 oznaczone w moczu kobiet rok po przeszczepieniu nerek korelowało istotnie dodatnio z poziomem kreatyniny, Na podstawie prezentowanych wyników badań zauważono, że wybór metody diagnostycznej ma wpływ na wynik tego parametru oznaczanego zarówno w surowicy, jak i w moczu. Wartości stężenia RBP-4 w surowicy i w moczu były wyższe przy wykorzystaniu do oznaczenia metody ELISA w porównaniu do metody Luminex.

Na podstawie badań własnych oraz innych publikacji należy rozważyć rolę RBP-4 jako samodzielnego markera do monitorowania pacjentów po przeszczepie. Uzyskane wyniki mimo istotności statystycznej wydają się nie być wystarczające, aby RBP-4 było stosowane w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej.

5.7. TFF3 jako biomarker uszkodzenia nerek

Wyniki wielu badań sugerują, że TFF3 pełni wiele funkcji, w tym gojenie się ran, ochronę błon śluzowych, proliferację i migrację komórek. Jednak rola TFF3 nie jest do końca poznana. Wyniki badań klinicznych i eksperymentalnych wskazują, że TFF3 bierze udział w wielu procesach patologicznych, w tym chorobach błon śluzowych i nowotworów (Kjellew 2007; Perry i wsp. 2008). Wykazano także, że peptyd ten posiada potencjalną wartość jako biomarker, w tym przerzutów nowotworowych (Bignottii wsp. 2008; Takano i Yamada 2009).

Stwierdzono także, że przewlekła choroba nerek wiąże się ze wzrostem stężenia TFF3 w surowicy i moczu, który może wynikać z wydzielania tego peptydu przez uszkodzone komórki nabłonka kanalików nerkowych (Du i wsp. 2013). Natomiast Endre (2014) opisali badanie przeprowadzone przez Pianta i wsp. (uniepublicznione dane), w którym prowadząc badania w grupie 75 pacjentów po przeszczepie nerki zauważyli, że stężenie TFF3 jest wysokie po zabiegu transplantacji, a następnie spada, niezależnie od obecności DGF. W prezentowanych badaniach potwierdzono tę zależność i wykazano, że stężenie TFF3 w surowicy oznaczone metodą ELISA spada istotnie w czasie. Pianta i wsp. (2015A) przebadali surowicę i mocz od 81 biorców nerki. Zaobserwowali oni, że stężenie TFF3 w moczu nie jest dobrym biomarkerem do wczesnej diagnostyki opóźnionej funkcji przeszczepu.

Brak jest dostępnych publikacji naukowych, dlatego też przedstawione badania własne poszerzają wiedzę na temat tego biomarkera w kontekście funkcjonowania nerki po przeszczepie, o czym mogą świadczyć stwierdzone istotne korelacje pomiędzy TFF3

a kreatyniną i eGFR w różnym czasie. U badanych pacjentów w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek wykazano dodatnią istotną zależność pomiędzy stężeniem TFF3 w surowicy oznaczonym z wykorzystaniem metody Luminex, a kreatyniną oraz pomiędzy kreatyniną a TFF3 w moczu oznaczonym metodą ELISA. U badanych kobiet w pierwszym dniu po transplantacji stwierdzono zależność pomiędzy kreatyniną, a stężeniem TFF3 w moczu z wykorzystaniem obu metod, natomiast pół roku i rok po przeszczepieniu nerek zaobserwowano istotną dodatnią korelację pomiędzy kreatyniną i TFF3 w surowicy oznaczonym metodą Luminex. Ponadto w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerek odnotowano istotną ujemną korelację pomiędzy eGFR, a stężeniem TFF3 w moczu oznaczonym metodą ELISA w grupie wszystkich badanych pacjentów bez podziału na płeć oraz w grupie kobiet, a także pomiędzy eGFR i TFF3 w surowicy oznaczonym metodą Luminex w grupie wszystkich pacjentów oraz pomiędzy eGFR i TFF3 w moczu oznaczonego metodą Luminex w grupie kobiet. U wszystkich badanych pacjentów oraz w grupie badanych kobiet pół roku po przeszczepieniu nerek zaobserwowano istotną ujemną korelację pomiędzy eGFR i TFF3 w surowicy oznaczonej metodą Luminex. Natomiast u badanych kobiet rok po przeszczepieniu nerek stwierdzono istotną ujemną korelację pomiędzy eGFR i TFF3 w moczu oznaczonym z wykorzystaniem obu metod.

W prezentowanych badaniach stwierdzono, że wybór metody diagnostycznej w przypadku oznaczania TFF3 w surowicy i moczu ma istotny wpływ na stężenie tego biomarkera. Wartości tego parametru oznaczone testem ELISA są wyższe względem wartości ocenionych z wykorzystaniem testu Luminex.

Na podstawie wyników własnych i dostępnych publikacji wydaje się, że TFF3 jest obiecującym markerem do monitorowania pacjentów po przeszczepie nerki, jednakże należy do tych danych podchodzić z ostrożnością mimo istotności statystycznej. Natomiast niewątpliwie badania te poszerzają wiedzę na temat tego biomarkera w kontekście przydatności po przeszczepie nerki.

5.8. CLU jako biomarker uszkodzenia nerek

Zauważono, że stężenie klusteryny wzrasta w uszkodzeniu niedokrwiennie-reperfuzyjnym, w przebiegu odrzucania przeszczepionej nerki, a także w przewlekłej chorobie nerek (Guo i wsp. 2016). Mechanizm wpływu klusteryny na układ moczowy nie do końca poznano. W prospektywnym badaniu obejmujących pacjentów po

transplantacji nerki (n=81) Pianta i wsp. (2015B) stwierdzili, że CLU wykazywała potencjał jako marker do przewidywania wystąpienia opóźnionej funkcji graftu w ciągu 4 godzin od zabiegu. W prezentowanych badaniach wykazano, że stężenie CLU w moczu oznaczone z wykorzystaniem obu metod oraz stężenie CLU w surowicy oznaczone metodą Luminex spadało istotnie w czasie. Wyniki prezentowanych badań wnoszą nowe wiadomości na temat CLU jako biomarkera u pacjentów po przeszczepie nerki. Odnotowano istotne zależności pomiędzy CLU a parametrami biochemicznymi, takimi jak kreatynina i eGFR. U badanych pacjentów dzień po i pół roku po przeszczepieniu nerek stężenie CLU nie korelowało istotnie ze stężeniem kreatyniny. Odnotowano natomiast istotną ujemną korelację pomiędzy stężeniem CLU w surowicy oznaczone z użyciem metody ELISA a kreatyniną u badanych pacjentów rok po przeszczepieniu nerek. Natomiast u badanych pacjentów rok po przeszczepieniu nerek odnotowano istotnie dodatnią korelację pomiędzy eGFR a CLU w surowicy oznaczonej metodą ELISA. Wyniki te mogą świadczyć o przydatności CLU w ocenie długoterminowej funkcji przeszczepu. Na podstawie prezentowanych wyników badań stwierdzono, że w przypadku oznaczania stężenia CLU w moczu wybór metody diagnostycznej ma wpływ na uzyskany wynik badania, ponieważ wartości otrzymane z wykorzystaniem metody Luminex są istotnie wyższe niż z użyciem metody ELISA.

Wydaje się, że CLU jest obiecującym markerem do monitorowania pacjentów po przeszczepie nerki, jednakże należy do tych danych podchodzić z ostrożnością mimo istotności statystycznej.

6. Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania i analiza wyników pozwoliły na sformułowanie poniższych stwierdzeń i wniosków.

1. Stężenia biomarkerów w surowicy/osoczu oraz moczu oznaczone metodą ELISA i fluorymetrii przepływowej xMap Luminex u pacjentów po transplantacji nerki zmieniają się w czasie (dzień, pół roku i rok po przeszczepieniu nerek).
2. Wartości stężenia biomarkerów u pacjentów po przeszczepieniu nerki oznaczonych w różnych punktach czasowych dwiema metodami różnią się istotnie od wartości tych białek oznaczonych u pacjentów z grupy kontrolnej.
3. Stwierdzono istotne korelacje pomiędzy stężeniami biomarkerów NGAL, KIM-1, CXCL-10, TFF3 i Cys C w surowicy i/lub moczu pacjentów, a stężeniem kreatyniny i wartością eGFR głównie w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki.
4. Wybór metody diagnostycznej (ELISA lub xMap Luminex) wpływa na wartość stężenia badanych biomarkerów w surowicy lub moczu z wyjątkiem stężenia osteopontyny.
5. Na podstawie wyników badań własnych i innych autorów zauważono, że spośród przebadanych biomarkerów przede wszystkim lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów, cząsteczka-1 uszkodzenia nerek, cystatyna C, chemokina 10 z motywem C-X-C i jelitowy czynnik trefoilowy 3 mogłyby być wykorzystywane do rutynowej diagnostyki funkcji nerek po transplantacji tego narządu. Oznaczanie równoległe stężenia tych biomarkerów wraz z poziomem kreatyniny i eGFR zarówno w surowicy, jak i moczu pacjentów może dostarczać przydatnych informacji diagnostycznych.
6. Istnieje duża potrzeba badań z tego zakresu. Należałoby poszerzać wiedzę dotyczących biomarkerów uszkodzenia nerek, aby w przyszłości mogły stać się samodzielnymi parametrami do oceny funkcji nerki po przeszczepieniu.

Piśmiennictwo

1. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. Immunologia - funkcje i zaburzenia układu immunologicznego. EdraUrban&Partner, Wrocław, Polska, 2015. ISBN: 978-8365195036.
2. Adegunsoye A, Streck ME, Garrity E, Guzy R, Bag R. Comprehensive care of the lung transplant patient. *Chest* 2017;152(1):150-164.
3. Albert C, Zapf A, Haase M, Röver C, Pickering JW, Albert A. i wsp. Neutrophil gelatinase associated lipocalin measured on clinical laboratory platforms for the prediction of acute kidney injury and the associated need for dialysis therapy: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2020;76(6):826-841.
4. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff, M. Roberts K, Walter P. Molecular Biology of the Cell, Wydanie 4 [online]. Garland Science, Nowy Jork, USA, 2002 [przeładowany 15.02.2023]. ISBN: 0-8153-3218-1. Dostępný w: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21054/>
5. Alchi B, Nishi S, Kondo D, Kaneko Y, Matsuki A, Imai N. i wsp. Osteopontin expression in acute renal allograft rejection. *Kidney Int.* 2005;67(3):886-896.
6. Alderson HV, Ritchie JP, Pagano S, Middleton RJ, Pruijm M, Vuilleumier N. i wsp. The associations of blood kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin with progression from CKD to ESRD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2016;11(12):2141-2149.
7. Al-Refai AA, Tayel SI, Ragheb A, Dala AG, Zahran A. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin as a marker of tubular damage in type 2 diabetic patients with and without albuminuria. *Open J. Nephrol.* 2014;4(1):37-46.
8. Al-Zoubi S, Wassouf A, Zetoune AB. Measuring levels of osteopontin as potential biomarker for hepatocellular carcinoma in syrian patients. *Gastroenterol. Hepatol. Bed Bench* 2017;10(2):97-101.
9. Anand S, Bajpai M, Khanna T, Kumar A. Urinary biomarkers as point of care tests for predicting progressive deterioration of kidney function in congenital anomalies of kidney and urinary tract: Trefoil Family Factors (TFFs) as the emerging biomarkers. *Pediatr. Nephrol.* 2021;36(6):1465-1472.

10. Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, Romagnani P, Ferrari SM, Buonamano A. i wsp. High levels of circulating CXC chemokine ligand 10 are associated with chronic autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004;89(11):5496-5499.
11. Arnold P, Rickert U, Helmers AK, Spreu J, Schneppenheim J, Lucius R. Trefoil factor 3 shows anti-inflammatory effects on activated microglia. *Cell Tissue Res.* 2016;365(1):3-11.
12. Askenazi DJ, Koralkar R, Hundley HE, Montesanti A, Parwar P, Sonjara S. i wsp. Urine biomarker predict acute kidney injury in newborns. *J. Pediatr.* 2012;161(2):270-275.
13. Atkinson AJ, Colburn WA, De Gruttola VG, De Mets DL, Downing GJ, Hoth DF. I wsp. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2001;69(3):89-95.
14. Axelsson L, Bergenfeldt M, Ohlsson K. Studies of the release and turnover of a human neutrophil lipocalin. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 1995;55(7):577-588.
15. Banner B, Makowka L, Demetris J, Tzakis A, Griffin M, Starzl TE. Hyperacute rejection of the kidney in patients with a negative crossmatch. *Transplant. Proc.* 1988;20(1 Suppl 1):453-459.
16. Bao GH, Ho CT, Barasch J. The ligands of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *RSC Adv.* 2015;5(126):104363-104374.
17. Bataille A, Abbas S, Semoun O, Bourgeois É, Marie O, Bonnet F. i wsp. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation and early renal function prediction. *Transplantation* 2011;92(9):1024-1030.
18. Becker LE, Morath C, Suesal C. Immune mechanisms of acute and chronic rejection. *Clin. Biochem.* 2016;49(4-5):320-323.
19. Beker B, Corleto M, Fieiras C, Musso C. Novel acute kidney injury biomarkers: their characteristics, utility and concerns. *Int. Urol. Nephrol.* 2018;50(4):705-713.
20. Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA, Addison CL, Ehlert JE, Burdick MD. i wsp. CXC chemokines in angiogenesis. *J. Leukocyte Biol.* 2000;68:1-8.
21. Bignotti E, Ravaggi A, Tassi RA, Calza S, Rossi E, Falchetti M. i wsp. Trefoil factor 3: a novel serum marker identified by gene expression profiling in high-grade endometrial carcinomas. *Br J Cancer.* 2008;99(5):768-773.

22. Bharat A, Narayanan K, Street T, Fields R, Steward N, Aloush A. i wsp. Early post transplant inflammation promotes the development of alloimmunity and chronic human lung allograft rejection. *Transplantation* 2007;83(2):150-158.
23. Blaner WS. Retinol binding protein: the serum transport protein for vitamin A. *Endocr. Rev.* 1989;10(3):308-316.
24. Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009;24(11):3265-3268.
25. Borregaard N, Sehested M, Nielsen BS, Sengeløv H, Kjeldsen L. Biosynthesis of granule proteins in normal human bone marrow cells. Gelatinase is a marker of terminal neutrophil differentiation. *Blood* 1995, 85 (3), 812-817.
26. Briguori C, Visconti G, Rivera NV, Focaccio A, Golia B, Giannone R. i wsp. Cystatin C and contrast induced acute kidney injury. *Circulation* 2010;121(19):2117-2122.
27. Brooks CR, Bonventre J. KIM-1/TIM-1 in proximal tubular cell immune response. *Oncotarget* 2015;6(42):44059-44060.
28. Brown LF, Berse B, Van de Water L, Papadopoulos-Sergiou A, Perruzzi C, Manseau E. i wsp. Expression and distribution of osteopontin in human tissues: widespread association with luminal epithelial surfaces. *Mol. Biol. Cell* 1992;3(10):1169-1180.
29. Bruemmer D, Collins A, Noh G, Wang W, Territo M, Arias-Magallona S. i wsp. Angiotensin II accelerated atherosclerosis and aneurysm formation is attenuated in osteopontin deficient mice. *J. Clin. Invest.* 2003;112(9):1318-1331.
30. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers WK, Gloor JM. i wsp. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus associated nephropathy. *Kidney Int.* 2003;64(2):665-673.
31. Burrows SR, Silins S, Khanna R, Burrows J, Rischmueller M, McCluskey J. i wsp. Cross-reactive memory T cells for Epstein-Barr virus augment the alloresponse to common human leukocyte antigens: degenerate recognition of major histocompatibility complex bound peptide by T cells and its role in alloreactivity. *Eur. J. Immunol.* 1997;27(7):1726-1736.
32. Câmara NOS, Silva MS, Nishida S, Pereira AB, Pacheco-Silva A. Proximal tubular dysfunction is associated with chronic allograft nephropathy and decreased long-term renal graft survival. *Transplantation* 2004;78(2):269-275.

33. Canavero S. Heaven: the head anastomosis venture project outline for the first human head transplantation with spinal linkage. *Surg. Neurol. Int.* 2013;4(Suppl 1):335-342.
34. Candido S, Maestro R, Polesel J, Catania A, Maira F, Signorelli SS. Roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in human cancer. *Oncotarget* 2014;5(6):1576-1594.
35. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M. i wsp. Neutrophil gelatinase associated lipocalin is an early and accurate biomarker of graft function and tissue regeneration in kidney transplantation from extended criteria donors. *PLoS One* 2015;10(6):e0129279.
36. Cao LQ, Lv M, Xu L, Zhang X, Chen H, Chen YH. i wsp. Prevalence and risk factors of having antibodies to class I and II Human Leukocyte Antigens in older haploidentical allograft candidates. *Sci. Rep.* 2020;10(1):2367.
37. Capelli I, Baraldi O, Comai G, Sala E, Cappuccilli M, Donadei C. i wsp. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin is a biomarker of delayed graft function after kidney transplantation. 2017;9,15-21.
38. Castello LM, Raineri D, Salmi L, Clemente N, Vaschetto R, Quaglia M. i wsp. Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression. *Mediators Inflamm.* 2017;2017:4049098.
39. Čabarkapa V. Cystatin C – more than the marker of the glomerular filtration rate. *Med Pregl.* 2015;68(5-6):173-179.
40. Chan M, Alcantara R, To A. Prevalence of HLA antibodies in female blood donors in Singapore. *Hum. Immunol.* 2015;76:101.
41. Chew JS, Saleem M, Florkowski CM, George PM. Cystatin C – a paradigm of evidence based laboratory medicine. *Clin. Biochem. Rev.* 2008;29(2):47-62.
42. Chinery R, Williamson J, Poulson R. The gene encoding human intestinal trefoil factor (TFF3) is located on chromosome 21q22.3 clustered with other members of the trefoil peptide family. *Genomics* 1996;32(2):281-284.
43. Choi HM, Park KT, Lee JW, Cho E, Jo SK, Cho W.Y. i wsp. Urine neutrophil gelatinase associated lipocalin predicts graft outcome up to 1 Year after kidney transplantation. *Transplant. Proc.* 2013;45(1):122-128.

44. Christensen B, Nielsen MS, Haselmann KF, Petersen TE, Sørensen ES. Post-translationally modified residues of Native Human osteopontin are located in clusters: identification of 36 phosphorylation and five O-glycosylation sites and their biological implications. *Biochem. J.* 2005;390(Pt 1):285-292.
45. Christensen EI, Moskaug JØ, Vorum H, Jacobsen C, Gundersen TE, Nykjær A. i wsp. Evidence for an essential role of megalin in transepithelial transport of retinol. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999;10(4):685-695.
46. Christians U, Klawitter J, Klawitter J. Biomarkers in transplantation – proteomics and metabolomics. *Ther. Drug Monit.* 2016;38(Suppl 1):70-74.
47. Çiçek, EA, Rota S, Dursun B, Kavalci E. Evaluation of serum NGAL and hepcidin levels in chronic kidney disease patients. 2015;38(1):35-39.
48. Ciftci HS, Tefik T, Savran MK, Demir E, Caliskan Y, Ogret YD. i wsp. Urinary CXCL9 and CXCL10 levels and acute renal graft rejection. *Int. J. Organ Transplant. Med.* 2019;10(2):53-63.
49. Cimerman N, Prebanda MT, Turk B, Popovič T, Dolenc I, Turk V. Interaction of cystatin C variants with papain and human cathepsins B, H and L. *J. Enzyme Inhib.* 1999;14(2):167-174.
50. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int.* 2008;73(9):1008-1016.
51. Corrêa RRM, Mac Hado JR, Da Silva MV, Helmo FR, Guimarães CSO, Rocha LP. i wsp. The importance of C4d in biopsies of kidney transplant recipients. *Clin. Dev. Immunol.* 2013;2013:1-8.
52. Cruz DN, Gaião S, Maisel A, Ronco C, Devarajan P. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012;50(9):1533-1545.
53. Cui LY, Zhu X, Yang S, Zhou JS, Zhang HX, Liu L. i wsp. Prognostic value of levels of urine neutrophil gelatinase associated lipocalin and interleukin-18 in patients with delayed graft function after kidney transplantation. *Transplant. Proc.* 2015;47(10):2846-2851.
54. Curci C, Sallustio F, Serino G, De Palma G, Trpevski M, Fiorentino M. i wsp. Potential role of effector memory T cells in chronic T Cell mediated kidney graft rejection. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2016;31(12):2131-2142.

55. De Matos ACC, Câmara NOS, De Oliveira AFF, Franco MF, Moura LAR, Nishida S. Functional and morphologic evaluation of kidney proximal tubuli and correlation with renal allograft prognosis. *Transpl. Int.* 2010;23(5):493-499.
56. De Silva HV, Harmony JAK, Stuart WD, Gil CM, Robbins J. Apolipoprotein J: structure and tissue distribution. *Biochemistry* 1990;29(22):5380-5389.
57. Denhardt DT, Noda M, O'Regan A, Pavlin D, Berman J. Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J. Clin. Invest.* 2001;107(9):1055-1061.
58. Devauchelle B, Badet L, Lengelé B, Morelon E, Testelin S, Michallet M. i wsp. First human face allograft: early report. *Lancet* 2006, 368;(9531):203-209.
59. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 2002;40(2):221-226.
60. Diao S, Zheng Q, Gao J, Yao Y, Ren S, Liu Y. i wsp. Trefoil factor 3 contributes to the malignancy of glioma via regulating HIF-1 α . *Oncotarget.* 2017;8(44):76770-76782.
61. Dieterle FFS, Goodsaid F, Papaluca M, Ozer J, Webb C, Baer W. i wsp. Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA EMEA and predictive safety testing consortium. *Nat. Biotechnol.* 2010;28(5):455-462.
62. Djamali A, Kaufman DB, Ellis TM, Zhong W, Matas A, Samaniego M. Diagnosis and management of antibody mediated rejection: current status and novel approaches. *Am. J. Transplant.* 2014;14(2):255-271.
63. Domingos MAM, Moreira SR, Gomez L, Goulart A, Lotufo PA, Benseñor I. i wsp. Urinary retinol binding protein: relationship to renal function and cardiovascular risk factors in chronic kidney disease. *PLoS One* 2016;11(9):e0162782.
64. Du TY, Luo HM, Qin HC, Wang F, Wang Q, Xiang Y. i wsp. Circulating serum trefoil factor 3 (TFF3) is dramatically increased in chronic kidney disease. *PLoS One* 2013;8(11):e80271.
65. El-Attar H, Gi K, Ew G. Human kidney injury molecule-1 (Kim-1). Level as an early marker for diabetic nephropathy in Egyptian type 2 diabetic patients. *J. Ren. Med.* 2017;3:1-13.
66. Endre ZH. Recovery from acute kidney injury: the role of biomarkers. *NephronClin. Pract.* 2014;127(1-4):101-105.

67. Esnouf RM. An extensively modified version of Molscript that includes greatly enhanced coloring capabilities. *J. Mol. Graphics and Modelling*. 1997;15:132–134.
68. Faubel S, Edelstein CL. Mechanisms and mediators of lung injury after acute kidney injury. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016;12(1):48-60.
69. Feldreich T, Carlsson AC, Helmersson-Karlqvist J, Risérus U, Larsson A, Linda L. Urinary osteopontin predicts incident chronic kidney disease, while plasma osteopontin predicts cardiovascular death in elderly men. *Cardiorenal Med.* 2017;7(3):245-254.
70. Field M, Lowe D, Cobbold M, Higgins R, Briggs D, Inston N. i wsp. The use of NGAL and IP-10 in the prediction of early acute rejection in highly sensitized patients following HLA incompatible renal transplantation. *Transpl. Int.* 2014;27(4):362-370.
71. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem. J.* 1996;318: 1-14.
72. Fonseca I, Oliveira JC, Almeida M, Cruz M, Malho A, Martins LS. i wsp. Neutrophil gelatinase associated lipocalin in kidney transplantation is an early marker of graft dysfunction and is associated with one year renal function. *J. Transplant.* 2013;2013:650123.
73. French LE, Tschopp J, Schifferli JA. Clusterin in renal tissue: preferential localization with the Terminal complement complex and immunoglobulin deposits in glomeruli. *Clin. Exp. Immunol.* 1992;88(3):389-393.
74. Fricker M, Wiesli P, Brändle M, Schwegler B, Schmid C. Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney Int.* 2003;63(5):1944-1947.
75. Fritz IB, Murphy B. Clusterin: insights into a multi functional protein. *Trends Endocrinol. Metab.* 1993;4(2)41-45.
76. Game DS, Lechler RI. Pathways of allorecognition: implications for transplantation tolerance. *Transpl. Immunol.* 2002;10(2–3):101-108.
77. Gao W, Wang H, Zhang L, Cao Y, Bao JZ, Liu Z. i wsp. Retinol binding protein 4 induces cardiomyocyte hypertrophy by activating TLR4/MyD88 pathway. *Endocrinology* 2016;157(6):2282-2293.
78. Gao J, Wu L, Wang S, Chen X. Role of chemokine (C-X-C Motif) ligand 10 (CXCL10) in renal diseases. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:6194864.

79. George B, Wen X, Mercke N, Gomez M, O'Bryant C, Bowles DW. i wsp. Profiling of kidney injury biomarkers in patients receiving cisplatin: time-dependent changes in the absence of clinical nephrotoxicity. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2017;101(4):510-518.
80. George B, Wen X, Mercke N, Gomez M, O'Bryant C, Bowles DW. i wsp. Time-dependent changes in kidney injury biomarkers in patients receiving multiple cycles of cisplatin chemotherapy. *Toxicol. Reports* 2020;7:571-576.
81. Geramizadeh B, Azarpira N, Ayatollahi M, Rais-Jalali GA, Aghdai M, Yaghoobi R. i wsp. Value of serum cystatin C as a marker of renal function in the early post kidney transplant period. *Saudi J. Kidney Dis. Transplant.* 2009;20(6):1015-7.
82. Ghiggeri GM, Bruschi M, Candiano G, Rastaldi MP, Scolari F, Passerini P. i wsp. Depletion of clusterin in renal diseases causing nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2002;62(6):2184-2194.
83. Giachelli CM, Steitz S. Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization. *Matrix Biol.* 2000;19(7):615-622.
84. Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore mediated iron acquisition. *Mol. Cell* 2002;10(5):1033-1043.
85. Gohda T, Kamei N, Koshida T, Kubota M, Tanaka K, Yamashita Y. i wsp. Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease. *J. Diabetes Investig.* 2020;11(2):435-440.
86. Gołąb J, Jakóbisiak M, Lasek W. Stokłosa T. Immunologia. Wydanie 7, Wydawnictwo PWN, Warszawa, Polska, 2017. ISBN: 978-83-01-19450-5.
87. Göthlin Eremo A, Lagergren K, Othman L, Montgomery S, Andersson G, Tina E. Evaluation of SPP1/osteopontin expression as predictor of recurrence in tamoxifen treated breast cancer. *Sci. Reports* 2020;10(1):1452.
88. Gotsch F, Romero R, Friel L, Kusanovic JP, Espinoza J, Erez O. i wsp. CXCL10/IP-10: a missing link between inflammation and anti-angiogenesis in preeclampsia? *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* 2007;20(11):777-792.
89. Griffin BR, Faubel S, Edelstein CL. Biomarkers of drug induced kidney toxicity. *Ther. Drug Monit.* 2019;41(2):213-226.

90. Grigoryev DN, Liu M, Hassoun HT, Cheadle C, Barnes KC, Rabb H. The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008;19(3):547-558.
91. Guo, J, Guan Q, Liu X, Wang H, Gleave ME, Nguan CYC. i wsp. Relationship of clusterin with renal inflammation and fibrosis after the recovery phase of ischemia reperfusion injury. *BMC Nephrol.* 2016;17(1):133.
92. Guo Y, Zhai J, Zhang J, Zhou H. NGAL protects in nasopharyngeal carcinoma by inducing apoptosis and blocking epithelial mesenchymal transition. *Oncol. Lett.* 2020;19(6):3711-3718.
93. Hall IE, Yarlagadda SG, Coca SG, Wang Z, Doshi M, Devarajan P. i wsp. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010;21(1):189-197.
94. Hamilton JA, Benson MD. Transthyretin: a review from a structural perspective. *Cell. Mol. Life Sci.* 2001;58(10):1491-1521.
95. Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.* 2002;62(1):237-244.
96. Han Z, Wang Z, Cheng G, Liu B, Li P, Li J. i wsp. Presence, localization and origin of clusterin in normal human spermatozoa. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2012;29(8):751-757.
97. Hankey K, Drachenberg C, Papadimitriou J, Klassen D, Philosophe B, Bartlett S. i wsp. MIC expression in renal and pancreatic allografts. *Transplantation* 2002;73(2):304-306.
98. Hassanein M, Augustine JJ. Chronic Kidney Transplant Rejection [online]. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). [przełgany 23.02.23]. Dostępny w: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549762/>.
99. Heyne N, Kemmner S, Schneider C, Nadalin S, Königsrainer A, Häring HU. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin accurately detects acute allograft rejection among other causes of acute kidney injury in renal allograft recipients. *Transplantation* 2012;93(12):1252-1257.
100. Higashi A, Dohi Y, Uraoka N, Sentani K, Uga S, Kinoshita H. i wsp. The potential role of inflammation associated with interaction between osteopontin and CD44 in a case of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy caused by breast cancer. *Intern. Med.* 2015;54(22):2877-2880.

101. Ho J, Tangri N, Komenda P, Kaushal A, Sood M, Brar R. i wsp. Urinary, plasma, and serum biomarkers' utility for predicting acute kidney injury associated with cardiac surgery in adults: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2015;66(6):993-1005.
102. Hoffmann W. Trefoil factor family (TFF) peptides and their diverse molecular functions in mucus barrier protection and more: changing the paradigm. *Int J Mol Sci.* 2020;21(12):4535.
103. Hollmen ME, Kyllönen LE, Merenmies J, Salmela KT. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin and recovery of kidney graft function after transplantation. *BMC Nephrol.* 2014;15(1):123.
104. Hosaka B, Park SI, Felipe CR, Garcia RG, Machado PGP. i wsp. Predictive value of urinary retinol binding protein for graft dysfunction after kidney transplantation. *Transplant. Proc.* 2003;35(4):1341-1343.
105. Hoyer JR, Otvos L Jr, Urge L. Osteopontin in urinary stone formation. *Ann N Y Acad Sci.* 1995;760:257-265.
106. Hudkins KL, Giachelli CM, Cui Y, Couser WG, Johnson RJ, Alpers CE. Osteopontin expression in fetal and mature human kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999;10(3):444-457.
107. Hudkins KL, Le QC, Segerer S, Johnson RJ, Davis CL, Giachelli CM. i wsp. Osteopontin expression in human cyclosporine toxicity. *Kidney Int.* 2001;60(2):635-640.
108. Hughes CE, Nibbs RJBA, Guide to chemokines and their receptors. *FEBS J.* 2018;285(16):2944–2971.
109. Icer MA, Gezmen-Karadag M, Sozen S. Can urine osteopontin levels, which may be correlated with nutrition intake and body composition, be used as a new biomarker in the diagnosis of nephrolithiasis? *Clin. Biochem.* 2018;60:38-43.
110. Ichimura T, Bonventre JV, Bailly V, Wei H, Hession CA, Cate RL. i wsp. Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up regulated in renal cells after injury. *J. Biol. Chem.* 1998;273(7):4135-4142.
111. Ingulli E. Mechanism of cellular rejection in transplantation. *Pediatr. Nephrol.* 2010;25(1):61-74.

112. Ishibashi Y, Ohtsu H, Ikemura M, Kikuchi Y, Niwa T, Nishioka K. i wsp. Serum TFF1 and TFF3 but not TFF2 are higher in women with breast cancer than in women without breast cancer. *Sci. Reports* 2017;7(1):4846.
113. Jackson JA, Kim E, Begley B, Cheeseman J, Harden T, Perez S. i wsp. Urinary chemokines CXCL9 and CXCL10 are non invasive markers of renal allograft rejection and BK viral infection. *Am. J. Transplant* 2011;11(10):2228-2234.
114. Jafari A, Khatami MR, Dashti-Khavidaki S, Lessan-Pezeshki M, Abdollahi A. Plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin as a marker for prediction of 3-month graft survival after kidney transplantation. *Int. J. Organ Transplant. Med.* 2017;8(1):17-27.
115. Jenne DE, Tschopp J. Clusterin: the intriguing guises of a widely expressed glycoprotein. *TrendsBiochem. Sci.* 1992;17(4):154-159.
116. Jensen D, Kierulf-Lassen C, Kristensen MLV, Nørregaard R, Weyer K, Nielsen R. i wsp. Megalin dependent urinary cystatin C excretion in ischemic kidney injury in rats. *PLoS One* 2017;12(6):e0178796.
117. Jeon HJ, Shin DH, Oh J, Kee YK, Park JY, Ko K. i wsp. Urinary retinol binding protein 4 is associated with renal function and rapid renal function decline in kidney transplant recipients. *Transplant. Proc.* 2022;54(2):362-366.
118. Jeong HJ. Diagnosis of renal transplant rejection: banff classification and beyond. *Kidney Res. Clin. Pract.* 2020;39(1):17-31.
119. Jiang QQ, Han MF, Ma K, Chen G, Wan XY, Kilonzo SB. i wsp. Acute kidney injury in acute on chronic liver failure is different from in decompensated cirrhosis. *World J. Gastroenterol.* 2018;24(21):2300-2310.
120. Jin ZK, Tian P, Wang X, Xue W, Ding X, Zheng J. i wsp. Kidney injury molecule-1 and osteopontin: new markers for prediction of early kidney transplant rejection. *Mol. Immunol.* 2013;54(3-4):457-464.
121. Kahles F, Findeisen HM, Bruemmer D. Osteopontin: a novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes. *Mol. Metab.* 2014;3(4):384-393.
122. Kamel MF, Nassar M, Elbendary A, Mohamed AGA, Abdullah MG, Gomaa HRA. i wsp. The potential use of urinary transferrin, urinary adiponectin, urinary retinol binding protein, and serum zinc alpha 2 glycoprotein levels as novel biomarkers for early diagnosis of diabetic nephropathy: a case control study. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* 2022;16(4):102473.

123. Kanai M, Raz A, Goodman DS. Retinol binding protein: the transport protein for vitamin A in human plasma. *J. Clin. Invest.* 1968;47(9):2025–2044.
124. Kanter J, Beltran S, Molina D, Vallecillo J, Sancho A, Gavela, E. i wsp. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin after kidney transplantation: is it a good biomarker to assess delayed graft function? *Transplant. Proc.* 2013;45(4):1368–1370.
125. Karásková E, Kubickova V, Velganova-Veghova M, Geryk M, Foltenova H, Karasek D. Circulating levels of WISP-1 (Wnt1-inducible signaling pathway protein 1) and other selected adipokines in children with inflammatory bowel disease. *Physiol. Res.* 2022;(2):275-284.
126. Karczewski M. Wczesne biomarkery ostrego i przewlekłego odrzucania w surowicy i moczu pacjentów poddanych allogenicznemu przeszczepowi nerki. *Now. Lek.* 2010;(79).
127. Kaucsár T, Godó M, Révész C, Kovács M, Mócsai A, Kiss N. i wsp. Urine/plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin ratio is a sensitive and specific marker of subclinical acute kidney injury in mice. *PLoS One* 2016;11(1):e0148043.
128. Kazanecki CC, Uzwiak DJ, Denhardt DT. Control of osteopontin signaling and function by post-translational phosphorylation and protein folding. *J Cell Biochem.* 2007;102(4):912-924.
129. Keshavarz Shahbaz S, Pourrezagholi F, Nafar M, Ahmadpoor P, Barabadi M, Foroughi F. i wsp. Dynamic variation of kidney injury molecule-1 mRNA and protein expression in blood and urine of renal transplant recipients: a cohort study. *Clin Exp Nephrol.* 2019;23(10):1235-1249.
130. Kielar M, Dumnicka P, Gala-Błądzińska A, Będkowska-Prokop A, Ignacak E, Maziarz B. Urinary NGAL measured after the first year post kidney transplantation predicts changes in glomerular filtration over one-year follow-up. *J. Clin. Med.* 2020;10(1):43.
131. Kim SS, Song S, Kim J, Jeon Y, Kim B, Kang M. i wsp. Urine clusterin/apolipoprotein J is linked to tubular damage and renal outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 2017;87(2):156-164.

132. Kitchens WH; Uehara S; Chase CM; Colvin RB; Russell PS; Madsen JC. The changing role of natural killer cells in solid organ rejection and tolerance. *Transplantation* 2006;81(6):811-817.
133. Kirsztajn GM, Nishida SK, Silva MS, Ajzen H, Moura LA, Pereira AB. Urinary retinol-binding protein as a prognostic marker in glomerulopathies. *Nephron*. 2002;90(4):424-431.
134. Kjellek S, Thim L, Pyke C, Poulsen SS. Cellular localization, binding sites, and pharmacologic effects of TFF3 in experimental colitis in mice. *Dig Dis Sci*. 2007;52(4):1050-1059.
135. Kohei J, Ishida H, Kazunari T, Tsuchiya K, Nitta K. Neutrophil gelatinase associated lipocalin is a sensitive biomarker for the early diagnosis of acute rejection after living donor kidney transplantation. *Int. Urol. Nephrol*. 2013;45(4):1159-1167.
136. Koradi R, Billeter M, Wüthrich K. MOLMOL: a program for display and analysis of macromolecular structures. *J Mol Graph*. 1996;14(1):51-5:29-32.
137. Krishnamurthy N, Arumugasamy K, Anand U, Anand CV, Aruna V, Venu G. Serum cystatin C levels in renal transplant recipients. *Indian J. Clin. Biochem*. 2011;26(2):120-124.
138. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M, Kasahara M, Yokoi H, Saito Y. i wsp. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int*. 2009;75(3):285-294.
139. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindstrom V. i wsp. Serum cystatin C determined by a rapid automated particle enhanced turbidimetric method is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin. Chem*. 1994;40(10):1921-1926.
140. Lacquaniti A, Caccamo C, Salis P, Chirico V, Buemi A, Cernaro V. i wsp. Delayed graft function and chronic allograft nephropathy: diagnostic and prognostic role of neutrophil gelatinase associated lipocalin. 2016;21(4):371-378.
141. Lazzeri E, Rotondi M, Mazzinghi B, Lasagni L, Buonamano A, Rosati A. i wsp. High CXCL10 expression in rejected kidneys and predictive role of pretransplant serum CXCL10 for acute rejection and chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2005;79(9):1215-1220.

142. Le Bricon T, Thervet E, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D. Changes in plasma cystatin C after renal transplantation and acute rejection in adults. *Clin. Chem.* 1999;45(12):2243-2249.
143. Lee EY, Kim MS, Park Y, Kim HS. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin and interleukin-18 as predictive biomarkers for delayed graft function after kidney transplantation. *J. Clin. Lab. Anal.* 2012;26(4):295-301.
144. Li X, Chen J, Cheng D, Wang R, Wang W, Zhang M. i wsp. Proteinuria, estimated glomerular filtration rate and urinary retinol binding protein as clinical predictors of long term allograft outcomes in transplant glomerulopathy. *Kidney Blood Press. Res.* 2018;43(6):1842-1851.
145. Li YM, Li Y, Yan L, Wang H, Wu XJ, Tang JT. i wsp. Comparison of urine and blood NGAL for early prediction of delayed graft function in adult kidney transplant recipients: a meta-analysis of observational studies. *BMC Nephrol.* 2019;20(1):291.
146. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420(6917):868–874.
147. Lim AI, Tang SCW, Lai KN, Leung JCK. Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells? *J. Cell. Physiol.* 2013;228(5):917–924.
148. Lima C, de Fatima Vattimo M, Macedo E. Neutrophil gelatinase associated lipocalin as a promising biomarker in acute kidney injury [online]. *Inflammation in the 21st Century.* IntechOpen; 2022. Dostępny w: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.93650>
149. Lisowska-Myjak B. Serum and urinary biomarkers of acute kidney injury. *Blood Purif.* 2010;29(4):357-65.
150. Liu M, Guo S, Hibbert J, Jain V, Singh N, Wilson N. i wsp. CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2011;22(3):121-130.
151. Liu SQ, Roberts D, Zhang B, Ren Y, Zhang LQ, Wu YH. Trefoil factor 3 as an endocrine neuroprotective factor from the liver in experimental cerebral ischemia/reperfusion injury. *PLoS One* 2013;8(10):e77732.
152. Lorenzen J, Krämer R, Kliem V, Bode-Boeger S, Veldink H, Haller H. i wsp. Circulating levels of osteopontin are closely related to glomerular filtration rate and cardiovascular risk markers in patients with chronic kidney disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2010;40(4):294-300.

153. Lorenzen JM, Hafer C, Faulhaber-Walter R, Kumpers P, Kielstein JT, Haller H. i wsp. Osteopontin predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011;26(2):531-537.
154. López-Botet M, Vilches C, Redondo-Pachón D, Muntasell A, Pupuleku A, Yélamos J. i wsp. Dual role of natural killer cells on graft rejection and control of cytomegalovirus infection in renal transplantation. *Front. Immunol.* 2017;8:166.
155. Luster AD, Ravetch JV. Biochemical characterization of a gamma interferon inducible cytokine (IP-10). *J. Exp. Med.* 1987;166(4):1084-1097.
156. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, Sukhova GK, Neote K, Libby P. i wsp. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J. Clin. Invest.* 1999;104(8):1041-1050.
157. Madero M, Sarnak MJ, Stevens LA. Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2006;15(6):610-616.
158. Małyszko J, Koc-Zorawska E, Małyszko J, Myśliwiec M. Kidney injury molecule-1 correlates with kidney function in renal allograft recipients. *Transplant. Proc.* 2010;42(10):3957-3959.
159. Małyszko J, Małyszko JS, Myśliwiec M. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin correlates with kidney function in renal allograft recipients. *Clin. Transplant.* 2009;23(5):681-686.
160. Mansour SG, Liu C, Jia Y, Reese PP, Hall IE, El-Achkar TM. i wsp. A lower ratio of uromodulin to osteopontin in deceased donor urine is associated with favorable kidney graft outcomes. *Transplantation* 2021;105(4):876-885.
161. Marchewka Z, Płonka J. The diagnostic importance of the new marker KIM-1 in kidney damage. *Post Hig.* 2013;67:695-699.
162. Mareš, J, Stejska D, Vavroušková J, Urbánek K, Herzig R, Hluštík P. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed. Pap.* 2003;147(2):177-180.
163. Marie MA, Abu Khalil RE, Habib HM. Urinary CXCL10: a Marker of nephritis in lupus patients. *Reumatismo* 2014;65(6):292-297.
164. Matz M, Beyer J, Wunsch D, Mashreghi MF, Seiler M, Pratschke J. i wsp. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short and long term graft function. *Kidney Int.* 2006;69(9):1683-1690.

165. McDonald JF, Nelsestuen GL. Potent inhibition of terminal complement assembly by clusterin: characterization of its impact on C9 polymerization. *Biochemistry* 1997;36(24):7464-7473.
166. Medić B, Rovčanin B, Basta Jovanović G, Radojević-Škodrić S, Prostran M. Kidney injury molecule 1 and cardiovascular diseases: from basic science to clinical practice. *Biomed Res. Int.* 2015;2015:854070.
167. Merhi B, Bayliss G, Gohh RY. Role for urinary biomarkers in diagnosis of acute rejection in the transplanted kidney. *World J. Transplant.* 2015;5(4):251–260.
168. Meyer zum Büschenfelde D, Tauber R, Huber O. TFF3 peptide increases transepithelial resistance in epithelial cells by modulating claudin 1 and 2 expression. *Peptides* 2006;27(12):3383-3390.
169. Michon A, Durrbach A, Gautier JC, Benain X, Lunven C, Jagerschmidt A. i wsp. Investigation of new biomarkers of kidney injury in renal transplant recipients undergoing graft biopsy. *Clin Transplant.* 2021;35(9):e14408.
170. Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes M, Ma Q, Kelly C. i wsp. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 2005;365(9466):1231–1238.
171. Monaco HL, Rizzi M, Coda A. Structure of a complex of two plasma proteins: transthyretin and retinol-binding protein. *Science* 1995;268(5213):1039–1041.
172. Moraes-Vieira PM, Yore MM, Dwyer PM, Syed I, Aryal P, Kahn BB. RBP4 activates antigen presenting cells leading to adipose tissue inflammation and systemic insulin resistance. *Cell Metab.* 2014;19(3):512-526.
173. Morath C, Opel G, Zeier M, Süsal C. Clinical relevance of HLA antibody monitoring after kidney transplantation. *J. Immunol. Res.* 2014;2014:845040.
174. Moreau A, Varey E, Anegon I, Cuturi MC. Effector mechanisms of rejection. cold spring harb. *Perspect. Med.* 2013;3(11):a015461.
175. Morgantetti GF, Balancin ML, de Medeiros GA, Dantas M, Silva GEB. Cytomegalovirus infection in kidney allografts: a review of literature. *Transl. Androl. Urol.* 2019;8(Suppl 2):192-197.
176. Murphy B, Kirszbaum L, Walker I, D'Apice A. SP-40,40, a newly identified normal human serum protein found in the SC5b-9 complex of complement and in the immune deposits in glomerulonephritis. *J. Clin. Invest.* 1988;81(6):1858-1864.

177. Murty MSN, Sharma UK, Pandey VB, Kankare SB. Serum cystatin C as a marker of renal function in detection of early acute kidney injury. *Indian J. Nephrol.* 2013;23(3):180-183.
178. Musiał K, Augustynowicz M, Miśkiewicz-Migoń I, Kałwak K, Ussowicz M, Zwolińska, D. Clusterin as a new marker of kidney injury in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – a pilot study. *J. Clin. Med.* 2020;9(8):2599.
179. Mussap M, Plebani M. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2004;41(6):467-550.
180. Nakhjavan-Shahraki B, Yousefifard M, Ataei N, Baikpour M, Ataei F, Bazargani B. i wsp. Accuracy of cystatin C in prediction of acute kidney injury in children; Serum or urine levels: which one works better? A systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):120.
181. Nakov R. New markers in ulcerative colitis. *Clin. Chim. Acta* 2019;497:141–146.
182. Nankivell BJ, Alexander SI. Rejection of the kidney allograft. *N. Engl. J. Med.* 2010;363: 1451-1462.
183. Nejat M, Pickering JW, Walker RJ, Endre ZH. Rapid detection of acute kidney injury by plasma cystatin C in the intensive care unit. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010;25(10):3283-3289.
184. Neville LF, Mathiak G, Bagasra O. The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 kD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C-X-C chemokine superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1997;8(3):207-219.
185. Nicholas SB, Liu J, Kim J, Ren Y, Collins AR, Nguyen L. i wsp. Critical role for osteopontin in diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 2010;77(7):588-600.
186. Nielsen B, Borregaard N, Bundgaard J, Timshel S, Sehested M, Kjeldsen L. Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut* 1996;38(3):414-420.
187. Nielsen MB, Krogstrup NV, Nieuwenhuijs-Moekeid GJ, Oltean M, Dor FJMF, Jespersen B. i wsp. pNGAL day 1 predicts early but not one year graft function following deceased donor kidney transplantation – the context study. *PLoS One* 2019;14(2):e0212676.

188. Nieto-Ríos JF, Serna-Higuita LM, Ocampo-Kohn C, Aristizábal-Alzate A, Vélez-Echeverry C, Vanegas-Ruíz JJ. i wsp. La lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos como factor temprano de predicción de la función retardada del injerto renal. *Biomédica* 2016;36(2):213-219.
189. Nowak N, Skupien J, Niewczas MA, Yamanouchi M, Major M, Croall S. i wsp. Increased plasma kidney injury molecule-1 suggests early progressive renal decline in non-proteinuric patients with type 1 diabetes. *Kidney Int.* 2016;89(2):459-467.
190. Odden MC, Tager I, Gansevoort R, Bakker S, Katz R, Fried L. i wsp. Age and cystatin C in healthy adults: a collaborative study. *Nephrol. Dial. Transplant* 2010;25(2):463-469.
191. Orosz C, Van Buskirk A. Immune mechanisms of acute rejection. *Transplant. Proc.* 1998;30(3):859-861.
192. Ouyang, J, He J, Fan YS, Fan C, Bin Sun HY, Wen DG. Expressions of interleukin-15 and osteopontin mRNA in early stage of acute rejection of renal allograft in rats. *Natl. Med. J. China* 2010;90(10):698-702.
193. Pająk B, Orzechowski A. Clusterin: he missing link in the calcium dependent resistance of cancer cells to apoptogenic stimuli. *Postepy Hig. Med. Dosw.* 2006;60:45-51.
194. Pallet N, Chauvet S, Chassé JF, Vincent M, Avillach P, Levi C. i wsp. Urinary retinol binding protein is a marker of the extent of interstitial kidney fibrosis. *PLoS One* 2014; 9(1):e84708.
195. Palomino DCT, Marti LC. Chemokines and immunity. *Einstein* 2015;13(3):469-473.
196. Parikh CR, Jani A, Mishra J, Ma Q, Kelly C, Barasch J. i wsp. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am. J. Transplant* 2006;6(7):1639-1645.
197. Park JS, Shim YJ, Kang BH, Lee WK, Min BH. Hepatocyte-specific clusterin over expression attenuates diet induced non alcoholic steatohepatitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;495(2):1775-1781.
198. Pascual M, Crespo M, Tolkoff-Rubin N. Progress in understanding humoral rejection in kidney transplantation: implications for patient management. *Nefrologia* 2001;21(4):327-331.

199. Paul LC. Chronic renal transplant loss. *Kidney Int.* 1995;47(6):1491-1499.
200. Perry JK, Kannan N, Grandison PM, Mitchell MD, Lobie PE. Are trefoil factors oncogenic? *Trends Endocrinol. Metab.* 2008;19(2):74-81.
201. Pezeshgi A, Abedi Azar S, Ghasemi, H, Kamali K, Esmaeilzadeh A, Hajsalimi B. i wsp. Role of plasma neutrophil gelatinase associated lipocalin as an emerging biomarker of acute renal failure following kidney transplantation and its correlation with plasma creatinine. *J. Ren. Inj. Prev.* 2016;5(2):98-103.
202. Pęczek K, Nowicki M. Diagnostyka różnicowa ostrego uszkodzenia nerek. *Forum Nefrol.* 2017;10(2):91-99.
203. Pianta TJ, Peake PW, Pickering JW, Kelleher M, Buckley NA, Endre ZH. Evaluation of biomarkers of cell cycle arrest and inflammation in prediction of dialysis or recovery after kidney transplantation. *Transpl. Int.* 2015A;28(12):1392-1404.
204. Pianta TJ, Peake PW, Pickering JW, Kelleher M, Buckley NA, Endre ZH. Clusterin in kidney transplantation: novel biomarkers versus serum creatinine for early prediction of delayed graft function. *Transplantation* 2015B;99(1):171-179.
205. Pöge UP, Gerhardt T, Bökenkamp A, Stoffel-Wagner B, Klehr HU, Sauerbruch T. i wsp. Time course of low molecular weight proteins in the early kidney transplantation period influence of corticosteroids. *Nephrol Dial Transpl.* 2004;19:2858-2863.
206. Podolsky DK, Lynch-Devaney K, Stow JL, Oates P, Murgue B, De Beaumont M. i wsp. Identification of human intestinal trefoil factor goblet cell specific expression of a peptide targeted for apical secretion. *J. Biol. Chem.* 1993;268(9):6694-6702.
207. Poon S, Easterbrook-Smith S, Rybchyn M, Carver J, Wilson M. Clusterin is an ATP independent chaperone with very broad substrate specificity that stabilizes stressed proteins in a folding competent state. *Biochemistry* 2000;39(51):15953-15960.
208. Pouliquen E, Koenig A, Chen C, Sicard A, Rabeyrin M, Morelon E. i wsp. Recent advances in renal transplantation: antibody mediated rejection takes center stage. *F1000Prime Rep.* 2015;7:51.
209. Pratschke, J, Stauch D, Kotsch K. Role of NK and NKT cells in solid organ transplantation. *Transpl. Int.* 2009;22(9):859-868.

210. Quaglia M, Merlotti G, Guglielmetti G, Castellano G, Cantaluppi V. Recent advances on biomarkers of early and late kidney graft dysfunction. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(15):1-34.
211. Rabant M, Amrouche L, Lebreton X, Aulagnon F, Benon A, Sauvaget V. Urinary C-X-C motif chemokine 10 independently improves the non invasive diagnosis of antibody mediated kidney allograft rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015;26(11):2840-2851.
212. Racusen LC, Regele H. The Pathology of chronic allograft dysfunction. *Kidney Int.* 2010;78:27-32.
213. Radosz A, Obuchowicz A. Potencjalne znaczenie diagnostyczne lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilową. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2013;67(1):66-66.
214. Rahimzadeh N, Otukesh H, Hoseini R, Sorkhi H, Otukesh M, Hoseini S. i wsp. Are serum and urine neutrophil gelatinase associated lipocalin predictive of renal graft function in short term? *Pediatr. Transplant.* 2012;16(7):796-802.
215. Reinholt FP, Hulthenby K, Oldberg A, Heinegardt D. Osteopontin a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990;87:4473-4475.
216. Ren H, Zhou X, Dai D, Liu X, Wang L, Zhou Y. i wsp. Assessment of urinary kidney injury molecule-1 and interleukin-18 in the early post burn period to predict acute kidney injury for various degrees of burn injury. *BMC Nephrol.* 2015;16(1):142.
217. Requião-Moura LR, Matos ACC, Ozaki KS, Câmara NOS, Pacheco-Silva AA, High level of urinary retinol-binding protein is associated with cytomegalovirus infection in kidney transplantation. *Clin. Sci.* 2018;132(18):2059-2069.
218. Reyes-Thomas J, Blanco I, Putterman C. Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2011;40(3):138-150.
219. Reza S, Shaukat A, Arain TM, Riaz QS, Mahmud M. Expression of osteopontin in patients with thyroid dysfunction. *PLoS One* 2013;8(2):e56533.
220. Rezk T, Salota R, Gan JJ, Lachmann HJ, Fontana M, Siew K. i wsp. Urinary retinol binding protein predicts renal outcome in systemic immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis. *Br. J. Haematol.* 2021;194(6):1016-1023.
221. Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR. Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clin. Chem.* 2001;47(11):2055-2059.

222. Rocha PN, Plumb TJ, Crowley SD, Coffman TM. Effector mechanisms in transplant rejection. *Immunol Rev.* 2003;196:51-64.
223. Rodziewicz-Motowidło S, Wahlbom M, Wang X, Lagiewka J, Janowski R, Jaskólski M. i wsp. Checking the conformational stability of cystatin C and its L68Q variant by molecular dynamics studies: why is the L68Q variant amyloidogenic? *J Struct Biol.* 2006;154(1):68-78.
224. Rogers SA, Padanilam BJ, Hruska KA, Giachelli CM, Hammerman MR. Meta nephric osteopontin regulates nephrogenesis in vitro. *Am. J. Physiol.* 1997;272(4Pt2):469-476.
225. Rogulska K, Wojciechowska-Koszko I, Dołęgowska B, Kwiatkowska E, Roszkowska P, Kapczuk P. i wsp. The most promising biomarkers of allogeneic kidney transplant rejection. *J Immunol Res.* 2022;28;2022:6572338.
226. Rollins BJ. Chemokines. *Blood* 1997;90(3):909-928.
227. Rosenberg ME, Silkensen J. Clusterin: physiologic and pathophysiologic considerations. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1995;27(7):633-645.
228. Rostami Z, Nikpoor M, Einollahi B. Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for early diagnosis of acute kidney injury in renal transplant recipients. *Nephrourol. Mon.* 2013;5(2):745-752.
229. Rotondi M, Rosati A, Buonamano A, Lasagni L, Lazzeri E, Pradella F. i wsp. High pretransplant serum levels of CXCL10/IP-10 are related to increased risk of renal allograft failure. *Am. J. Transplant.* 2004;4(9):1466-1474.
230. Roumenina LT, Zuber J, Frémeaux-Bacchi V. Physiological and therapeutic complement regulators in kidney transplantation. *Curr. Opin. Organ Transplant.* 2013;18(4):421-429.
231. Rouschop KMA, Roelofs JJTH, Sylva M, Rowshani AT, Ten Berge IJM, Weening JJ. i wsp. Renal expression of CD44 correlates with acute renal allograft rejection. *Kidney Int.* 2006;70(6):1127-1134.
232. Rysz J, Gluba-Brzózka A, Franczyk B, Jabłonowski Z, Ciałkowska-Rysz A. Novel biomarkers in the diagnosis of chronic kidney disease and the prediction of its outcome. *Int. J. Mol. Sci.* 2017;18(8):1702.
233. Sabbisetti V, Waikar S, Antoine D, Smiles A, Wang C, Ravisankar A. i wsp. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014;25(10):2177-2186.

234. Safdar OY, Shalaby M, Khathlan N, Elattal B, Bin Joubah M, Bukahri E. i wsp. Serum cystatin is a useful marker for the diagnosis of acute kidney injury in critically ill children: prospective cohort study. *BMC Nephrol.* 2016;17(1):130.
235. Salvadori M, Tsalouchos A. Biomarkers in renal transplantation: an updated review. *World J. Transplant.* 2017;7(3):161-178.
236. Salvalaggio PR, Graff RJ, Pinsky B, Schnitzler MA, Takemoto SK, Burroughs TE. I wsp. Cross match testing in kidney transplantation: patterns of practice and associations with rejection and graft survival. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* 2009;20(4):577-589.
237. Sayegh MH. Why do we reject a graft? Role of indirect allorecognition in graft rejection. *Kidney Int.* 1999;56(5):1967-1979.
238. Schaub S, Nickerson P, Rush D, Mayr M, Hess C, Golian M. i wsp. Urinary CXCL9 and CXCL10 levels correlate with the extent of subclinical tubulitis. *Am. J. Transplant.* 2009;9(6):1347-1353.
239. Schinstock CA, Stegall M, Cosio F. New insights regarding chronic antibody mediated rejection and its progression to transplant glomerulopathy. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2014;23(6):611-618.
240. Schlatzer D, Maahs DM, Chance MR, Dazard JE, Li X, Hazlett F. i wsp. Novel urinary protein biomarker predicting the development of microalbuminuria and renal function decline in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2012;35(3):549-555.
241. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li J, Kalandadze A, Cohen D, Devarajan P. i wsp. Dual action of neutrophil gelatinase associated lipocalin. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007;18(2):407-413.
242. Schulz CA, Engström G, Nilsson J, Almgren P, Petkovic M, Christensson A. i wsp. Plasma kidney injury molecule-1 (p-KIM-1) levels and deterioration of kidney function over 16 years. *Nephrol. Dial. Transplant* 2020;35(2):265-273.
243. Shahbaz SK, Pourrezaghali F, Barabadi M, Foroughi F, Hosseinzadeh M, Ahmadpoor P. i wsp. High expression of TIM-3 and KIM-1 in blood and urine of renal allograft rejection patients. *Transpl. Immunol.* 2017;43-44:11-20.
244. Shannan B, Seifert M, Boothman DA, Tilgen W, Reichrath J. Clusterin and DNA repair. A new function in cancer for a key player in apoptosis and cell cycle control. *J. Mol. Histol.* 2006;37(5-7):183-188.

245. Shen X, Cheng J, Yu G, Li X, Li H, Chen J. Urine B₂-microglobulin and retinol binding protein and renal disease progression in IgA nephropathy. *Front. Med.* 2021;8:792782.
246. Sim SH, Messenger MP, Gregory WM, Wind TC, Vasudev NS, Cartledge J. i wsp. Prognostic utility of pre operative circulating osteopontin, carbonic anhydrase IX and CRP in renal cell carcinoma. *Br. J. Cancer* 2012;107(7):1131-1137.
247. Singer E, Markó L, Paragas N, Barasch J, Dragun D, Müller DN. i wsp. Neutrophil gelatinase associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta Physiol. (Oxf)*. 2013;207(4):663-672.
248. Sinkala M, Zulu M, Kaile T, Simakando M, Chileshe C, Kafita D. i wsp. Performance characteristics of kidney injury molecule 1 in relation to creatinine, urea and microalbuminuria in the diagnosis of kidney disease. *Int. J. Appl. Basic Med. Res.* 2017;7(2):94-99.
249. Sjöström P, Tidman M, Jones I. The Shorter T_{1/2} of cystatin C explains the earlier change of its serum level compared to serum creatinine. *Clin. Nephrol.* 2004;62(3):241-242.
250. Slort PR, Ozden N, Pape L, Offner G, Tromp WF, Wilhelm AJ. i wsp. Comparing cystatin C and creatinine in the diagnosis of pediatric acute renal allograft dysfunction. *Pediatr. Nephrol.* 2012;27(5):843-849.
251. Solichova P, Karpisek M, Ochmanova R, Hanulova Z, Humenanska V, Stejskal D. i wsp. Urinary clusterin concentrations - a possible marker of nephropathy? Pilot study. *Biomed. Pap.* 2007;151(2):233-236.
252. Song J, Yu J, Prayogo GW, Cao W, Wu Y, Jia Z. i wsp. Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology. *Am. J. Transl. Res.* 2019;11(3):1219-1229.
253. Soto K, Coelho S, Rodrigues B, Martins H, Frade F, Lopes S. i wsp. Cystatin C as a marker of acute kidney injury in the emergency department. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010;5(10):1745-1754.
254. Spahillari A, Parikh CR, Sint K, Koyner JL, Patel UD, Edelstein CL. i wsp. Serum cystatin C versus creatinine based definitions of acute kidney injury following cardiac surgery: a prospective cohort study. *Am. J. Kidney Dis.* 2012;60(6):922-929.

255. Starzl TE, Thomas E. History of clinical transplantation. *World J. Surg* 2000;24:759-782.
256. Steinhoff JS, Lass A, Schupp M. Biological functions of RBP4 and its relevance for human diseases. *Front. Physiol.* 2021;12:659977.
257. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr. Opin. HIV AIDS* 2010;5(6):463-466.
258. Szeto CC, Kwan BCH, Lai KB, Lai FMM, Chow KM, Wang G. i wsp. Urinary expression of kidney injury markers in renal transplant recipients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2010;5(12):2329-2337.
259. Szirmay B, Kustán P, Horváth-Szalai Z, Ludány A, Lakatos Á, Mühl D. i wsp. Novel automated immune turbidimetric assay for routine urinary cystatin C determinations. *Bioanalysis* 2018;10(6):377-384.
260. Szumilas D, Wojnar J, Chudek J. Lipokalina związana z żelatyną neutrofilów jako marker ostrego uszkodzenia nerek u chorych onkologicznych leczonych cisplatyną. *Nowotw. J. Oncol.* 2016;66(2):160-166.
261. Taghizadeh-Afshari A, Mohammadi-Fallah M, Alizadeh M, Abkhiz S, Valizadeh R, Khadem-Ansari MH. i wsp. Serum cystatin C versus creatinine in the assessment of allograft function in early periods of kidney transplantation. *J. Ren. Inj. Prev.* 2017;7(1): 11-15.
262. Takano T, Yamada H. Trefoil factor 3 (TFF3): a promising indicator for diagnosing thyroid follicular carcinoma. *Endocr J.* 2009;56(1):9-16.
263. Tanase DM, Gosav EM, Radu S, Costea CF, Ciocoiu M, Carauleanu A. i wsp. The predictive role of the biomarker kidney molecule 1 (KIM-1) in acute kidney injury (AKI) cisplatin induced nephrotoxicity. *Int J Mol Sci.* 2019;22(20):5238.
264. Tarif N, Alwakeel JS, Mitwalli AH, Durdana H, Memon NA, Askar A. i wsp. Serum Cystatin C as a marker of renal function in patients with acute renal failure. *Saudi J. Kidney Dis. Transpl.* 2008;19(6):918-923.
265. Tatapudi RR, Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Li B, Sharma VK. i wsp. Non invasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine. *Kidney Int.* 2004;65(6):2390-2397.
266. Taupin D, Podolsky DK. Trefoil factors: initiators of mucosal healing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003;4(9):721-732.
267. Thim L. Trefoil peptides: from structure to function. *Cell. Mol. Life Sci.* 1997;53(11-12): 888-903.

268. Thim L, May FEB. Structure of mammalian trefoil factors and functional insights. *Cell. Mol. Life Sci.* 2005;62(24):2956-2973.
269. Thim L, Woldike HF, Nielsen PF, Christensen M, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Characterization of human and rat intestinal trefoil factor produced in yeast. *Biochemistry* 1995;34(14):4757-4764.
270. Toiyama Y, Fujikawa H, Kawamura M, Matsushita K, Saigusa S, Tanaka K. i wsp. Evaluation of CXCL10 as a novel serum marker for predicting liver metastasis and prognosis in colorectal cancer. *Int. J. Oncol.* 2012;40:560-566.
271. Trojanek J. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowe inhibitory. *Postepy Biochem.* 2012;58(3):353-362.
272. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin C and creatinine in urine. *Clin. Chim. Acta.* 2002;323(1-2):121-128.
273. Vaidya VS, Ferguson MA, Bonventre JV. Biomarkers of acute kidney injury. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2008;48:463-493.
274. Valenzuela N, Reed E. Antibody mediated rejection across solid organ transplants: manifestations, mechanisms, and therapies. *J. Clin. Invest.* 2017;127(7):2492-2504.
275. Valenzuela N, Reed E. Antibodies in transplantation: the effects of HLA and non-HLA antibody binding and mechanisms of injury. *Methods Mol. Biol.* 2013;1034:41-70.
276. van den Akker EK, Hesselink DA, Manintveld OC, IJzermans JN, de Bruijn RW, Dor FJ. Neutrophil gelatinase associated lipocalin, but not kidney injury marker 1, Correlates with duration of delayed graft function. *Eur Surg Res.* 2015;55(4):319-327.
277. van Timmeren MM, Vaidya VS, van Ree RM, Oterdoom LH, de Vries APJ, Gans ROB. I wsp. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients. *Transplantation* 2007;84(12):1625-1630.
278. Varalakshmi B, Kiranmyai V, Aparna B, Ram R, Rao P, Kumar V. Plasma osteopontin levels in patients with acute kidney injury requiring dialysis: a study in a tertiary care institute in south India. *Int. Urol. Nephrol.* 2020;52(5):917-921.

279. Vella JP, Spadafora-Ferreira M, Murphy B, Alexander S, Harmon W, Carpenter C. i wsp. Indirect allorecognition of major histocompatibility complex allopeptides in human renal transplant recipients with chronic graft dysfunction. *Transplantation* 1997;64(6):795-800.
280. Virzì GM, Clementi A, de Cal M, Cruz DN, Ronco C. Genomics and biological activity of neutrophil gelatinase associated lipocalin in several clinical settings. *Blood Purif.* 2013;35:(1–3):139-143.
281. Waaga AM, Gasser M, Laskowski I, Tilney NL. Mechanisms of chronic rejection. *Curr. Opin. Immunol.* 2000;12(5):517-521.
282. Waanders F, van Timmeren MM, Stegeman CA, Bakker SJ, van Goor H. Kidney injury molecule-1 in renal disease. *J. Pathol.* 2010;220(1):7-16.
283. Wadey RM, Pinches MG, Jones HB, Riccardi D, Price SA. Tissue expression and correlation of a panel of urinary biomarker following cisplatin induced kidney injury. *Toxicol. Pathol.* 2014;42(3):591-602.
284. Wai PY, Kuo PC. The role of osteopontin in tumor metastasis. *J. Surg. Res.* 2004;121(2):228-241.
285. Wang J, Tang Q, Qiu Y, Xu M, Rong R, Zhu T. Osteopontin level correlates with acute cellular renal allograft rejection. *J. Surg. Res.* 2013;182(1):161-165.
286. Wasung ME, Chawla LS, Madero M. Biomarkers of renal function, Which and when? *Clin. Chim. Acta* 2015;438:350-357.
287. Watson D, Yang JYC, Sarwal RD, Sigdel TK, Liberto JM, Damm I. i wsp. Novel multi-biomarker assay for non invasive quantitative monitoring of kidney injury. *J. Clin. Med.* 2019;8(4):499.
288. Weseslindtner L, Hedman L, Wang Y, Strassl R, Helanterä I, Aberle S. i wsp. Longitudinal assessment of the CXCL10 blood and urine concentration in kidney transplant recipients with BK Polyomavirus replication. A retrospective study. *Transpl. Int.* 2020;33(5):555-566.
289. Wong JPC, Wei R, Lyu P, Tong OLH, Zhang SD, Wen Q. i wsp. Clinical and in vitro analysis of osteopontin as a prognostic indicator and unveil its potential downstream targets in bladder cancer. *Int. J. Biol. Sci.* 2017;13(11):1373-1386.
290. Wróblewski K. NGAL jako wskaźnik wczesnego ostrego uszkodzenia nerek. *Med. po dyplomie* 2011;20(6):15.

291. Wu CY, Yang H, Chien H, Tseng M, Huang J. Urinary clusterin a novel urinary biomarker associated with pediatric lupus renal histopathologic features and renal survival. *Pediatr. Nephrol.* 2018;33(7):1189-1198.
292. Xie Y, Sakatsume M, Nishi S, Narita I, Arakawa M, Gejyo F. Expression, roles, receptors, and regulation of osteopontin in the kidney. *Kidney Int.* 2001;60:1645-1657.
293. Xiong S, Qi T, Gong N, Yang C. Correlation and diagnostic value of serum RBP4 and sRAGE and the condition of patients with chronic kidney disease. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* 2021;2021:6166528.
294. Yamanari T, Sugiyama H, Tanaka K, Morinaga H, Kitagawa M, Onishi A. i wsp. Urine trefoil factors as prognostic biomarkers in chronic kidney disease. *Biomed Res. Int.* 2018;2018:3024698
295. Yan J, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses M. The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL. *J. Biol. Chem.* 2001;276(40):37258-37265.
296. Yan C, Yu L, Zhang XL, Shang JJ, Ren J, Fan, J. i wsp. Cytokine profiling in chinese SLE patients: correlations with renal dysfunction. *J. Immunol. Res.* 2020;2020:8146502.
297. Yang HH, Hsu BG, Ho CC, Lee MC. Association of serum osteopontin with first hospitalization and all cause mortality after kidney transplantation. *Tzu-Chi Med. J.* 2022;34(2):200-206.
298. Yang J, Goetz D, Li J, Wang W, Mori K, Setlik D. i wsp. Iron delivery pathway mediated by a lipocalin. *Mol. Cell* 2002;10(5):1045-1056.
299. Yang N, Qin Q. Apolipoprotein J: a new predictor and therapeutic target in cardiovascular disease? *Chin. Med. J. (Engl).* 2015;128(18):2530-2534.
300. Yanjing J, Jinyou S, Tianhong S, Xiaosong G. Adipokine retinol binding protein 4 and cardiovascular diseases. *Front. Physiol.* 2022;13:258.
301. Yates-Binder CC, Rodgers M, Jaynes J, Wells A, Bodnar RJ, Turner T. An IP-10 (CXCL10) derived peptide inhibits angiogenesis. *PLoS One* 2012;7(7):e40812.
302. Young MF, Kerr JM, Termine JD, Wewer UM, Wang MG, McBride OW. cDNA cloning, mRNA distribution and heterogeneity, chromosomal location, and RFLP analysis of human osteopontin (OPN). *Genomics* 1990;7(4):491-502.

303. Zeng XF, Lu DX, Li JM, Tan Y, Li Z, Zhou L. i wsp. Performance of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, clusterin, and cystatin C in predicting diabetic kidney disease and diabetic microalbuminuria: a consecutive cohort study. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):233.
304. Zhang R. Donor specific antibodies in kidney transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2018;13:182-192.
305. Zhang W, Zhou W, Zhang Z, Zhang Z, He J, Shi B. Decreased retinol binding protein 4 in the sera of patients with end stage renal disease after kidney transplantation. *Genet. Mol. Res.* 2014;13(4):8126-8134.
306. Zhao F, Zhang Y, Wang H, Jin M, He S, Shi Y. i wsp. Blockade of osteopontin reduces alloreactive CD8⁺ T cel mediated graft versus host disease. *Blood* 2011;117(5):1723-1733.
307. Zhao H, Chen Q, Alam A, Cui J, Suen KC, Soo AP. i wsp. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death Dis.* 2018;9(3):356.
308. Zheng H, Liu H, Hao A, Zhang M, Wang D. Association between serum cystatin C and renal injury in patients with chronic hepatitis B. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(32):e21551.
309. Zhou C, Chen Y, He X, Xue D. The value of cystatin C in predicting perioperative and long term prognosis of renal transplantation. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2022;82(1):1-5.
310. Zhou W, Guan Q, Kwan CCH, Chen H, Gleave ME, Nguan CYC. i wsp. Loss of clusterin expression worsens renal ischemia reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Physiol.* 2010;298(3):568-578.
311. Zhu M, Chen Z, Wei Y, Yuan Y, Ying L, Zhou H, i wsp. The predictive value of urinary kidney injury molecular-1 for long-term graft function in kidney transplant patients: a prospective study. *Ann Transl Med.* 2021;9(3):244.
312. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000;12(2):121-127.

Wykaz tabel

Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej przed przeszczepem allogenicznym nerki, część I

Tabela 2. Charakterystyka pacjentów z grupy badanej przed przeszczepem allogenicznym nerki, część II

Tabela 3. Rozcieńczenia biomarkerów wykorzystane w prezentowanych badaniach w testach ELISA

Tabela 4. Jednostki, zakres oraz wrażliwość biomarkerów wykorzystane w prezentowanych badaniach w testach ELISA i Luminex (R&d Systems, USA)

Tabela 5. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu lub moczu badanych pacjentów pobranych dzień, pół i rok po przeszczepie nerek ocenianych z wykorzystaniem metody ELISA

Tabela 6. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu lub moczu badanych pacjentów pobranych dzień, pół i rok po przeszczepie nerek ocenianych z wykorzystaniem metody Luminex

Tabela 7. Stężenie biomarkerów w surowicy/osoczu i moczu pacjentów z grupy kontrolnej oceniane metodą ELISA i Luminex

Tabela 8. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów grupy badanej w różnym czasie od przeszczepu nerki i grupy kontrolnej uzyskanych z wykorzystaniem metody ELISA

Tabela 9. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów grupy badanej w różnym czasie od przeszczepu nerki i grupy kontrolnej uzyskanych z wykorzystaniem metody Luminex

Tabela 10. Porównanie stężenia lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml]

Tabela 11. Porównanie stężenia cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy [pg/ml] i moczu [ng/ml] metodą ELISA i Luminex

Tabela 12. Porównanie stężenia chemokiny10 z motywem C-X-C (CXCL-10) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [pg/ml]

Tabela 13. Porównanie stężenia osteopontyny (OPN) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy/osoczu i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml]

Tabela 14. Porównanie stężenia cystatyny C (Cys C) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml]

Tabela 15. Porównanie stężenia białka wiążącego retinol 4 (RBP-4) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [mg/l]

Tabela 16. Porównanie stężenia jelitowego czynnika trefoilowego 3 (TFF3) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy i moczu metodą ELISA i Luminex [ng/ml]

Tabela 17. Porównanie stężenia klusteryny (CLU) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy [μ g/ml] i moczu [ng/ml] metodą ELISA i Luminex

Tabela 18. Porównanie stężenia kreatyniny u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki ocenianych w surowicy (mg/dl)

Tabela 19. Porównanie poziomu eGFR (ml/min/1,73) u pacjentów w różnym czasie od przeszczepu nerki

Tabela 20. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 21. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 22. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 23. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 24. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 25. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 26. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą ELISA u badanych kobiet po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 27. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w surowicy metodą Luminex u badanych po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 28. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w surowicy metodą Luminex u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 29. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 30. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 31. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 32. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 33. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 34. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych mężczyzn po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 35. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniami biomarkerów oznaczonych w moczu metodą Luminex u badanych kobiet po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 36. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 37. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 38. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy stężeniem kreatyniny a stężeniami biomarkerów u badanych po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 39. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych w pierwszym dniu po przeszczepieniu nerki

Tabela 40. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych po pół roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 41. Współczynniki korelacji rang Spearmana pomiędzy wartością eGFR a stężeniami biomarkerów u badanych po roku po przeszczepieniu nerki

Tabela 42. Porównanie wartości biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów po przeszczepie nerki uzyskanych z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Tabela 43. Zestawienie stężenia biomarkerów w surowicy i moczu pacjentów po przeszczepieniu nerek na podstawie danych z piśmiennictwa naukowego i badań własnych

Tabela Z1. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex w pierwszym dniu po przeszczepie nerki

Tabela Z2. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex po pół roku po przeszczepie nerki

Tabela Z3. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex po roku po przeszczepie nerki

Tabela Z4. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania parametrów biochemicznych uzyskane u pacjentów w grupie badanej w odstępach czasu po przeszczepie nerki

Tabela Z5. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane w grupie kontrolnej metodą ELISA i xMap Luminex

Wykaz rycin

Rycina 1. Zestawienie liczby wykonywanych zabiegów transplantacyjnych na świecie w latach 2017-2021 na podstawie WHO-ONT Global Observatory on Donation and Transplantation (GODT)

Rycina 2. Typy odrzucania przeszczepu nerki

Rycina 3. Charakterystyka wybranych biomarkerów diagnostycznych proponowanych do oceny czynności nerek po przeszczepie allogenicznym nerki

Rycina 4. Struktura lipokaliny związanej z żelatynazą neureofilów (NGAL)

Rycina 5. Struktura cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1)

Rycina 6. Struktura krystaliczna chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10)

Rycina 7. Model struktury ludzkiej osteopontyny

Rycina 8. Modele ludzkiego monomeru hCC z wybranymi β -niciami, pętlami α -helisy i L1, L2 (a) i dimeru (b) cystatyny C

Rycina 9. Struktura białka wiążącego retinol 4

Rycina 10. Trójlistna struktura z wiązaniami dwusiarczkowymi prototypowych peptydów z rodziny ludzkich czynników trefoilowych

Rycina 11. Struktura klusteryny

Rycina 12. Płytko 96-dołkowa do analizy metodą Luminex (fotografia oryginalna)

Rycina 13. Płytko 96-dołkowa do analizy metodą Luminex umieszczona na magnezie (fotografia oryginalna)

Rycina 14. Stanowisko do odczytu testów wykonanych metodą Luminex (od lewej pompa, aparat LABScan 100 i komputer z oprogramowaniem do odczytu) (fotografia oryginalna)

Rycina 15. Automatyczna płuczka do płukania testów ELISA (A) i czytnik do odczytu testów ELISA (B) (fotografia oryginalna)

Rycina 16. Zmiana zabarwienia w studzienkach po dodaniu substratu (A) i po dodaniu roztworu hamującego reakcję (B) (fotografia oryginalna)

Rycina 17. Porównanie wartości NGAL w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 18. Porównanie wartości KIM-1 w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 19. Porównanie wartości CXCL-10 w surowicy i moczu badanych pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 20. Porównanie stężenia OPN w surowicy/osoczu i moczu pacjentów pobranych dzień po (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepieniu nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 21. Porównanie stężenia Cys C w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 22. Porównanie stężenia RBP-4 w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 23. Porównanie wartości TFF3 w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Rycina 24. Porównanie wartości CLU w surowicy i moczu pacjentów pobranych dzień (A), pół roku (B) i rok (C) po przeszczepie nerki z wykorzystaniem metod ELISA i Luminex

Streszczenie

Transplantologia kliniczna jest dziedziną medycyny stale rozwijającą się. Przeszczepianie nerek w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat stało się standardową praktyką kliniczną. Jednak dużym problemem jest odrzucanie przeszczepionych narządów i tkanek. Przeszczep allogeniczny nerki wzbudza odpowiedź immunologiczną. Według przyjętych zasad, typy odrzucania graftu podzielone są w zależności od czasu w jakim pojawiła się niewydolność narządu. Wyróżnia się odrzucanie nadostre, ostre, ostre przyspieszone i przewlekłe. Zastosowanie biomarkerów zarówno w badaniach klinicznych, jak i w rutynowej praktyce stało się powszechne i jest wykorzystywane również w diagnostyce funkcji nerek po przeszczepie.

Głównym celem badawczym było określenie wartości diagnostycznej wybranych biomarkerów, w tym lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL), cząsteczki-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), chemokiny 10 z motywem C-X-C (CXCL-10), osteopontyny (OPN), cystatyny C (Cys C), białka wiążącego retinol 4 (RBP-4), jelitowego czynnika trefoilowy 3 (TFF3) i klusteryny (CLU) wykorzystywanych do diagnostyki uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie allogenicznym nerki.

Badania prowadzone były w okresie od 2018 do 2022 roku. Badaniami objęto dorosłych pacjentów po transplantacji nerki (n=19), którzy stanowili grupę badaną oraz osoby zdrowe (n=5) bez chorób nerkopochodnych stanowiących grupę kontrolną. Od biorców nerki pobrano próbki krwi i moczu w odstępach czasowych według schematu: 1 doba–6 miesięcy–12 miesięcy. Łącznie w grupie badanej pobrano 57 próbek krwi i 57 próbek moczu. Od grupy kontrolnej pobrano jednorazowo krew i moc. Łącznie w grupie kontrolnej pobrano pięć próbek krwi i pięć próbek moczu. Oznaczenie biomarkerów wykonano dwiema metodami: testem immunoenzymatycznym ELISA i fluorymetrii przepływową xMap Luminex.

Na podstawie prezentowanych wyników stwierdzono, że stężenia biomarkerów w surowicy/osoczu oraz moczu oznaczone metodą ELISA i fluorymetrii przepływową xMap Luminex u pacjentów po transplantacji nerki zmieniają się w czasie, tj. dzień po przeszczepie, pół roku po przeszczepie i rok po przeszczepie. Dodatkowo wykazano, że stężenia biomarkerów u pacjentów po przeszczepie nerki oznaczonych w różnych punktach czasowych dwiema metodami różnią się istotnie od wartości tych białek

w grupie kontrolnej. Stwierdzono także istotne korelacje pomiędzy stężeniami biomarkerów w grupie badanej a stężeniem kreatyniny i wartością eGFR dzień, pół roku i rok po przeszczepieniu nerki. Dodatkowo wybór metody diagnostycznej – ELISA lub xMap Luminex wpływa na stężenie badanych biomarkerów w surowicy lub moczu z wyjątkiem OPN.

Spośród przebadanych biomarkerów najwięcej nadziei budzą przede wszystkim NGAL, KIM-1, Cys C, CXCL-10 i TFF3. Oznaczanie ich równoległe z poziomem kreatyniny i eGFR zarówno w surowicy jak i moczu może dostarczać przydatnych informacji diagnostycznych. Należałoby poszerzać wiedzę na temat tych biomarkerów, aby w przyszłości mogły stać się samodzielnymi parametrami do oceny funkcji nerki po przeszczepie.

Summary

Clinical transplantology is a constantly evolving field of medicine. Over the past few decades kidney transplantation has become standard clinical practice. However, the rejection of transplanted organs and tissues is a huge problem. Allogenic kidney transplantation activates an immune response. According to accepted rules, the types of graft rejection are divided depending on the time in which organ failure appeared. Transplant rejection can be classified into acute, hyperacute and chronic. In both, clinical trials and routine practice, using of biomarkers has become common and is also used in the renal function diagnostic after transplantation.

The main object of the study was to determine the diagnostic value of selected biomarkers, including neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule (KIM-1), C-X-C motif chemokine ligand 10 (CXCL-10), osteopontin (OPN), cystatin C (CysC), retinol binding protein 4 (RBP-4), trefoil factor 3 (TFF3) and clusterin (CLU) which are used in the diagnostic of the renal failure among patients after allogenic transplantation.

Research was taken during 2018 to 2022. The study included adult patients after kidney transplantation (n=19), who were the study group, and healthy people (n=5) without renal-derived diseases who were the control group. Blood and urine samples were taken from kidney recipients at intervals according to the schedule: 1 day-6 months-12 months. A total of 57 blood samples and 57 urine samples were taken in the study group. Blood and urine were taken from the control group once. In total, five blood samples and five urine samples were taken in the control group. Biomarkers were detected by two methods: ELISA enzyme immunoassay and xMap Luminex flow cytometry.

Based on the presented results, it was found that concentrations of biomarkers in serum and urine determined by ELISA and xMap Luminex flow cytometry in patients after kidney transplantation change over time, i.e. one day after transplantation, six months after transplantation and one year after transplantation. In addition, it has been shown that the concentrations of biomarkers in kidney transplant patients determined at different time points by two methods differ significantly from the values of these proteins in the control group. There were also significant correlations between the concentrations of biomarkers in the study group and the concentration of creatinine and the eGFR value at one day, six months and one year after kidney transplantation. In

addition, the choice of diagnostic method - ELISA or xMap Luminex affects the concentration of tested biomarkers in serum and urine, except OPN.

Among the biomarkers tested, NGAL, KIM-1, Cys C, CXCL-10 and TFF3 are the most hopeful. Parallel marking of them with the level of creatinine and eGFR in both serum and urine can provide useful diagnostic information. Knowledge about these biomarkers should be expanded so that in the future they can become independent parameters for assessing kidney function after transplantation.

Załączniki

Załącznik nr 2 zawiera tabele Z1-Z5 ze szczegółowymi wynikami stężeń biomarkerów grupy kontrolnej i grupy badanej oraz parametrów biochemicznych grupy badanej.

Review Article

The Most Promising Biomarkers of Allogeneic Kidney Transplant Rejection

Karolina Rogulska ¹, **Iwona Wojciechowska-Koszko** ¹, **Barbara Dołęgowska** ¹,
Ewa Kwiatkowska ², **Paulina Roszkowska** ¹, **Patrycja Kapczuk** ³,
and Danuta Kosik-Bogacka ⁴

¹Department of Microbiology, Immunology and Laboratory Medicine, Pomeranian Medical University, Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin, Poland

²Department of Nephrology, Transplantology and Internal Medicine, Pomeranian Medical University, Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin, Poland

³Department of Biochemistry and Medical Chemistry, Pomeranian Medical University, Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin, Poland

⁴Independent Laboratory of Pharmaceutical Botany, Pomeranian Medical University, Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin, Poland

Correspondence should be addressed to Karolina Rogulska; karolina.rogulska@pum.edu.pl

Received 11 March 2022; Accepted 30 April 2022; Published 28 May 2022

Academic Editor: Theresa Hautz

Copyright © 2022 Karolina Rogulska et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Clinical transplantology is a constantly evolving field of medicine. Kidney transplantation has become standard clinical practice, and it has a significant impact on reducing mortality and improving the quality of life of patients. Allogeneic transplantation induces an immune response, which may lead to the rejection of the transplanted organ. The gold standard for evaluating rejection of the transplanted kidney by the recipient's organism is a biopsy of this organ. However, due to the high invasiveness of this procedure, alternative diagnostic methods are being sought. Therefore, the biomarkers may play an essential predictive role in transplant rejection. A review of the most promising biomarkers for early diagnosis and prognosis prediction of allogeneic kidney transplant rejection summarizes novel data on neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), C-X-C motif chemokine 10 (CXCL-10), cystatin C (CysC), osteopontin (OPN), and clusterin (CLU) and analyses the dynamics of changes of the biomarkers mentioned above in kidney diseases and the mechanism of rejection of the transplanted kidney.

1. Introduction

Clinical transplantology is a constantly evolving field of medicine [1]. Developments in surgical techniques and changes in immunosuppressive therapy have made effective organ and tissue transplantation possible [2]. Currently, in addition to performing traditional organ transplants, experimental head and face transplants are being attempted [3, 4].

Kidney transplantation has become standard clinical practice over the past few decades [5]. It has a significant impact on reducing mortality and improving patients' quality of life by

not requiring haemodialysis or peritoneal dialysis [6]. The number of transplantation procedures performed globally, including kidney transplantation, increases every year. However, the rejection of transplanted organs and tissues is a significant problem. To date, the mechanisms that allow long-term functional maintenance of the transplanted kidney have not been thoroughly understood.

The monitoring of transplanted kidney is based on physical examination, urine volume, the assessment of albuminuria or proteinuria, serum creatinine, and glomerular filtration rate (GFR) estimation based on serum creatinine [7].

Serum creatinine levels are the most commonly used biochemical parameter; they increase late in injury and are non-specific for the type of injury [8]. It is thought that it is likely to be a factor in determining long-term graft survival [9]. However, serum concentrations of this parameter are not sensitive and specific for estimating the condition of the graft [10]. Additionally, the serum creatinine level is not able to predict or evaluate the progression of chronic injury and as a consequence is not specific or predictive [8]. The histological examination through renal biopsy remains the gold standard for diagnosis to evaluate the rejection process of the transplanted kidney, which can indicate chronic immune injury or display interstitial fibrosis and tubular atrophy (IFTA) [11]. The biopsies are associated with sampling error, and there is a lack of consensus around both histologic interpretation and the effectiveness of treatment [12]. This method has several drawbacks, characterised by low sensitivity, low specificity due to heterogeneity of processes underlying the same lesion, lack of standardization and of quantitative thresholds, and sampling errors [13]. Due to the high invasiveness of this procedure, alternative methods of diagnosis are being sought [14, 15]. The evaluation of kidney transplant rejection also used the imaging techniques, including monitor renal graft perfusion using Doppler ultrasound, contrast-enhanced ultrasound (CEUS), and magnetic resonance imaging (MRI) as well as nuclear imaging [16]. Attempts are now being made to minimise rejection rates by monitoring anti-HLA antibody titres and introducing new biomarkers, recently for potential use in clinical practice, including measurement of serum donor-derived cell.

In this review, we described the most promising biomarkers for early diagnosis and prognosis prediction of allogeneic kidney transplant rejection. This review is based on the scientific articles found in validated sources such as PubMed and the National Centre for Biotechnology Information (NCBI). The keywords used were biomarkers AND kidney AND transplant AND rejection OR neutrophil gelatinase-associated lipocalin OR lipocalin-2 OR kidney injury molecule-1 OR hepatitis A virus cellular receptor 1 OR T-cell immunoglobulin mucin receptor 1 OR C-X-C motif chemokine 10 OR interferon- γ -inducible protein-10 OR cystatin C OR osteopontin OR clusterin. Inclusion criteria were as follows: human studies that used noninvasive methods for assessing biomarker, in vitro animal studies, publication in a peer-reviewed journal, review articles and research article, and articles in languages other than English. Exclusion criteria were as follows: gray papers (e.g., conference proceedings and abstracts), case reports, short communication, and books. Following the application of these criteria, 205 papers were selected for review.

2. Biomarkers of Allogeneic Kidney Transplant Rejection

A biomarker is a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of a normal biological process, pathogenic process, or pharmacological response to a therapeutic intervention [17]. Biomarkers are used for (1) diagnosis of patients with a disease or an abnormal organ function,

(2) severity of disease, (3) prognosis of a disease, and (4) monitoring of a response to a medical procedure [18]. Biomarkers can be classified into seven types based on their purpose, as follows: susceptibility or risk, diagnostic, prognostic, predictive, monitoring, pharmacodynamic/response, and safety biomarkers [13]. The role of risk biomarkers is to identify patients with a high probability of developing the disease before clinical symptoms appear. Prognostic biomarkers are aimed at identifying patients who require treatment and patients who have the potential to stop disease progression. In contrast, a predictive marker helps to determine the type of treatment needed to stop disease progression. Monitoring markers are used to assess disease activity. The dynamics of drug action in the body are assessed by pharmacodynamic markers. Safety biomarkers are used to assess the toxicity of the treatment administered [8]. In addition, they allow the assessment of the dynamics of immunological changes and thus predict the body's response to a transplant [19, 20] (Table 1).

We herein reviewed the current literature on potential biomarkers: neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), C-X-C motif chemokine 10 (CXCL-10), cystatin C (CysC), osteopontin (OPN), and clusterin (CLU) [32–34] (Scheme 1, Table 2). Additionally, the pros and cons of the mentioned biomarkers are presented in Table 3.

2.1. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is known as lipocalin-2, 24p3, siderocalin, or uterocalin which is a 21 kD protein of the lipocalin superfamily [49]. It is found in 3 isoforms: monomeric (25 kDa) or dimeric (45 kDa), and only a small fraction is heterodimeric (135 kDa—complexed with gelatinase) [50]. NGAL is synthesised during a narrow window of granulocyte maturation in the bone marrow but also may be induced in epithelial cells in the setting of inflammation or malignancy [51, 52]. The gene for this protein is located on chromosome 9 [53].

NGAL is expressed in renal, liver, endothelial, and smooth muscle cells, neurons, and immune cells, including macrophages and dendritic cells [54, 55]. They are secreted by neutrophils in inflammatory conditions and act as acute-phase proteins [56]. The plasma concentration of NGAL (sNGAL) is approximately 70 ng/ml in healthy humans [57]. NGAL levels can also be measured in urine (uNGAL) [58]. The reference range of uNGAL is the subject of many studies. According to Lima et al. [59], it ranges from <9 to 54.5 ng/ml. NGAL is considered to be a marker of acute tubular cell injury. The primary ligands for NGAL are siderophores and metalloproteinase 9 (MMP-9) [60]. Siderophores are molecules with the ability to bind and transport iron. They are found in many living organisms, including bacteria [61]. NGAL maintains bacteriostasis by binding bacterial siderophores and restricting their growth [62]. In contrast, MMP-9 is a protein that degrades the extracellular matrix (ECM). It leads to the formation of intercellular spaces and altered activity of substances, including chemokines, cytokines, and growth factors that play essential roles in carcinogenesis [63]. The complex of NGAL

TABLE 1: The concentrations of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), kidney injury molecule-1 (KIM-1), C-X-C motif chemokine 10 (CXCL-10), cystatin C (CysC), and osteopontin (OPN) in serum and urine (n : number of samples; DGF: delayed graft function; IGF: insulin-like growth factors; AKI: acute kidney injury; ARF: acute renal failure; AR: acute rejection; CAD: chronic kidney disease; ACR: biopsy-proven acute cellular rejection; non-R: biopsy-proved nonrejection), *error in article, should be 338.0 ± 147.2 .

Place	n	Average age		Concentration of	References			
		Donor	Recipient					
NGAL								
Valencia, Spain	38, including 23 (non-DGF) and 15 (DGF)	50.0 \pm 20.0 (all patients) 43.0 \pm 14.0 (non-DGF) 54.0 \pm 12.0 (DGF)	52.0 \pm 13.0 (all patients) 49.0 \pm 12.0 (non-DGF) 53.0 \pm 12.0 (DGF)	In urine (ng/ml)		[21]		
				Time	Non-DGF		DGF	
					1 day		92.0	275.0
					3 days		56.0	258.0
					6 days		27.0	332.0
10 days	21.0	289.0						
Bologna, Italy	43, including 18 (DGF) and 25 (IGF)	52.0 \pm 7.9 (all patients) 53.2 \pm 8.1 (DGF) 49.9 \pm 12.8 (IGF)	54.0 \pm 9.6 (all patients) 54.0 \pm 8.5 (DGF) 54.0 \pm 10.5 (IGF)	In urine (pg/ml)		[22]		
				Time	DGF		IGF	
					The day before transplantation		380.7	684.2
					1 day after transplantation		594.2	289.2
					3 days after transplantation		491.1	107.6
					7 days after transplantation		227.8	63.8
					14 days after transplantation		105.6	33.4
30 days after transplantation	31.6	55.7						
Palermo, Italy	29, including 7 (non-DGF) and 22 (DGF)	47.3 \pm 20.8 (all patients) 28.4 \pm 12.9 (non-DGF) 63.8 \pm 7.7 (DGF)	45.2 \pm 18.3 (all patients) 58.7 \pm 7.8 (non-DGF) 63.8 \pm 7.7 (DGF)	In serum (ng/ml)		[23]		
				Time	Non-DGF		DGF	
					1 day after transplantation		287.8 \pm 162.2	520.7 \pm 318.0
					In urine (ng/ml)			
Tübingen, Germany	182, including 138 (AR-), 9 (AR+), and 45 (another reason for AKI)	51.0 (AR-) 48.0 (AR+) 58.0 (another reason for AKI)	51.0 (AR-) 48.0 (AR+) 58.0 (another reason for AKI)	In urine (ng/ml)		[24]		
				Time	Non-DGF		DGF	
					1 day after transplantation		135.8 \pm 93.4	47.4 \pm 40.3
Tabriz, Iran	37	34.9 \pm 15.0	34.9 \pm 15.0	In serum (ng/ml)		[25]		
				Time	ARF		Non-ARF	
					Before transplantation		333.6 \pm 116.3	300.4 \pm 96.2
					6 hours after transplantation		38.3 \pm 147.16*	286.3 \pm 66.0
12 hours after transplantation	437.3 \pm 164.2	252.1 \pm 57.5						

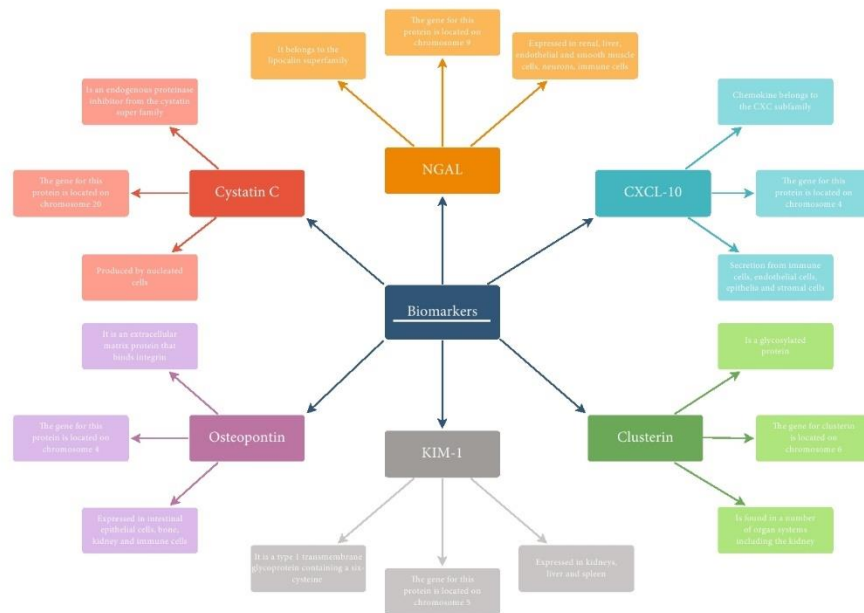
TABLE 1: Continued.

Place	n	Donor	Average age Recipient	Concentration of					References	
Teheran, Iran	27	—	11.2 ± 2.8	In serum (ng/ml)					[26]	
				1 day after transplantation				81.2		
				3 days after transplantation				68.0		
				7 days after transplantation				59.1		
				In urine (ng/ml)						
				1 day after transplantation				40.4		
				3 days after transplantation				45.0		
Tokyo, Japan	71, including 12 (AR+) and 59 (AR -)	—	46.6 ± 14.1	In serum (ng/ml)					[27]	
				Time	AR+		AR-			
				1 day after transplantation	242.2 ± 125.4		148.4 ± 61.7			
				2 days after transplantation	187.1 ± 83.8		131.1 ± 51.9			
				3 days after transplantation	181.0 ± 75.1		116.5 ± 45.0			
				In urine (ng/ml)						
				Time	AR+		AR-			
				1 day after transplantation	302.8 ± 213.3		130.1 ± 115.5			
				2 days after transplantation	226.4 ± 163.3		66.7 ± 60.0			
				3 days after transplantation	133.2 ± 97.1		46.4 ± 40.2			
Teheran, Iran	85, including 24 (AR), 19 (CAD), and 42 (no change)	—	36.8 ± 13.5 (AR) 36.8 ± 13.5 (CAD) 42.0 ± 41.9 (no change)	KIM-1					[28]	
				In serum (in ng/ml)						
				Time	AR	CAD	No change	Control		
				After transplantation	6.7 ± 2.1	8.0 ± 2.3	3.1 ± 1.1	1.5 ± 0.5		
				In urine (ng/mg creatinine)						
After transplantation	1.9 ± 0.8	2.5 ± 0.7	1.1 ± 0.4	0.6 ± 0.4						

4

TABLE 1: Continued.

Place	n	Donor	Average age		Concentration of			References
			Donor	Recipient				
CXCL-10								
In urine (ng/ml)								
Time								
Before								
					Non-AR	AR		
					59.0 ± 8.9	64.0 ± 10.9		
Istanbul, Turkey	85, including 70 (non-AR) and 15 (AR)	—	35.9 ± 13.6 (non- AR) 33.4 ± 7.6 (AR)	1 day after transplantation	65.1 ± 24.5	168.9 ± 60.0	[29]	
				7 days after transplantation	71.0 ± 25.0	191.5 ± 41.6		
				1 month after transplantation	61.9 ± 13.6	136.2 ± 67.3		
				3 months after transplantation	62.1 ± 9.5	69.2 ± 8.4		
				At the time of rejection	64.3 ± 10.2	242.3 ± 59.4		
				After implementation of antirejection treatment	62.2 ± 11.2	89.1 ± 9.7		
CysC								
In serum (ng/ml)								
Urmia, Iran	49	—	41.2 ± 13.3	3 days after transplantation	4722.3 ± 2707.6		[30]	
				8 days after transplantation	4313.7 ± 2566.7			
				14 days after transplantation	4391.0 ± 2476.2			
OPN								
In plasma (ng/ml)								
Shanghai, China	38, including 22 (ACR) and 16 (non-R)		44.0 ± 14.4 (ACR) 45.1 ± 17.4 (non-R)	After transplantation	ACR	Non-R	[31]	
					41.8 ± 18.5	19.4 ± 8.2		
In urine (ng/ml)								
				After transplantation	179.5 ± 60.2	98.5 ± 10.3		



SCHEME 1: Schematic of key features of biomarkers of kidney transplant rejection.

with metalloproteinase 9 enhances its proteolytic activity while inhibiting the inhibitor TIMP-1. It results in an increase in local and distant tumour cell production [64]. Lipocalin-2 may therefore serve as an adverse prognostic factor in cancer patients [65]. NGAL enhances the action of MMP-9 also in cardiovascular disease. Excessive metalloproteinase activity may lead to thrombosis by increasing atherosclerotic plaque instability [66].

Under physiological conditions, lipocalin-2 undergoes glomerular filtration and reabsorption in proximal renal tubules [67]. Under physiological conditions, NGAL expression remains low but increases responding to epithelial cell injury [68]. Therefore, the amount of lipocalin-2 in urine may originate from damaged first-order tubules and impaired clearance of this protein. However, it appears that structures not involved in NGAL excretion can also induce the production of this lipocalin as a result of damage. Therefore, the urinary fraction of NGAL is mainly the result of synthesis in the kidney [49]. The plasma concentration of neutrophil gelatinase-associated lipocalin results from tissue production of this protein responding to injury. An example of this phenomenon is acute kidney injury (AKI), which progresses with the destruction of other organs—lungs and liver. In patients with AKI, a common complication is the development of respiratory failure. The prognosis of patients suffering from both conditions is the worst among coexisting AKI with other diseases [69]. Another complication may be liver failure or cirrhosis, which also have a poor prognosis

[70]. Additionally, NGAL can be released by neutrophil granulocytes as an acute-phase protein. Following AKI, the glomerular filtration rate (GFR) is also reduced, increasing NGAL [71]. NGAL levels in patients with AKI increase up in blood and urine to 300-fold (0.1–30 $\mu\text{g/ml}$) and 1000-fold (0.04–40 mg/ml), respectively [18, 72]. A meta-analysis of 52 research articles involving a total of 13,040 patients concluded that determination of both sNGAL and uNGAL levels could capture individuals at high risk of developing AKI [73].

NGAL may be an important marker of kidney injury. Compared to creatinine, whose concentration increases several hours after renal cell destruction, its increase in both urine and plasma can be observed after only about 2 hours [74]. The potential role of this protein in the monitoring process of renal transplant patients is also currently being studied. NGAL can be used to assess transplant status as early as a few hours after transplantation. Delayed transplant function (DTGF) is a disorder that occurs due to reperfusion abnormalities in the organ after surgery. It develops in approximately 25% of kidney recipients [35]. A common complication in patients who develop DTGF is transplant loss a year or two after transplantation [36]. Kanter et al. [21] found that uNGAL in renal transplant recipients in the first days after transplantation was lower in patients without reperfusion injury. In addition, they showed that falling levels of this protein on day 3 after surgery were a good predictor of renal function one month after transplantation. Capelli et al. [22], based on retrospectively evaluating the

TABLE 2: Biomarkers and their main features (DGF: delayed graft function; EGF: epidermal growth factors; SGF: slow graft function; AKI: acute kidney injury; AR: acute rejection; CAD: chronic kidney disease; ABMR: antibody-mediated rejection; CAN: chronic allograft nephropathy; GvHD: graft-versus-host disease).

Biomarker	Sample type	Main features	References
	—	It predicts AR	[20]
	Urine	It predicts DGF	[21]
	Urine	It predicts DGF	[22]
	Urine	It predicts DGF and chronic allograft nephropathy progression	[23]
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)	Urine	It predicts AR	[24]
	Plasma	It predicts AKI and graft rejection during the first week after transplantation	[25]
	Urine	It predicts AR	[27]
	Plasma	It predicts DGF	[35]
	Urine	It predicts EGF, DGF, and SGF	[36]
	Urine	It predicts AKI after transplantation	[37]
	Urine	It predicts the change in kidney transplant function	[38]
	Serum and urine	It predicts AR and CAD	[28]
Kidney injury molecule-1(KIM-1)	Serum	It predicts AR	[39]
	Urine	It predicts long-term graft loss	[40]
	Urine	It predicts ABMR	[10]
	Urine	It predicts T cell-mediated rejection in early posttransplantation period	[29]
C-X-C motif chemokine 10 (CXCL-10)	Urine	It predicts AR	[41]
	Serum	It predicts high risk of severe rejection and transplant failure	[42]
	Serum	It predicts AR and CAN	[43]
	Urine	It predicts AR	[44]
Cystatin C (CysC)	Serum	It predicts reduction in kidney function	[45]
Osteopontin (OPN)	Serum	It predicts ACR	[31]
	Cell lines	It predicts GvHD	[46]
Clusterin (CLU)	Urine	It predicts DGF	[47]

clinical and laboratory data of 72 patients after renal transplantation, concluded that uNGAL combined with other markers could be more helpful in the early evaluation of renal function in the first week following kidney transplantation. Additionally, Lacquaniti et al. [23] found that both urinary and serum NGAL levels provide reliable information for predicting kidney injury. According to Rostami et al. [37], NGAL may be a biomarker for AKI following kidney transplantation. In a prospective cohort study, in 64 adults who underwent kidney transplantation, the authors found that uNGAL level was more remarkable in recipients with AKI than patients who had no AKI. Its increase was observed in recipients at 2 hours after surgery. In a study on an Iranian population ($n = 37$), Pezeshgi et al. [25] confirmed the usefulness of sNGAL in diagnosing AKI and demonstrated its essential role in diagnosing AGF—acute kidney injury in transplant patients. However, Rahimzadeh et al. [26] demonstrated that serum and urinary NGAL levels within the first week after renal transplantation in children ($n = 27$) could be induced by injury and drugs, including bisphosphonates, cephalosporin, and cisplatin. They also found that the lack of standardisation of lipocalin-2 mea-

surement was a major problem in interpreting the results. On the other hand, Field et al. [20] noted a significant increase in sNGAL levels on day 1 in patients undergoing HLA-incompatible renal transplantation ($n = 94$), in whom the development of rejection occurred within one month. The specificity and sensitivity of this marker were approximately 60-70%. A similar relationship was noted by Kohei et al. [27]. They studied twelve patients clinically diagnosed with acute rejection by renal biopsy. They highlighted that uNGAL was the most sensitive of these markers to detect acute kidney allotransplant dysfunction after living-donor kidney transplantation. Furthermore, they observed that creatinine levels are not sensitive and specific enough to be a useful biomarker in the postoperative period. Heyne et al. [24], studying uNGAL in 182 outpatient renal allotransplant recipients on maintenance immunosuppression, noted that determination of urinary NGAL levels could be a parameter to differentiate acute allotransplant rejection from other causes of AKI in follow-up after kidney transplantation. Kielar et al. [38], performing a study on 109 kidney recipients with stable transplant function one year after transplantation, found that uNGAL and sNGAL and NGAL/

TABLE 3: Pros and cons of biomarkers of allogeneic kidney transplant rejection from a clinical perspective.

Biomarkers	Pros	Cons
NGAL	Correlation between high uNGAL concentration and elevated albumin/creatinine ratio [21]	In the first hour after transplant surgery, as a result of a large amount of urine excretion, uNGAL levels may be underestimated due to dilution of the urine [23] Induction of NGAL by certain drugs such as cephalosporin, cisplatin, and bisphosphonate [26]
	Measurement of cumulative NGAL concentrations 1 month after transplantation may predict a weak GFR after 2 years of follow-up [22]	
	uNGAL distinguishes acute allograft rejection from other causes of AKI [24]	
	Serum NGAL may be a predictor of renal rejection if detected as early as 1 day after transplantation [20]	
KIM-1	An appropriate cutoff value for serum NGAL can distinguish patients with AR from patients with other causes of acute allograft function [27]	Renoprotective interventions in kidney injury can inhibit KIM-1 expression [40]
	High levels of KIM-1 in serum and urine are inversely related to GFR levels [28]	
	High urinary KIM-1 excretion is a predictor of graft loss, independent of donor age, creatinine clearance, and proteinuria [40]	
CXCL-10	CXCL-10 levels are significantly higher in individuals with T cell-mediated rejection compared to individuals with antibody-mediated rejection [10, 29]	CXCL-10 concentration is not useful for determining DGF [29]
	Mean CXCL-10 levels after kidney transplantation may be a predictor of impaired graft function even in the absence of acute rejection [41]	
	CXCL-10 is a more sensitive and predictive parameter than serum creatinine in terms of monitoring response to antirejection therapy [42]	
CysC	Serum cystatin C in case of GFR loss is a better marker than creatinine [45]	The strength of the correlation of cystatin C with renal rejection is strongly dependent on the timing of CysC determination after transplantation [30]
	Cystatin C has a significantly higher sensitivity than serum creatinine in its ability to detect a decrease in GFR < 60 ml/min in renal transplant recipients [45]	
OPN	Plasma OPN levels were positively correlated with the severity of biopsy-proven acute cellular rejection [31]	OPN is probably a nonsignificant regulator of apoptosis in acute rejection [48]
CLU	CLU in plasma may be a significant biomarker of DGF as early as 4 hours after kidney transplantation [47]	The lack of rapid tests for clusterin hinders rapid clinical application, although rapid tests are available for many proteins, including NGAL and KIM-1 [47]

creatinine can be used to estimate the change in kidney transplant function.

2.2. Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1). Kidney injury molecule-1 is also named hepatitis A virus receptor (HAVCR1) and T cell immunoglobulin mucin receptor 1 (TIM-1) [75]. It is a type 1 transmembrane glycoprotein containing a six-cysteine immunoglobulin-like domain and a mucin domain in its extracellular region [76, 77]. KIM-1/HAVCR1/TIM-1 is a protein of approximately 104 kD [78]. KIM-1 plays different roles in T and B cell biology [79]. The gene for this protein is located on chromosome 5q33.2 [80]. KIM-1 is expressed in the kidney, liver, and spleen [81]. Healthy kidney tissue expresses very low or undetectable levels of KIM-1. In addition, this protein is also undetectable in urine [82, 83]. Studies have shown that KIM-1 plays different roles via various molecular targets in immune diseases and kidney injury [81]. KIM-1 is expressed on the apical membrane surface of proximal tubular epithelial cells of the kidney, especially in the S3 segment, responding to

hypoxia or renal tubular injury [84]. Its extracellular domain is detached by metalloproteinases and secreted into the urine. This extracellular ectodomain of KIM-1 is a quantitative marker of kidney injury [85]

KIM-1 downregulates proximal tubular cell cytokine secretion, downregulation of translational changes through nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) pathway, and interaction with phosphatidylinositol3 PI3 kinase subunit p85 [86].

In this mechanism, the extracellular part of KIM-1 is detached from the rest of the glycoprotein via proteins of the metalloproteinase family and transported into the urine [87]. Therefore, it is believed that KIM-1 can be used to diagnose kidney disease [88]. According to the European Medicines Agency and the US Food and Drug Administration, this protein has been recognised as a biomarker of kidney damage following nephrotoxic drugs [83, 89].

Like NGAL, KIM-1 appears in urine after approximately 24-48 hours of damage to various nephrotoxic factors induced [90]. The concentration of this glycoprotein may

increase before significant changes in estimated glomerular filtration rate (eGFR) occur and thus foreshadow kidney damage [91]. Additionally, Nowak et al. [92] demonstrated that plasma KIM-1 (pKIM-1) is a good predictor of impaired renal function in nonproteinuric patients with type 1 diabetes. Gohda et al. [93] studying this biomarker in patients with type 2 diabetes ($n = 602$) found that serum KIM-1 (sKIM-1) correlates more strongly with eGFR levels than urinary KIM-1 (uKIM-1). Ren et al. [94] noted that uKIM-1 levels might be used as early, sensitive indicators of AKI in patients with burns of varying degrees. Based on a review of publications from 2000 to 2007 on the reliability of serum and urinary biomarkers in human subjects when used for the diagnosis of established AKI or early AKI, it was concluded that uKIM-1 could be used for the differential diagnosis of renal tubular necrosis and other conditions causing renal destruction [95]. Alderson et al. [96] observed that, in patients with chronic kidney disease (CKD), pKIM-1 are independent risk factors for progression to end-stage renal disease (ESRD). In the case of AKI, KIM-1 has been found to exhibit phagocytotic actions, resulting in the destruction of inflammatory cells and reducing the focus of inflammation [81]. The opposite is true for CKD, as this protein increases inflammation and apoptosis of renal cells. Schulz et al. [97] on a Swedish population ($n = 4739$) for over 16 years found that KIM-1 correlates with a decrease in eGFR and risk of chronic kidney disease. However, Sinkala et al. [98] studying patients with acute kidney injury or CDC found that KIM-1 is not a promising biomarker for the diagnosis of kidney disease, compared to the standardly measured parameters creatinine and urea, which are the best indicators of organ failure because their accuracy increases as transplant function deteriorates.

Kidney injury molecule-1 is also an important marker of kidney transplant rejection [99]. Jin et al. [39] studied sKIM-1 and osteopontin (OPN) in patients who were classified into acute rejection group ($n = 32$), nonrejection group ($n = 45$), and healthy controls ($n = 78$). The authors concluded that sKIM-1 might be a marker for the prediction of early kidney transplant rejection. In addition, they observed that concurrent sKIM-1 and OPN significantly increased the efficiency of predicting this process. Similarly, Shabaz et al. [28] studied uKIM-1 mRNA expression and urinary and serum KIM-1 proteins in renal allotransplant recipients diagnosed with acute allotransplant rejection ($n = 24$) and chronic allotransplant dysfunction ($n = 19$) and patients with well-functioning transplants ($n = 42$). They concluded that KIM-1 could be used to monitor renal transplant recipients, which may contribute to earlier diagnosis of organ rejection, mainly of the acute type and chronic transplant dysfunction. In contrast, van Timmeren et al. [40], in a study of renal transplant recipients ($n = 145$), showed that urinary excretion of KIM-1 is an independent factor for transplant loss in the recipient more than 12 months after surgery.

2.3. C-X-C Motif Chemokine 10 (CXCL-10). CXCL-10, also known as interferon- γ -inducible protein-10 (IP-10), is a chemokine belonging to the CXC subfamily [100]. There are four subfamilies of chemokines: CXC, CC, C, and

CX3C [101]. CXC is composed of two cysteines located at the N-terminus separated by a single amino acid that can be variable, which distinguishes it from the other chemokine subfamilies where these amino acids are located next to each other [102]. Chemokines are generally small molecules between 7 and 15kD [103]. The gene for this protein is located on chromosome 4. Secretion of CXCL-10 from leukocytes, neutrophils, eosinophils, monocytes, epithelial, endothelial, and stromal cells, and keratinocytes occurs responding to several proinflammatory factors, most notably interferon- γ (IFN- γ) [104, 105]. It modulates angiogenesis in conditions including wound healing, ischemia, and neoplasia [106]. CXCL-10 is secreted by leukocytes in the kidney transplant and is an inflammation marker. Schaub et al. [107] demonstrated that the sensitivity and specificity of urinary CXCL-10 (uCXCL-10) exceeded those of creatinine concentrations in serum. CXCL-10 acts by activating CXCR3 chemokines found on the surface of some cells—NK cells, helper T cells, macrophages, and dendritic cells [104]. The primary function of CXCL-10 is to participate in chemotaxis [108]. It is also involved in forming diseases, including Graves-Basedow or autoimmune thyroiditis [109]. CXCL-10 has a strong influence on the occurrence of cardiovascular lesions, including coronary syndromes and atherosclerosis [110, 111]. Chemokines of the CXC subfamily have also been shown to have pro- or antiangiogenic effects, resulting in tumour formation, mainly melanoma [112]. CXCL-10 is an inhibitor of angiogenesis and therefore has anticancer effects [113].

Due to the role of CXCL-10 in the body, it has been found that it can be used for the noninvasive diagnosis of kidney disease. Watson et al. [114] observed that levels of this chemokine could help diagnose early acute kidney injury in patients, including those caused by immune-independent factors. According to Marie et al. [115], it is a very sensitive marker in detecting nephritis during systemic lupus erythematosus (SLE). In addition, Reyes-Thomas et al. [116] believe that this chemokine is helpful in monitoring treatment in patients with SLE. The role of CXCL-10 in allogeneic kidney transplant rejection has been the subject of many studies worldwide [117]. Ciftci et al. [29], investigating living-related donor renal transplant recipients, showed that uCXCL-10 is well identified in patients with an acute cellular type of kidney rejection and correlates with plasma creatinine levels. In contrast, Rabant et al. [10], based on the results of a highly sensitised cohort of 244 renal allotransplant recipients, concluded that monitoring urinary CXCL-10 and creatinine levels and then calculating the ratio of these two parameters can effectively determine the risk of antibody-dependent transplant rejection. Blydt-Hansen et al. [118] noted that the ratio of CXCL-10 to creatinine in children is a promising biomarker of acute cellular rejection. According to Matz et al. [41], CXCL-10 chemokine levels may predict the development of acute cell-type rejection. These findings predate the renal biopsy image by several days. Determination of CXCL-10 mRNA in urine, according to Tatapudi et al. [119], is an ideal biomarker of rejection and shows 100% sensitivity as confirmed by biopsy. Rotondi et al. [42] tested for CXCL-10 pretransplantation

sera from 316 cadaver kidney transplant recipients ($n = 316$). The authors demonstrated that it would be appropriate to determine the levels of this chemokine before transplantation, as high pretransplant serum CXCL-10 levels may indicate a high risk of severe rejection and transplant failure. Similar conclusions were reached by Lazzeri et al. [43], studying serum CXCL-10 levels of 316 cadaveric kidney-transplant recipients ($n = 316$). They demonstrated that pretransplant serum CXCL-10 levels greater than 150 pg/ml predispose to severe transplant rejection. Jackson et al.'s [44] analysis of adult and paediatric transplant recipients found that urine CXCL-10 levels can increase in acute transplant rejection and BK virus infection. Still, this chemokine cannot differentiate between these conditions. Weseslindtner et al. [120], studying a group of 85 kidney recipients, found that CXCL-10 levels can increase with BK virus replication and the onset of nephropathy during infection with this pathogen.

2.4. Cystatin C (CysC). Cystatin C is an endogenous proteinase inhibitor (~13.4 kD) from the cystatin superfamily of cysteine protease inhibitors inhibiting mainly cathepsins L, B, and H [121, 122]. It is composed of 120 amino acids forming a polypeptide chain [123]. The gene for this protein is located on chromosome 20 [124]. CysC plays a vital role in the intracellular catabolism of proteins and peptides. It is produced by nucleated cells at a constant level and is present in all body fluids in the body [125, 126]. The reference range in healthy individuals should be between 0.72 and 1.06 mg/l [127]. Serum concentrations appear to be independent of sex, age, and muscle mass. CysC concentrations may be altered in patients with thyroid disease and those taking high doses of corticosteroids [128, 129]. This protein is freely filtered in the glomeruli, undergoes reflux reabsorption, and is catabolised in the renal tubules [130]. In healthy individuals, essentially, no CysC is excreted in the urine [131]. When the renal tubules are damaged, these processes are disrupted, and cystatin appears in the urine [132]. The half-life of CysC is 1.5 hours [133]. Unlike creatinine, the concentration of CysC in the body does not depend on gender, age, or muscle mass [134]. Therefore, serum CysC is considered by many researchers as a better marker for estimating the dynamics of GFR changes than creatinine [135]. Villa et al. [136] observed that serum CysC is a better marker of GFR than creatinine in unstable patients with acute renal failure. Zheng et al. [137] studying a group of 425 patients with chronic hepatitis B found that cystatin C may be an essential indicator of developing renal functional impairment in these patients. The concentration of this protein is also a good factor for diagnosing AKI, rising before changes in creatinine [138]. It is estimated to precede the rise in creatinine levels by two days in patients at an advanced stage of kidney damage [139]. Soto et al. [140], in a cohort study in which they examined serum and urinary CysC in a heterogeneous group of patients ($n = 616$) presenting to a tertiary care emergency department, showed that serum CysC testing allows the diagnosis of AKI but has no value as a marker to differentiate between AKI and chronic kidney disease. Additionally, Briguori et al. [141], studying consecutive patients with CDC undergoing either

coronary and/or peripheral angiography and/or angioplasty ($n = 410$), demonstrated that CysC could serve for early diagnosis and prognosis of the contrast-induced acute kidney. Patel et al. [142], studying patients with chronic pancreatitis, neoplasm, chronic liver disease, and chronic kidney disease, found an increase in baseline serum CysC was associated with AKI in patients with acute pancreatitis. Tarif et al. [143], studying patients with acute renal failure ($n = 73$) and control subjects ($n = 300$), found that creatinine and serum CysC are a good marker of renal function in acute renal failure patients especially those with worsening renal function. Based on electronic databases, Nakhjawan-Shahraki et al. [144] noted that CysC is a sufficient predictor for detecting AKI in children. The study by Safdar et al. [145] confirmed that cystatin C is a sensitive marker in very severe acute kidney injury in children, but only when its concentration is determined within 24 hours of the start of hospitalisation. A similar value of CysC in AKI diagnosis was discovered by Lagos-Arevalo et al. [146], conducting a study on a 150-person group of children admitted to the intensive care unit.

Cystatin C is also a marker of allogeneic kidney rejection. Krishnamurthy et al. [45] concluded that CysC as an additional diagnostic parameter in assessing transplanted organ function might be helpful and serve to tailor immunosuppressive treatment. Changes in GFR, which are a consequence of deteriorating transplant function and thus an increased risk of rejection, according to Taghizadeh-Afshari et al. [30], can be detected by the determination of cystatin C, which at 14 days posttransplantation exceeds the sensitivity and specificity of creatinine. Similar conclusions were reached by Le Bricon et al. [147], considering CysC to be a more accurate marker than creatinine and further positing a role for this protein in assessing the toxic effects of treatment.

2.5. Osteopontin (OPN). Osteopontin, also referred to as bone sialoprotein 1 (BSP-1), secreted phosphoprotein 1 (SPP1) and early T lymphocyte activation 1 (ETA-1) [148]. It is an extracellular matrix protein (~35 kD) built from a polypeptide chain 314 amino acids long, containing an arginine-glycine-asparagine sequence that binds integrin [149, 150]. Osteopontin is encoded by a single-copy gene located on the human chromosome 4 (4q13) [151]. OPN expression is observed in various tissues and cells, including intestinal epithelial cells, bone, kidney, and immune cells, such as macrophages, dendritic cells, and T lymphocytes [152, 153]. In healthy subjects, the serum osteopontin concentration should be around 23.56 ng/ml [154]. OPN is involved in various physiological and pathophysiological processes, including tissue and bone remodelling, inflammation, cell survival atherosclerosis, and kidney damage [155–158]. Its principal function is to bind osteoclasts to bone [159]. In addition, it influences the regulation of the immune system, acting on a principle similar to that of cytokines [160]. It plays a significant role in the development of chronic inflammatory diseases [161]. It may also contribute to the development of cancer [162]. In the kidney, osteopontin is produced in the distal part of the nephron [163]. It likely contributes to vessels' formation in the kidney [164].

OPN is thought to reduce kidney stone formation [165]. Lorenzen et al. [166] found that OPN inhibitors could be used as a novel therapeutic target of albuminuria. Studies have also shown the involvement of OPNs in the formation of renal lesion characteristic of diabetic nephropathy [167]. According to Wong et al. [168], increased expression of this protein is a predictive factor in bladder cancer. In addition, Sim et al. [169] consider that OPN together with carbonic anhydrase IX and C-reactive protein is a promising biomarker in renal cell carcinoma. Feldreich et al. [170] showed that osteopontin plays a vital role in both cardiovascular and kidney diseases. Higher urinary OPN can predict deterioration of kidney function in the CDC, while OPN can estimate the risk of cardiovascular death based on plasma. In patients with acute kidney injury, Lorenzen et al. [171] observed an increase in OPN levels, which was a predictor of mortality from this disease at four weeks in severely ill patients. Askenazi et al. [172] showed that urinary OPN is also a promising biomarker for detecting AKI in neonates, similar to NGAL and KIM-1. Varalakshmi et al. [173] showed that plasma osteopontin can correlate with disease severity in a group of 35 AKI patients with renal replacement therapy.

Osteopontin also appears to be a promising biomarker in kidney transplant rejection due to its essential role in the inflammatory process [174]. Rouschop et al. [175] observed an increase in tubular expression of OPN (the ligands of CD44) in recipients, which was confirmed by biopsy results. In addition, they found that this protein may be involved in the development of renal rejection by enhancing the influx of monocytes. Alchi et al. [48] examined renal biopsies from patients with acute rejection, protocol biopsies without rejection, and perioperative donor biopsies for intrarenal expression of OPN. They demonstrated increased levels of this protein in biopsies from renal allotransplants with acute rejection. Wang et al. [31] consider that OPN levels in body fluids, especially plasma, predict and evaluate ACR severity in renal transplant recipients. The diagnostic findings coincided with the changes seen in the image of the biopsy taken at the same time. According to Zhao et al. [46], OPN levels may also increase in the mechanism of graft-versus-host disease when donor immune cells attack the recipient organism.

2.6. Clusterin (CLU). Clusterin, also known as apolipoprotein J (CLU), is a glycosylated protein composed of two chains, α and β , linked by disulfide bonds [176]. In humans, it occurs in two isoforms. The secretory type, with a mass of about 80 kD, has the task of removing residues formed after apoptosis and the nuclear type with a mass of 50 kD is responsible for DNA repair [177]. The clusterin gene is located on chromosome 8 [178]. CLU is involved in both apoptotic and antiapoptotic pathways and is found in some organ systems, including the kidney [179, 180]. It is detected in all biological fluids in the human body [181]. Physiological concentrations of clusterin in serum range from 35 to 105 $\mu\text{g}/\text{ml}$. However, the concentration is much lower in the cerebrospinal fluid, ranging between 1.2 and 3.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ [182]. CLU is found in the tubules with antiapoptotic effects in the kidney and mediates cell protection, lipid recycling, cell attachment, and aggregation [180]. Its increased expres-

sion is detected in pathological states [183]. It is involved in many biological processes, including lipid distribution and complement regulation [184, 185]. In addition, the action of clusterin is analogous to the heat shock protein family through its chaperone functions and by helping proteins fold again and adequately after a stressor [186].

Clusterin is a protein whose concentration also increases in kidney disease [187]. Numerous studies have shown that CLU is deposited in the glomeruli as deposits along with complement elements [188]. According to Guo et al. [189], reduced CLU levels negatively affect renal function in ischemia-reperfusion disorders, predisposing to the chronic failure of this organ. Zhou et al. [190] observed that CLU deficiency results in tissue destruction within the kidney and increased cell apoptosis. Kim et al. [191] observed that increase in urine CLU along with albuminuria could be an independent predictive marker for the progression of diabetic kidney disease in type 2 diabetes. CLU reflects the degree of renal tubular damage in the early phase of the disease. These results were confirmed in Zeng et al.'s [192] study, demonstrating that urinary CLU determination can distinguish diabetic nephropathy from albuminuria in patients with type 2 diabetes. Schlatter et al. [193] believe that CLU can also serve as a good marker in diagnosing type 1 diabetes. On the other hand, according to Solichova et al. [194], the determination of CLU in plasma and serum does not introduce significant changes to the standard routine diagnosis of proteinuria in kidney disease—in studies on clusterin, creatinine, and total protein, no advantage was found for any of the parameters over the others. According to Wu et al. [195], urinary clusterin may be a helpful noninvasive marker in diagnosing kidney damage predisposing to end-stage organ failure in children with systemic lupus erythematosus. In a study in a group of 27 children undergoing allogeneic stem cell transplantation, Musial et al. [196] demonstrated that CLU may be a marker of sublethal renal injury.

The role of CLU in the context of renal transplant rejection has not yet been thoroughly analysed. Only Pianta et al.'s [47] prospective cohort study of renal transplant recipients ($n = 81$) found that CLU may be an essential biomarker of this mechanism when delayed transplant function occurs, with levels increasing as early as 4 hours after surgery.

3. Immunosuppression

Immunosuppressive treatment is given to all kidney transplant patients to weaken the immune system so that it does not attack the transplanted organ and cause organ rejection [197]. Currently used immunosuppressive drugs are used in a triple regimen. Calcineurin inhibitors (cyclosporine, tacrolimus), antiproliferative drugs (azathioprine, mycophenolate mofetil), and corticosteroids (prednisone) are used [198]. Other substances that could weaken the immune system have also been investigated in recent years, although not all undergo clinical trials due to harmful side effects [199, 200]. Long-term use of immunosuppressive drugs can have toxic effects on many organs and functions in the human body and the fetus [201, 202].

Immunosuppressive drugs can also affect biomarker levels. Kedzierska et al. [203], in an animal model study, showed that the use of cyclosporine A in rats could increase serum KIM-1 levels. In rats with cyclosporine-induced nephrotoxicity, Hong et al. [204] confirmed higher levels of KIM-1. In a study in children ($n = 18$), Wasilewska et al. [205] noted that both sNGAL and uNGAL significantly increased nephrotoxicity complicated by CsA use.

4. Summary

The literature review presented here suggests that NGAL, KIM-1, CXCL-10, CysC, OPN, and CLU may become essential markers in predicting allogeneic kidney transplant rejection. Although not all of them have been thoroughly studied in the context of expression on transplant rejection, they play an essential role in detecting deteriorating renal function. Currently, these biomarkers may have an adjunctive role in the diagnosis of renal rejection alongside standard biochemical parameters and biopsy due to the high sensitivity and specificity and low invasiveness of the assay.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interests.

Acknowledgments

This study was supported by the statutory budget of the Department of Microbiology, Immunology and Laboratory Medicine, Pomeranian Medical University in Szczecin.

References

- [1] B. J. Nankivell and S. I. Alexander, "Rejection of the kidney allograft," *The New England Journal of Medicine*, vol. 363, pp. 1451–1462, 2010.
- [2] T. E. Starzl and E. Thomas, "History of clinical transplantation," *World Journal of Surgery*, vol. 24, pp. 759–782, 2000.
- [3] B. Devauchelle, L. Badet, B. Lengelé et al., "First human face allograft: early report," *Lancet*, vol. 368, no. 9531, pp. 203–209, 2006.
- [4] S. Canavero, "HEAVEN: the head anastomosis venture project outline for the first human head transplantation with spinal linkage (GEMINI)," *Surgical Neurology International*, vol. 4, Supplement_1, pp. 335–342, 2013.
- [5] G. Garcia-Garcia, P. Harden, and J. Chapman, "The global role of kidney transplantation," *American Journal of Hypertension*, vol. 25, no. 3, pp. 276–278, 2012.
- [6] A. Adegunsoye, M. E. Streck, E. Garrity, R. Guzy, and R. Bag, "Comprehensive care of the lung transplant patient," *Chest*, vol. 152, no. 1, pp. 150–164, 2017.
- [7] D. Anglicheau, A. Malone, W. J. Chon, and C. Legendre, "Kidney transplantation in adults: investigational methods in the diagnosis of acute kidney allograft rejection," <https://www.uptodate.com/contents/kidney-transplantation-in-adults-investigational-methods-in-the-diagnosis-of-acute-kidney-allograft-rejection>.
- [8] M. Salvadori and A. Tsalouchos, "Biomarkers in renal transplantation: an updated review," *World Journal of Transplantation*, vol. 7, no. 3, pp. 161–178, 2017.
- [9] S. Hariharan, M. A. McBride, W. S. Cherikh, C. B. Tolleris, B. A. Bresnahan, and C. P. Johnson, "Post-transplant renal function in the first year predicts long-term kidney transplant survival," *Kidney International*, vol. 62, no. 1, pp. 311–318, 2002.
- [10] M. Rabant, L. Amrouche, X. Lebreton et al., "Urinary C-X-C motif chemokine 10 independently improves the noninvasive diagnosis of antibody-mediated kidney allograft rejection," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 26, no. 11, pp. 2840–2851, 2015.
- [11] M. Haas, A. Loupy, C. Lefaucheur et al., "The Banff 2017 kidney meeting report: revised diagnostic criteria for chronic active T cell-mediated rejection, antibody-mediated rejection, and prospects for integrative endpoints for next-generation clinical trials," *American Journal of Transplantation*, vol. 18, no. 2, pp. 293–307, 2018.
- [12] D. Serón and F. Moreso, "Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring," *Kidney International*, vol. 72, no. 6, pp. 690–697, 2007.
- [13] M. Quaglia, G. Merlotti, G. Guglielmetti, G. Castellano, and V. Cantaluppi, "Recent advances on biomarkers of early and late kidney graft dysfunction," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 21, no. 15, pp. 1–34, 2020.
- [14] N. Alachkar, "Serum and urinary biomarkers in acute kidney transplant rejection," *Néphrologie & Thérapeutique*, vol. 8, no. 1, pp. 13–19, 2012.
- [15] R. Danger, B. Sawitzki, and S. Brouard, "Immune monitoring in renal transplantation: the search for biomarkers," *European Journal of Immunology*, vol. 46, no. 12, pp. 2695–2704, 2016.
- [16] O. Hanssen, P. Erpicum, P. Lovinfosse et al., "Non-invasive approaches in the diagnosis of acute rejection in kidney transplant recipients. Part I. In vivo imaging methods," *Clinical Kidney Journal*, vol. 10, no. 1, pp. 97–105, 2017.
- [17] A. J. Atkinson, W. A. Colburn, V. G. DeGruttola et al., "Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework," *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, vol. 69, no. 3, pp. 89–95, 2001.
- [18] V. S. Vaidya, M. A. Ferguson, and J. V. Bonventre, "Biomarkers of acute kidney injury," *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol. 48, p. 463, 2008.
- [19] U. Christians, J. Klawitter, and J. Klawitter, "Biomarkers in transplantation-proteomics and metabolomics," *Therapeutic Drug Monitoring*, vol. 38, Supplement_1, pp. 70–74, 2016.
- [20] M. Field, D. Lowe, M. Cobbold et al., "The use of NGAL and IP-10 in the prediction of early acute rejection in highly sensitized patients following HLA-incompatible renal transplantation," *Transplant International*, vol. 27, no. 4, pp. 362–370, 2014.
- [21] J. Kanter, S. Beltran, D. Molina et al., "Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after kidney transplantation: is it a good biomarker to assess delayed graft function?," *Transplantation Proceedings*, vol. 45, no. 4, pp. 1368–1370, 2013.
- [22] I. Capelli, O. Baraldi, G. Comai et al., "Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a biomarker of delayed graft function after kidney transplantation," *Transplant Research and Risk Management*, vol. 9, pp. 15–21, 2017.
- [23] A. Lacquaniti, C. Caccamo, P. Salis et al., "Delayed graft function and chronic allograft nephropathy: diagnostic and prognostic role of neutrophil gelatinase-associated lipocalin," *Biomarkers*, vol. 21, no. 4, pp. 371–378, 2016.

- [24] N. Heyne, S. Kemmner, C. Schneider, S. Nadalin, A. Königsrainer, and H.-U. Häring, "Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin accurately detects acute allograft rejection among other causes of acute kidney injury in renal allograft recipients," *Transplantation*, vol. 93, no. 12, pp. 1252–1257, 2012.
- [25] A. Pezeshgi, S. Abedi Azar, H. Ghasemi et al., "Role of plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an emerging biomarker of acute renal failure following kidney transplantation and its correlation with plasma creatinine," *Journal of Renal Injury Prevention*, vol. 5, no. 2, pp. 98–103, 2016.
- [26] N. Rahimzadeh, H. Otukesh, R. Hoseini et al., "Are serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin predictive of renal graft function in short term?," *Pediatric Transplantation*, vol. 16, no. 7, pp. 796–802, 2012.
- [27] J. Kohei, H. Ishida, T. Kazunari, K. Tsuchiya, and K. Nitta, "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a sensitive biomarker for the early diagnosis of acute rejection after living-donor kidney transplantation," *International Urology and Nephrology*, vol. 45, no. 4, pp. 1159–1167, 2013.
- [28] S. K. Shahbaz, F. Pourrezagholi, M. Barabadi et al., "High expression of TIM-3 and KIM-1 in blood and urine of renal allograft rejection patients," *Transplant Immunology*, vol. 43, pp. 11–20, 2017.
- [29] H. S. Ciftci, T. Tefik, M. K. Savran et al., "Urinary CXCL9 and CXCL10 levels and acute renal graft rejection," *International Journal of Organ Transplantation Medicine*, vol. 10, no. 2, pp. 53–63, 2019.
- [30] A. Taghizadeh-Afshari, M. Mohammadi-Fallah, M. Alizadeh et al., "Serum cystatin C versus creatinine in the assessment of allograft function in early periods of kidney transplantation," *Journal of Renal Injury Prevention*, vol. 7, no. 1, pp. 11–15, 2017.
- [31] J. Wang, Q. Tang, Y. Qiu, M. Xu, R. Rong, and T. Zhu, "Osteopontin level correlates with acute cellular renal allograft rejection," *Journal of Surgical Research*, vol. 182, no. 1, pp. 161–165, 2013.
- [32] C. Morath, G. Opelz, M. Zeier, and C. Süsal, "Clinical relevance of HLA antibody monitoring after kidney transplantation," *Journal of Immunology Research*, vol. 2014, no. 4, Article ID 845040, 2014.
- [33] G. Dieplinger, V. Ditt, W. Arns et al., "Impact of de novo donor-specific HLA antibodies detected by Luminex solid-phase assay after transplantation in a group of 88 consecutive living-donor renal transplantations," *Transplant International*, vol. 27, no. 1, pp. 60–68, 2014.
- [34] N. Singh, H. Samant, A. Hawxby, and M. Samaniego, "Biomarkers of rejection in kidney transplantation," *Current Opinion in Organ Transplantation*, vol. 24, no. 1, pp. 103–110, 2019.
- [35] A. Bataille, S. Abbas, O. Semoun et al., "Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin in kidney transplantation and early renal function prediction," *Transplantation*, vol. 92, no. 9, pp. 1024–1030, 2011.
- [36] H. M. Choi, K. T. Park, J. W. Lee et al., "Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin predicts graft outcome up to 1 year after kidney transplantation," *Transplantation Proceedings*, vol. 45, no. 1, pp. 122–128, 2013.
- [37] Z. Rostami, M. Nikpoor, and B. Einollahi, "Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for early diagnosis of acute kidney injury in renal transplant recipients," *Nephro-urology Monthly*, vol. 5, no. 2, pp. 745–752, 2013.
- [38] M. Kielar, P. Dumnicka, A. Gala-Błądzińska et al., "Urinary NGAL measured after the first year post kidney transplantation predicts changes in glomerular filtration over one-year follow-up," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 10, no. 1, p. 43, 2020.
- [39] Z. K. Jin, P. Tian, X. Wang et al., "Kidney injury molecule-1 and osteopontin: new markers for prediction of early kidney transplant rejection," *Molecular Immunology*, vol. 54, no. 3–4, pp. 457–464, 2013.
- [40] M. M. van Timmeren, V. S. Vaidya, R. M. van Ree et al., "High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of graft loss in renal transplant recipients," *Transplantation*, vol. 84, no. 12, pp. 1625–1630, 2007.
- [41] M. Matz, J. Beyer, D. Wunsch et al., "Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function," *Kidney International*, vol. 69, no. 9, pp. 1683–1690, 2006.
- [42] M. Rotondi, A. Rosati, A. Buonamano et al., "High pretransplant serum levels of CXCL10/IP-10 are related to increased risk of renal allograft failure," *American Journal of Transplantation*, vol. 4, no. 9, pp. 1466–1474, 2004.
- [43] E. Lazzeri, M. Rotondi, B. Mazinghi et al., "High CXCL10 expression in rejected kidneys and predictive role of pretransplant serum CXCL10 for acute rejection and chronic allograft nephropathy," *Transplantation*, vol. 79, no. 9, pp. 1215–1220, 2005.
- [44] J. A. Jackson, E. Kim, B. Begley et al., "Urinary chemokines CXCL9 and CXCL10 are noninvasive markers of renal allograft rejection and BK viral infection," *American Journal of Transplantation*, vol. 11, no. 10, pp. 2228–2234, 2011.
- [45] N. Krishnamurthy, K. Arumugasamy, U. Anand, C. V. Anand, V. Aruna, and G. Venu, "Serum cystatin C levels in renal transplant recipients," *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, vol. 26, no. 2, pp. 120–124, 2011.
- [46] F. Zhao, Y. Zhang, H. Wang et al., "Blockade of osteopontin reduces alloreactive CD8+ T cell-mediated graft-versus-host disease," *Blood*, vol. 117, no. 5, pp. 1723–1733, 2011.
- [47] T. J. Pianta, P. W. Peake, J. W. Pickering, M. Kelleher, N. A. Buckley, and Z. H. Endre, "Clusterin in kidney transplantation: novel biomarkers versus serum creatinine for early prediction of delayed graft function," *Transplantation*, vol. 99, no. 1, pp. 171–179, 2015.
- [48] B. Alchi, S. Nishi, D. Kondo et al., "Osteopontin expression in acute renal allograft rejection," *Kidney International*, vol. 67, no. 3, pp. 886–896, 2005.
- [49] K. M. Schmidt-Ott, K. Mori, J. Li et al., "Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 18, no. 2, pp. 407–413, 2007.
- [50] E. Singer, L. Markó, N. Paragas et al., "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications," *Acta Physiologica*, vol. 207, no. 4, pp. 663–672, 2013.
- [51] N. Borregaard, M. Sehested, B. S. Nielsen, H. Sengeløv, and L. Kjeldsen, "Biosynthesis of granule proteins in normal human bone marrow cells. Gelatinase is a marker of terminal neutrophil differentiation," *Blood*, vol. 85, no. 3, pp. 812–817, 1995.
- [52] B. Nielsen, N. Borregaard, J. Bundgaard, S. Timshel, M. Sehested, and L. Kjeldsen, "Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases," *Gut*, vol. 38, no. 3, pp. 414–420, 1996.
- [53] Y. Guo, J. Zhai, J. Zhang, and H. Zhou, "NGAL protects in nasopharyngeal carcinoma by inducing apoptosis and

- blocking epithelial-mesenchymal transition," *Oncology Letters*, vol. 19, no. 6, pp. 3711–3718, 2020.
- [54] A. A. Al-Refai, S. I. Tayel, A. Ragheb et al., "Urinary neutrophil gelatinase associated lipocalin as a marker of tubular damage in type 2 diabetic patients with and without albuminuria," *Open Journal of Nephrology*, vol. 4, no. 1, pp. 37–46, 2014.
- [55] D. Szumilas, J. Wojnar, and J. Chudek, "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of acute renal failure in cancer patients treated with cisplatin," *Nowotwory. Journal of Oncology*, vol. 66, no. 2, pp. 160–166, 2016.
- [56] A. Radosz and A. Obuchowicz, "Potential diagnostic significance of neutrophil gelatinase-associated lipocalin," *Annales Academiae Medicae Silesiensis*, vol. 67, no. 1, pp. 61–65, 2013.
- [57] L. Axelsson, M. Bergenfeldt, and K. Ohlsson, "Studies of the release and turnover of a human neutrophil lipocalin," *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, vol. 55, no. 7, pp. 577–588, 1995.
- [58] J. Mishra, C. Dent, R. Tarabishi et al., "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery," *The Lancet*, vol. 365, no. 9466, pp. 1231–1238, 2005.
- [59] "Intech Open," <https://www.intechopen.com/online-first/73275>.
- [60] G.-H. Bao, C.-T. Ho, and J. Barasch, "The ligands of neutrophil gelatinase-associated lipocalin," *RSC Advances*, vol. 5, no. 126, pp. 104363–104374, 2015.
- [61] D. H. Goetz, M. A. Holmes, N. Borregaard, M. E. Bluhm, K. N. Raymond, and R. K. Strong, "The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition," *Molecular Cell*, vol. 10, no. 5, pp. 1033–1043, 2002.
- [62] J. Yang, D. Goetz, J. Li et al., "An iron delivery pathway mediated by a lipocalin," *Molecular Cell*, vol. 10, no. 5, pp. 1045–1056, 2002.
- [63] J. Trojanek, "Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors," *Postepy Biochemii*, vol. 58, no. 3, pp. 353–362, 2012.
- [64] J. Yan, N. Borregaard, L. Kjeldsen, and M. Moses, "The high molecular weight urinary matrix metalloproteinase (MMP) activity is a complex of gelatinase B/MMP-9 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). Modulation of MMP-9 activity by NGAL," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 276, no. 40, pp. 37258–37265, 2001.
- [65] S. Candido, R. Maestro, J. Polesel et al., "Roles of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human cancer," *Oncotarget*, vol. 5, no. 6, pp. 1576–1594, 2014.
- [66] D. N. Cruz, S. Gaiao, A. Maisel, C. Ronco, and P. Devarajan, "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of cardiovascular disease: a systematic review," *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 50, no. 9, pp. 1533–1545, 2012.
- [67] K. Wróblewski and N. Jako, "Wskaźnik wczesnego ostrego uszkodzenia nerek," *Medycyna po Dyplomie*, vol. 20, no. 6, p. 15, 2011.
- [68] G. M. Virzi, A. Clementi, M. de Cal, D. N. Cruz, and C. Ronco, "Genomics and biological activity of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in several clinical settings," *Blood Purification*, vol. 35, no. 1–3, pp. 139–143, 2013.
- [69] S. Faubel and C. L. Edelstein, "Mechanisms and mediators of lung injury after acute kidney injury," *Nature Reviews Nephrology*, vol. 12, no. 1, pp. 48–60, 2015.
- [70] Q.-Q. Jiang, M.-F. Han, K. Ma et al., "Acute kidney injury in acute-on-chronic liver failure is different from in decompensated cirrhosis," *World Journal of Gastroenterology*, vol. 24, no. 21, pp. 2300–2310, 2018.
- [71] D. N. Grigoryev, M. Liu, H. T. Hassoun, C. Cheadle, K. C. Barnes, and H. Rabb, "The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 19, no. 3, pp. 547–558, 2008.
- [72] B. Beker, M. Corleto, C. Fieiras, and C. Musso, "Novel acute kidney injury biomarkers: their characteristics utility and concerns," *International Urology and Nephrology*, vol. 50, no. 4, pp. 705–713, 2018.
- [73] C. Albert, A. Zapf, M. Haase et al., "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin measured on clinical laboratory platforms for the prediction of acute kidney injury and the associated need for dialysis therapy: a systematic review and meta-analysis," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 76, no. 6, pp. 826–841, 2020.
- [74] K. Pęczek and M. Nowicki, "Differential diagnosis of acute kidney injury," *Renal Disease and Transplantation Forum*, vol. 10, no. 2, pp. 91–99, 2008.
- [75] T. Ichimura, J. V. Bonventre, V. Bailly et al., "Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 273, no. 7, pp. 4135–4142, 1998.
- [76] V. Bailly, Z. Zhang, W. Meier, R. Cate, M. Sanicola, and J. V. Bonventre, "Shedding of kidney injury molecule-1, a putative adhesion protein involved in renal regeneration," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, no. 42, pp. 39739–39748, 2002.
- [77] J. Fontanilla and W. Han, "Kidney injury molecule-1 as an early detection tool for acute kidney injury and other kidney diseases," *Expert Opinion on Medical Diagnostics*, vol. 5, no. 2, pp. 161–173, 2011.
- [78] A. I. Lim, S. C. W. Tang, K. N. Lai, and J. C. K. Leung, "Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells?," *Journal of Cellular Physiology*, vol. 228, no. 5, pp. 917–924, 2013.
- [79] P. D. Rennert, "Novel roles for TIM-1 in immunity and infection," *Immunology Letters*, vol. 141, no. 1, pp. 28–35, 2011.
- [80] B. Medić, B. Rovčanin, G. Basta Jovanović, S. Radojević-Škodrić, and M. Prostran, "Kidney injury molecule-1 and cardiovascular diseases: from basic science to clinical practice," *BioMed Research International*, vol. 2015, Article ID 854070, 2015.
- [81] J. Song, J. Yu, G. W. Prayogo et al., "Understanding kidney injury molecule 1: a novel immune factor in kidney pathophysiology," *American Journal of Translational Research*, vol. 11, no. 3, pp. 1219–1229, 2019.
- [82] J. Malyszko, E. Koc-Zorawska, J. Malyszko, and M. Mysliwiec, "Kidney injury molecule-1 correlates with kidney function in renal allograft recipients," *Transplantation Proceedings*, vol. 42, no. 10, pp. 3957–3959, 2010.
- [83] V. Sabbisetti, S. Waikar, D. Antoine et al., "Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 25, no. 10, pp. 2177–2186, 2014.
- [84] W. K. Han, V. Bailly, R. Abichandani, R. Thadhani, and J. V. Bonventre, "Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel

- biomarker for human renal proximal tubule injury," *Kidney International*, vol. 62, no. 1, pp. 237–244, 2002.
- [85] Z. Marchewka and J. Plonka, "The diagnostic importance of the new marker KIM-1 in kidney damage," *Postępy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*, vol. 67, pp. 695–699, 2013.
- [86] C. R. Brooks and J. Bonventre, "KIM-1/TIM-1 in proximal tubular cell immune response," *Oncotarget*, vol. 6, no. 42, pp. 44059–44060, 2015.
- [87] J. V. Bonventre, "Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 24, no. 11, pp. 3265–3268, 2009.
- [88] M. E. Wasung, L. S. Chawla, and M. Madero, "Biomarkers of renal function, which and when?," *Clinica Chimica Acta*, vol. 438, pp. 350–357, 2015.
- [89] F. Dieterle, F. Sistare, F. Goodsaid et al., "Renal biomarker qualification submission: a dialog between the FDA-EMA and predictive safety testing consortium," *Nature Biotechnology*, vol. 28, no. 5, pp. 455–462, 2010.
- [90] H. El-Attar, K. Gi, and G. Ew, "Human kidney injury molecule-1 (Kim-1) level as an early marker for diabetic nephropathy in Egyptian type 2 diabetic patients," *Journal of Renal Medicine*, vol. 1, no. 3, pp. 1–13, 2017.
- [91] J. Rysz, A. Gluba-Brzózka, B. Franczyk, Z. Jablonowski, and A. Ciałkowska-Rysz, "Novel biomarkers in the diagnosis of chronic kidney disease and the prediction of its outcome," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 18, no. 8, 2017.
- [92] N. Nowak, J. Skupien, M. A. Niewczas et al., "Increased plasma kidney injury molecule-1 suggests early progressive renal decline in non-proteinuric patients with type 1 diabetes," *Kidney International*, vol. 89, no. 2, pp. 459–467, 2016.
- [93] T. Gohda, N. Kamei, T. Koshida et al., "Circulating kidney injury molecule-1 as a biomarker of renal parameters in diabetic kidney disease," *Journal of Diabetes Investigation*, vol. 11, no. 2, pp. 435–440, 2020.
- [94] H. Ren, X. Zhou, D. Dai et al., "Assessment of urinary kidney injury molecule-1 and interleukin-18 in the early post-burn period to predict acute kidney injury for various degrees of burn injury," *BMC Nephrology*, vol. 16, no. 1, p. 142, 2015.
- [95] S. G. Coca, R. Yalavarthy, J. Concato, and C. R. Parikh, "Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review," *Kidney International*, vol. 73, no. 9, pp. 1008–1016, 2008.
- [96] H. V. Alderson, J. P. Ritchie, S. Pagano et al., "The associations of blood kidney injury molecule-1 and neutrophil gelatinase-associated lipocalin with progression from CKD to ESRD," *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 11, no. 12, pp. 2141–2149, 2016.
- [97] C. A. Schulz, G. Engström, J. Nilsson et al., "Plasma kidney injury molecule-1 (p-KIM-1) levels and deterioration of kidney function over 16 years," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 35, no. 2, pp. 265–273, 2020.
- [98] M. Sinkala, M. Zulu, T. Kaile et al., "Performance characteristics of kidney injury molecule-1 in relation to creatinine, urea, and microalbuminuria in the diagnosis of kidney disease," *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, vol. 7, no. 2, pp. 94–99, 2017.
- [99] F. Waanders, M. M. van Timmeren, C. A. Stegeman, S. J. Bakker, and H. van Goor, "Kidney injury molecule-1 in renal disease," *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, vol. 220, no. 1, pp. 7–16, 2010.
- [100] L. F. Neville, G. Mathiak, and O. Bagasra, "The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 KD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C-X-C chemokine superfamily," *Cytokine & Growth Factor Reviews*, vol. 8, no. 3, pp. 207–219, 1997.
- [101] A. Zlotnik and O. Yoshie, "Chemokines: a new classification system and their role in immunity," *Immunity*, vol. 12, no. 2, pp. 121–127, 2000.
- [102] B. Rollins, "Chemokines," *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, vol. 90, no. 3, pp. 909–928, 1997.
- [103] D. C. T. Palomino and L. C. Marti, "Chemokines and immunity," *Einstein (Sao Paulo)*, vol. 13, no. 3, pp. 469–473, 2015.
- [104] M. Liu, S. Guo, J. Hibbert et al., "CXCL10/IP-10 in infectious diseases pathogenesis and potential therapeutic implications," *Cytokine & Growth Factor Reviews*, vol. 22, no. 3, pp. 121–130, 2011.
- [105] A. D. Luster and J. V. Ravetch, "Biochemical characterization of a gamma interferon-inducible cytokine (IP-10)," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 166, no. 4, pp. 1084–1097, 1987.
- [106] F. Gotsch, R. Romero, L. Friel et al., "CXCL10/IP-10: a missing link between inflammation and anti-angiogenesis in pre-eclampsia?," *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, vol. 20, no. 11, pp. 777–792, 2007.
- [107] S. Schaub, P. Nickerson, D. Rush et al., "Urinary CXCL9 and CXCL10 levels correlate with the extent of subclinical tubulitis," *American Journal of Transplantation*, vol. 9, no. 6, pp. 1347–1353, 2009.
- [108] C. E. Hughes and R. J. B. Nibbs, "A guide to chemokines and their receptors," *FEBS Journal*, vol. 285, no. 16, pp. 2944–2971, 2018.
- [109] A. Antonelli, M. Rotondi, P. Fallahi et al., "High levels of circulating CXC chemokine ligand 10 are associated with chronic autoimmune thyroiditis and hypothyroidism," *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, vol. 89, no. 11, pp. 5496–5499, 2004.
- [110] P. Libby, "Inflammation in atherosclerosis," *Nature*, vol. 420, no. 6917, pp. 868–874, 2002.
- [111] F. Mach, A. Sauty, A. S. Iarossi et al., "Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 104, no. 8, pp. 1041–1050, 1999.
- [112] J. A. Belperio, M. P. Keane, D. A. Arenberg et al., "CXC chemokines in angiogenesis," *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 68, no. 1, pp. 1–8, 2000.
- [113] C. C. Yates-Binder, M. Rodgers, J. Jaynes, A. Wells, R. J. Bonnar, and T. Turner, "An IP-10 (CXCL10)-derived peptide inhibits angiogenesis," *PLoS One*, vol. 7, no. 7, article e40812, 2012.
- [114] D. Watson, J. Y. C. Yang, R. D. Sarwal et al., "A novel multi-biomarker assay for non-invasive quantitative monitoring of kidney injury," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 8, no. 4, p. 499, 2019.
- [115] M. A. Marie, R. E. Abu Khalil, and H. M. Habib, "Urinary CXCL10: a marker of nephritis in lupus patients," *Reumatismo*, vol. 65, no. 6, pp. 292–297, 2014.
- [116] J. Reyes-Thomas, I. Blanco, and C. Putterman, "Urinary biomarkers in lupus nephritis," *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, vol. 40, no. 3, pp. 138–150, 2011.
- [117] B. Merhi, G. Bayliss, and R. Y. Gohh, "Role for urinary biomarkers in diagnosis of acute rejection in the transplanted

- kidney," *World Journal of Transplantation*, vol. 5, no. 4, pp. 251–260, 2015.
- [118] T. D. Blydt-Hansen, I. W. Gibson, A. Gao, B. Dufault, and J. Ho, "Elevated urinary CXCL10-to-creatinine ratio is associated with subclinical and clinical rejection in pediatric renal transplantation," *Transplantation*, vol. 99, no. 4, pp. 797–804, 2015.
- [119] R. R. Tatapudi, T. Muthukumar, D. Dadhania et al., "Noninvasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine," *Kidney International*, vol. 65, no. 6, pp. 2390–2397, 2004.
- [120] L. Weseslindtner, L. Hedman, Y. Wang et al., "Longitudinal assessment of the CXCL10 blood and urine concentration in kidney transplant recipients with BK polyomavirus replication—a retrospective study," *Transplant International*, vol. 33, no. 5, pp. 555–566, 2020.
- [121] N. Cimerman, M. T. Prebanda, B. Turk, T. Popović, I. Dolenc, and V. Turk, "Interaction of cystatin C variants with papain and human cathepsins B, H and L," *Journal of Enzyme Inhibition*, vol. 14, no. 2, pp. 167–174, 1999.
- [122] M. S. N. Murty, U. K. Sharma, V. B. Pandey, and S. B. Kankare, "Serum cystatin C as a marker of renal function in detection of early acute kidney injury," *Indian Journal of Nephrology*, vol. 23, no. 3, pp. 180–183, 2013.
- [123] M. Madero, M. J. Sarnak, and L. A. Stevens, "Serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate," *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, vol. 15, no. 6, pp. 610–616, 2006.
- [124] J. Mareš, D. Stejskal, J. Vavroušková, K. Urbánek, R. Herzig, and P. Hlušík, "Use of cystatin C determination in clinical diagnostics," *Biomed Papers*, vol. 147, no. 2, pp. 177–180, 2003.
- [125] J. Kyhse-Andersen, C. Schmidt, G. Nordin et al., "Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate," *Clinical Chemistry*, vol. 40, no. 10, pp. 1921–1926, 1994.
- [126] M. Mussap and M. Plebani, "Biochemistry and clinical role of human cystatin C," *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, vol. 41, no. 6, pp. 467–550, 2004.
- [127] M. C. Odden, I. Tager, R. Gansevoort et al., "Age and cystatin C in healthy adults: a collaborative study," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 25, no. 2, pp. 463–469, 2010.
- [128] M. Fricker, P. Wiesli, M. Brändle, B. Schwegler, and C. Schmid, "Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C," *Kidney International*, vol. 63, no. 5, pp. 1944–1947, 2003.
- [129] L. Risch, R. Herklotz, A. Blumberg, and A. R. Huber, "Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients," *Clinical Chemistry*, vol. 47, no. 11, pp. 2055–2059, 2001.
- [130] D. Jensen, C. Kierulf-Lassen, M. L. V. Kristensen et al., "Megalyn dependent urinary cystatin C excretion in ischemic kidney injury in rats," *PLoS One*, vol. 12, no. 6, article e0178796, 2017.
- [131] K. Uchida and A. Gotoh, "Measurement of cystatin-C and creatinine in urine," *Clinica Chimica Acta*, vol. 323, no. 1–2, pp. 121–128, 2002.
- [132] B. Szirmay, P. Kustán, Z. Horváth-Szalai et al., "Novel automated immune turbidimetric assay for routine urinary cystatin-C determinations," *Bioanalysis*, vol. 10, no. 6, pp. 377–384, 2018.
- [133] P. Sjöström, M. Tidman, and I. Jones, "The shorter T1/2 of cystatin C explains the earlier change of its serum level compared to serum creatinine," *Clinical Nephrology*, vol. 62, no. 3, pp. 241–242, 2004.
- [134] J. S. Chew, M. Saleem, C. M. Florkowski, and P. M. George, "Cystatin C—a paradigm of evidence based laboratory medicine," *The Clinical Biochemist Reviews*, vol. 29, no. 2, p. 47, 2008.
- [135] V. R. Dharnidharka, C. Kwon, and G. Stevens, "Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 40, no. 2, pp. 221–226, 2002.
- [136] P. Villa, M. Jiménez, M.-C. Soriano, J. Manzanares, and P. Casasnovas, "Serum cystatin C concentration as a marker of acute renal dysfunction in critically ill patients," *Critical Care*, vol. 9, no. 2, pp. 139–143, 2005.
- [137] H. Zheng, H. Liu, A. Hao, M. Zhang, and D. Wang, "Association between serum cystatin C and renal injury in patients with chronic hepatitis B," *Medicine (Baltimore)*, vol. 99, no. 32, article e21551, 2020.
- [138] M. Nejat, J. W. Pickering, R. J. Walker, and Z. H. Endre, "Rapid detection of acute kidney injury by plasma cystatin C in the intensive care unit," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 25, no. 10, pp. 3283–3289, 2010.
- [139] A. Spahillari, C. R. Parikh, K. Sint et al., "TRIBE-AKI consortium. Serum cystatin C- versus creatinine-based definitions of acute kidney injury following cardiac surgery: a prospective cohort study," *American Journal of Kidney Diseases*, vol. 60, no. 6, pp. 922–929, 2012.
- [140] K. Soto, S. Coelho, B. Rodrigues et al., "Cystatin C as a marker of acute kidney injury in the emergency department," *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 5, no. 10, pp. 1745–1754, 2010.
- [141] C. Briguori, G. Visconti, N. V. Rivera et al., "Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury," *Circulation*, vol. 121, no. 19, pp. 2117–2122, 2010.
- [142] M. Patel, R. Shyam, H. Bharti, R. Sachan, K. Gupta, and A. Parihar, "Evaluation of serum cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury in patients with acute pancreatitis," *Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*, vol. 24, no. 9, pp. 777–782, 2020.
- [143] N. Tarif, J. S. Alwakeel, A. H. Mitwalli et al., "Serum cystatin C as a marker of renal function in patients with acute renal failure," *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*, vol. 19, no. 6, pp. 918–923, 2008.
- [144] B. Nakhjavan-Shahraki, M. Yousefifard, N. Ataei et al., "Accuracy of cystatin C in prediction of acute kidney injury in children; serum or urine levels: which one works better? A systematic review and meta-analysis," *BMC Nephrology*, vol. 18, no. 1, p. 120, 2017.
- [145] O. Y. Safdar, M. Shalaby, N. Khathlan et al., "Serum cystatin is a useful marker for the diagnosis of acute kidney injury in critically ill children: prospective cohort study," *BMC Nephrology*, vol. 17, no. 1, p. 130, 2016.
- [146] P. Lagos-Arevalo, A. Paljian, L. Vertullo et al., "Cystatin C in acute kidney injury diagnosis: early biomarker or alternative to serum creatinine?," *Pediatric Nephrology*, vol. 30, no. 4, pp. 665–676, 2015.
- [147] T. Le Bricon, E. Thervert, M. Benlakehal, B. Bousquet, C. Legendre, and D. Erlich, "Changes in plasma cystatin C

- after renal transplantation and acute rejection in adults," *Clinical Chemistry*, vol. 45, no. 12, pp. 2243–2249, 1999.
- [148] P. Y. Wai and P. C. Kuo, "The role of osteopontin in tumor metastasis," *Journal of Surgical Research*, vol. 121, no. 2, pp. 228–241, 2004.
- [149] B. Christensen, M. S. Nielsen, K. F. Haselmann, T. E. Petersen, and E. S. Sørensen, "Post-translationally modified residues of native human osteopontin are located in clusters: identification of 36 phosphorylation and five O-glycosylation sites and their biological implications," *Biochemical Journal*, vol. 390, Part 1, pp. 285–292, 2005.
- [150] M. F. Young, J. M. Kerr, J. D. Termine et al., "cDNA cloning, mRNA distribution and heterogeneity, chromosomal location, and RFLP analysis of human osteopontin (OPN)," *Genomics*, vol. 7, no. 4, pp. 491–502, 1990.
- [151] A. Göthlin Eremo, K. Lagergren, L. Othman, S. Montgomery, G. Andersson, and E. Tina, "Evaluation of SPP1/osteopontin expression as predictor of recurrence in tamoxifen treated breast cancer," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, pp. 1–9, 2020.
- [152] L. F. Brown, B. Berse, L. Van de Water et al., "Expression and distribution of osteopontin in human tissues: widespread association with luminal epithelial surfaces," *Molecular Biology of the Cell*, vol. 3, no. 10, pp. 1169–1180, 1992.
- [153] S. Reza, A. Shaikat, T. M. Arain, Q. S. Riaz, and M. Mahmud, "Expression of osteopontin in patients with thyroid dysfunction," *PLoS One*, vol. 8, no. 2, article e56533, 2013.
- [154] S. Al-Zoubi, A. Wassouf, and A. B. Zetoune, "Measuring levels of osteopontin as potential biomarker for hepatocellular carcinoma in Syrian patients," *Gastroenterology and Hepatology from Bed to Bench*, vol. 10, no. 2, pp. 97–101, 2017.
- [155] D. Bruemmer, A. Collins, G. Noh et al., "Angiotensin II-accelerated atherosclerosis and aneurysm formation is attenuated in osteopontin-deficient mice," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 112, no. 9, pp. 1318–1331, 2003.
- [156] D. T. Denhardt, M. Noda, A. O'Regan, D. Pavlin, and J. Berman, "Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 107, no. 9, pp. 1055–1061, 2001.
- [157] C. M. Giachelli and S. Steitz, "Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization," *Matrix Biology*, vol. 19, no. 7, pp. 615–622, 2000.
- [158] J. Lorenzen, R. Krämer, V. Kliem et al., "Circulating levels of osteopontin are closely related to glomerular filtration rate and cardiovascular risk markers in patients with chronic kidney disease," *European Journal of Clinical Investigation*, vol. 40, no. 4, pp. 294–300, 2010.
- [159] F. P. Reinholt, K. Hultenby, A. Oldberg, and D. Heinegard, "Osteopontin—a possible anchor of osteoclasts to bone (bone matrix proteins/cell adhesion/vitronectin receptor)," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 87, pp. 4473–4475, 1990.
- [160] A. Higashi, Y. Dohi, N. Uraoka et al., "The potential role of inflammation associated with interaction between osteopontin and CD44 in a case of pulmonary tumor thrombotic microangiopathy caused by breast cancer," *Internal Medicine*, vol. 54, no. 22, pp. 2877–2880, 2015.
- [161] F. Kahles, H. M. Findeisen, and D. Bruemmer, "Osteopontin: a novel regulator at the cross roads of inflammation, obesity and diabetes," *Molecular Metabolism*, vol. 3, no. 4, pp. 384–393, 2014.
- [162] H. Zhao, Q. Chen, A. Alam et al., "The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour," *Cell Death & Disease*, vol. 9, no. 3, p. 356, 2018.
- [163] K. L. Hudkins, C. M. Giachelli, Y. Cui, W. G. Couser, R. J. Johnson, and C. E. Alpers, "Osteopontin expression in fetal and mature human kidney," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 10, no. 3, pp. 444–457, 1999.
- [164] S. A. Rogers, B. J. Padanilam, K. A. Hruska, C. M. Giachelli, and M. R. Hammerman, "Metanephric osteopontin regulates nephrogenesis in vitro," *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, vol. 272, no. 4, pp. 469–476, 1997.
- [165] J. Hoyer, L. Otvos, and L. Urge, "Osteopontin in urinary stone formation," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 760, pp. 257–265, 1995.
- [166] J. Lorenzen, R. Shah, A. Biser et al., "The role of osteopontin in the development of albuminuria," *Journal of the American Society of Nephrology*, vol. 19, no. 5, pp. 884–890, 2008.
- [167] S. B. Nicholas, J. Liu, J. Kim et al., "Critical role for osteopontin in diabetic nephropathy," *Kidney International*, vol. 77, no. 7, pp. 588–600, 2010.
- [168] J. P. C. Wong, R. Wei, P. Lyu et al., "Clinical and in vitro analysis of osteopontin as a prognostic indicator and unveil its potential downstream targets in bladder cancer," *International Journal of Biological Sciences*, vol. 13, no. 11, pp. 1373–1386, 2017.
- [169] S. H. Sim, M. P. Messenger, W. M. Gregory et al., "Prognostic utility of pre-operative circulating osteopontin, carbonic anhydrase IX and CRP in renal cell carcinoma," *British Journal of Cancer*, vol. 107, no. 7, pp. 1131–1137, 2012.
- [170] T. Feldreich, A. C. Carlsson, J. Helmersson-Karlqvist et al., "Urinary osteopontin predicts incident chronic kidney disease, while plasma osteopontin predicts cardiovascular death in elderly men," *Cardiorenal Medicine*, vol. 7, no. 3, pp. 245–254, 2017.
- [171] J. M. Lorenzen, C. Hafer, R. Faulhaber-Walter et al., "Osteopontin predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury," *Nephrology Dialysis Transplantation*, vol. 26, no. 2, pp. 531–537, 2011.
- [172] D. J. Askenazi, R. Koralkar, H. E. Hundley et al., "Urine biomarkers predict acute kidney injury in newborns," *The Journal of Pediatrics*, vol. 161, no. 2, pp. 270–275, 2012.
- [173] B. Varalakshmi, V. Kiranmyai, B. Aparna, R. Ram, P. Rao, and V. Kumar, "Plasma osteopontin levels in patients with acute kidney injury requiring dialysis: a study in a tertiary care institute in South India," *International Urology and Nephrology*, vol. 52, no. 5, pp. 917–921, 2020.
- [174] L. M. Castello, D. Raineri, L. Salmi et al., "Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression," *Mediators of Inflammation*, vol. 2017, Article ID 4049098, 2017.
- [175] K. M. A. Rouschop, J. J. T. H. Roelofs, M. Sylva et al., "Renal expression of CD44 correlates with acute renal allograft rejection," *Kidney International*, vol. 70, no. 6, pp. 1127–1134, 2006.
- [176] H. V. De Silva, J. A. K. Harmony, W. D. Stuart, C. M. Gil, and J. Robbins, "Apolipoprotein J: structure and tissue distribution," *Biochemistry*, vol. 29, no. 22, pp. 5380–5389, 1990.
- [177] B. Shannan, M. Seifert, D. A. Boothman, W. Tilgen, and J. Reichrath, "Clusterin and DNA repair: a new function in cancer for a key player in apoptosis and cell cycle control," *Journal of Molecular Histology*, vol. 37, no. 5–7, pp. 183–188, 2006.

- [178] B. Pajak and A. Orzechowski, "Clusterin: the missing link in the calcium-dependent resistance of cancer cells to apoptogenic stimuli," *Postępy Higieny I Medycyny Doswiadczalnej (Online)*, vol. 60, pp. 45–51, 2006.
- [179] Z. Han, Z. Wang, G. Cheng et al., "Presence, localization, and origin of clusterin in normal human spermatozoa," *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, vol. 29, no. 8, pp. 751–757, 2012.
- [180] M. E. Rosenberg and J. Silkenen, "Clusterin: physiologic and pathophysiologic considerations," *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, vol. 27, no. 7, pp. 633–645, 1995.
- [181] D. E. Jenne and J. Tschopp, "Clusterin: the intriguing guises of a widely expressed glycoprotein," *Trends in Biochemical Sciences*, vol. 17, no. 4, pp. 154–159, 1992.
- [182] B. Murphy, L. Kirszbaum, I. Walker, and A. D'Apice, "SP-40, 40, a newly identified normal human serum protein found in the SC5b-9 complex of complement and in the immune deposits in glomerulonephritis," *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 81, no. 6, pp. 1858–1864, 1988.
- [183] J.-S. Park, Y.-J. Shim, B.-H. Kang, W.-K. Lee, and B.-H. Min, "Hepatocyte-specific clusterin overexpression attenuates diet-induced nonalcoholic steatohepatitis," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 495, no. 2, pp. 1775–1781, 2018.
- [184] J. F. McDonald and G. L. Nelsestuen, "Potent inhibition of terminal complement assembly by clusterin: characterization of its impact on C9 polymerization," *Biochemistry*, vol. 36, no. 24, pp. 7464–7473, 1997.
- [185] N. Yang and Q. Qin, "Apolipoprotein J: a new predictor and therapeutic target in cardiovascular disease?," *Chinese Medical Journal*, vol. 128, no. 18, pp. 2530–2534, 2015.
- [186] S. Poon, S. Easterbrook-Smith, M. Rybchyn, J. Carver, and M. Wilson, "Clusterin is an ATP-independent chaperone with very broad substrate specificity that stabilizes stressed proteins in a folding-competent state," *Biochemistry*, vol. 39, no. 51, pp. 15953–15960, 2000.
- [187] I. B. Fritz and B. Murphy, "Clusterin: insights into a multifunctional protein," *Trends in Endocrinology & Metabolism*, vol. 4, no. 2, pp. 41–45, 1993.
- [188] L. E. French, J. Tschopp, and J. A. Schifferli, "Clusterin in renal tissue: preferential localization with the terminal complement complex and immunoglobulin deposits in glomeruli," *Clinical & Experimental Immunology*, vol. 88, no. 3, pp. 389–393, 1992.
- [189] J. Guo, Q. Guan, X. Liu et al., "Relationship of clusterin with renal inflammation and fibrosis after the recovery phase of ischemia-reperfusion injury," *BMC Nephrology*, vol. 17, no. 1, p. 133, 2016.
- [190] W. Zhou, Q. Guan, C. C. H. Kwan et al., "Loss of clusterin expression worsens renal ischemia-reperfusion injury," *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, vol. 298, no. 3, pp. 568–578, 2010.
- [191] S. S. Kim, S. Song, J. Kim et al., "Urine clusterin/apolipoprotein J is linked to tubular damage and renal outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus," *Clinical Endocrinology*, vol. 87, no. 2, pp. 156–164, 2017.
- [192] X.-F. Zeng, D.-X. Lu, J.-M. Li et al., "Performance of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin, clusterin, and cystatin C in predicting diabetic kidney disease and diabetic microalbuminuria: a consecutive cohort study," *BMC Nephrology*, vol. 18, no. 1, p. 233, 2017.
- [193] D. Schlatter, D. M. Maahs, M. R. Chance et al., "Novel urinary protein biomarkers predicting the development of microalbuminuria and renal function decline in type 1 diabetes," *Diabetes Care*, vol. 35, no. 3, pp. 549–555, 2012.
- [194] P. Solichova, M. Karpisek, R. Ochmanova et al., "Urinary clusterin concentrations—a possible marker of nephropathy? Pilot study," *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, vol. 151, no. 2, pp. 233–236, 2007.
- [195] C. Y. Wu, H. Yang, H. Chien, M. Tseng, and J. Huang, "Urinary clusterin—a novel urinary biomarker associated with pediatric lupus renal histopathologic features and renal survival," *Pediatric Nephrology*, vol. 33, no. 7, pp. 1189–1198, 2018.
- [196] K. Musiał, M. Augustynowicz, I. Miśkiewicz-Migoń, K. Kahwak, M. Ussowicz, and D. Zwolińska, "Clusterin as a new marker of kidney injury in children undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation—a pilot study," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 9, no. 8, p. 2599, 2020.
- [197] B. Banas, B. Krämer, B. Krüger, N. Kamar, and N. Undre, "Long-term kidney transplant outcomes: role of prolonged-release tacrolimus," *Transplantation Proceedings*, vol. 52, no. 1, pp. 102–110, 2020.
- [198] L. J. Lehner, O. Staeck, F. Halleck, L. Liefeldt, J. Bamoulid, and K. Budde, "Need for optimized immunosuppression in elderly kidney transplant recipients," *Transplantation Reviews*, vol. 29, no. 4, pp. 237–239, 2015.
- [199] R. A. Lee and S. Gabardi, "Current trends in immunosuppressive therapies for renal transplant recipients," *American Journal of Health-System Pharmacy*, vol. 69, no. 22, pp. 1961–1975, 2012.
- [200] N. M. Jasiak and J. M. Park, "Immunosuppression in solid-organ transplantation," *Critical Care Nursing Quarterly*, vol. 39, no. 3, pp. 227–240, 2016.
- [201] F. Stucker and D. Ackermann, "Immunsuppressiva—wirkungen, nebenwirkungen und interaktionen," *Therapeutische Umschau*, vol. 68, no. 12, pp. 679–686, 2011.
- [202] C. Ponticelli and G. Moroni, "Fetal toxicity of immunosuppressive drugs in pregnancy," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 7, no. 12, p. 552, 2018.
- [203] K. Kędzierska, K. Sindrewicz, K. Sporniak-Tutak et al., "Does immunosuppressive therapy affect markers of kidney damage?," *Annals of Transplantation*, vol. 21, pp. 137–144, 2016.
- [204] M. E. Hong, J. Hong, S. Stepkowski, and B. Kahan, "Correlation between cyclosporine-induced nephrotoxicity in reduced nephron mass and expression of kidney injury molecule-1 and aquaporin-2 gene," *Transplantation Proceedings*, vol. 37, no. 10, pp. 4254–4258, 2005.
- [205] A. Wasilewska, W. Zoch-Zwierz, K. Taranta-Janusz, and J. Michaluk-Skutnik, "Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of cyclosporine nephrotoxicity?," *Pediatric Nephrology*, vol. 25, no. 5, pp. 889–897, 2010.

Załącznik nr 2

Tabela Z1. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex w pierwszym dniu po przeszczepie nerki (S/O*, surowica/osocze; M, mocz)

Numer pacjenta	Rodzaj materiału	ELISA								Luminex							
		NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL- 10 pg/ml	OPN* ng/ml	Cys C ng/ml	RBP- 4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml	NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL- 10 pg/ml	OPN ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml
1	S/O*	367,2	430,7	117,6	91,4	3882	98,1	125,0	592,4	325,6	272,2	148,8	97,9	6676	282,6	22,3	661,3
	M	6,5	0,3	9,7	85,5	86,8	92,1	26,5	4,6	19,2	0,3	27,4	85,1	177,8	1,0	13,4	16,7
2	S/O*	367,2	37,0	740,6	231,7	3775	73,7	109,0	538,7	188,1	207,3	719,7	119,4	2916	60,6	9,0	829,8
	M	1,8	1,5	15,5	550,0	79,9	82,2	37,4	8,7	11,6	0,4	29,9	219,0	179,5	1,0	23,1	21,4
3	S/O*	361,7	178,2	134,0	62,1	2615	98,7	77,0	438,3	132,4	423,8	132,5	81,6	2876	100,0	8,2	589,0
	M	2,4	1,4	45,7	193,4	17,6	43,5	14,8	28,9	10,5	0,2	55,4	254,1	46,8	0,9	7,3	86,9
4	S/O*	97,4	114,7	29,6	266,6	2154	92,1	18,7	592,4	78,7	272,2	80,8	174,4	1588	145,7	3,1	632,1
	M	12,9	1,9	15,8	72,8	18,2	88,7	45,0	32,9	20,8	0,2	34,6	114,0	48,8	0,5	24,8	61,4
5	S/O*	110,6	76,7	45,9	121,2	1471	66,5	10,8	492,7	71,4	207,3	92,4	131,0	1148	33,4	2,6	702,2
	M	6,4	0,3	8,6	28,1	7,6	18,6	66,6	7,0	8,3	0,1	8,4	26,9	35,4	0,7	4,7	42,6
6	S/O*	262,8	904,9	147,0	353,9	3052	98,8	82,0	596,6	146,9	689,2	2160,0	154,7	5208	97,1	14,0	633,8
	M	18,4	0,6	18,4	134,1	155,5	3,6	273,9	261,2	118,6	0,6	99,2	75,0	98,2	0,3	71,1	820,5
7	S/O*	218,7	491,9	137,0	242,6	3485	62,2	87,8	577,3	152,6	486,3	223,8	260,8	7688	191,5	11,1	578,3
	M	18,4	1,5	57,6	30,9	155,5	52,1	171,2	675,2	77,9	0,3	55,4	86,9	136,5	0,6	41,1	1498,4
8	S/O*	280,1	554,5	310,0	119,2	6157	95,6	31,5	442,7	302,3	344,6	230,7	91,6	10348	103,1	41,4	567,1
	M	23,6	1,9	324,1	348,1	280,4	85,4	266,0	265,5	81,6	0,3	367,5	473,3	236,3	1,0	32,8	119,1
9	S/O*	294,6	109,8	84,5	144,2	5111	88,2	76,7	473,0	134,7	150,3	179,6	119,4	4672	215,2	9,6	621,8
	M	23,6	1,6	418,2	424,7	354,1	92,6	311,6	787,2	225,0	0,3	360,0	176,3	306,1	1,1	35,4	684,3
10	S/O*	382,6	540,4	361,0	204,9	3596	53,7	62,0	423,3	118,2	344,6	250,5	127,4	4036	86,9	7,7	494,2
	M	23,6	1,3	152,6	47,8	185,7	56,4	228,2	223,4	136,7	0,2	99,2	208,4	201,9	0,4	25,1	979,7
11	S/O*	136,3	212,4	227,3	141,8	2757	99,2	26,1	323,5	219,3	207,3	102,2	136,1	3963	89,2	9,8	166,7
	M	18,6	3,4	51,4	638,0	146,4	81,9	291,1	9,5	212,0	0,3	454,1	569,9	142,3	0,8	104,5	77,5
12	S/O*	234,8	341,7	51,5	212,3	2681	76,2	72,9	217,0	260,8	272,2	48,4	174,2	3879	30,6	24,8	201,4
	M	17,4	1,4	107,9	176,5	142,3	85,7	172,6	2,0	66,3	0,2	119,8	328,2	153,0	0,8	57,3	168,8
13	S/O*	323,9	95,1	84,4	85,4	3111	29,1	82,6	291,0	387,5	150,3	57,0	58,8	4298	15,2	16,9	275,6
	M	5,1	0,5	7,4	27,9	7,4	7,8	102,8	5,3	11,8	0,1	9,6	19,6	8,6	0,1	14,0	8,2

14	S/O*	252,7	145,9	106,2	98,5	2659	79,7	37,5	290,4	245,1	207,3	77,9	100,0	2963	21,1	9,6	306,0
	M	13,1	2,1	341,6	158,2	68,1	44,1	210,4	312,2	331,8	0,2	218,3	409,9	112,9	0,7	72,3	350,2
15	S/O*	296,7	195,7	82,8	114,4	2946	73,4	52,0	357,3	231,7	257,3	57,0	101,5	3881,1	27,4	16,1	285,5
	M	12,8	1,2	113,3	83,8	83,3	59,9	446,7	3,4	347,6	0,3	201,9	280,0	142,6	0,9	121,3	287,4
16	S/O*	321,1	203,1	300,9	196,6	5214	95,5	139,7	219,6	515,7	272,2	268,6	84,0	9518	35,7	39,3	319,5
	M	8,9	0,1	28,0	15,1	135,6	81,4	75,6	23,6	26,9	0,1	26,6	43,6	123,8	0,9	14,9	43,7
17	S/O*	285,7	374,5	117,1	448,7	2719	59,5	30,5	393,1	282,5	272,2	90,6	453,6	4351	19,1	9,7	339,2
	M	23,6	1,4	134,9	362,4	315,1	62,5	287,8	2,4	325,1	0,3	230,9	422,5	242,5	0,6	102,4	410,6
18	S/O*	321,1	260,8	201,0	288,4	4665	78,1	61,7	310,3	380,6	207,3	138,4	254,4	5553	26,6	21,5	287,2
	M	23,6	0,9	36,0	340,1	254,2	95,1	214,8	2,1	324,1	0,2	73,2	120,0	126,7	0,8	86,5	7,4
19	S/O*	332,5	120,0	126,0	174,6	4689	98,1	63,6	331,7	368,7	307,5	190,0	175,9	3386	26,1	7,8	187,1
	M	18,4	4,3	65,4	93,1	18,5	27,3	213,8	11,9	102,3	0,3	83,3	101,0	21,0	0,2	37,1	157,5

Tabela Z2. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex po pół roku po przeszczepie nerki (S/O*, surowica/osocze; M, mocz)

Numer pacjenta	Rodzaj materialu	ELISA								Luminex							
		NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN* ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml	NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml
1	S/O*	58,2	375,3	227,5	84,7	1215	65,2	9,2	427,3	87,3	423,8	206,5	96,5	1380	52,8	2,1	459,0
	M	0,7	0,0	7,7	33,2	1,9	5,6	17,4	1,4	2,3	0,1	14,1	11,6	4,1	0,4	6,9	3,6
2	S/O*	146,0	66,5	334,1	52,3	1180	63,1	11,5	519,6	82,6	344,6	468,2	56,6	1372	53,0	2,6	448,9
	M	2,2	0,0	28,0	46,9	23,6	2,5	33,3	5,3	13,1	0,2	43,4	160,2	31,3	0,3	34,9	15,2
3	S/O*	60,3	160,2	230,3	82,7	971,4	61,4	12,8	556,1	56,7	209,3	228,0	171,7	1456	58,2	2,9	460,0
	M	0,8	0,2	8,5	169,2	1,0	7,9	75,2	3,0	2,5	0,2	24,9	132,6	13,7	0,1	22,2	14,6
4	S/O*	67,0	904,9	318,0	163,9	1347	78,4	13,5	323,0	68,9	444,6	559,1	132,3	1984	99,7	2,9	496,6
	M	4,2	0,3	18,4	137,1	1,8	2,6	34,9	1,3	8,5	0,2	39,9	158,3	2,7	0,4	12,8	4,5
5	S/O*	75,3	233,4	116,3	55,2	884,3	62,4	7,0	445,4	63,9	423,8	200,4	77,7	1032	52,3	1,5	450,3
	M	2,6	0,3	18,4	89,2	0,7	1,3	24,5	1,8	0,6	0,1	29,9	125,3	1,6	0,0	3,5	2,7
6	S/O*	96,8	274,2	107,0	124,2	1525	71,0	33,8	512,7	87,9	509,3	255,5	72,9	1844	48,1	3,5	431,2
	M	8,6	0,4	14,3	225,7	5,6	1,9	43,4	6,1	31,0	0,2	34,6	253,6	20,3	0,0	13,4	37,1
7	S/O*	143,9	254,0	103,0	82,9	1204	71,0	32,1	571,1	294,1	423,8	203,4	93,7	1912	234,1	4,3	528,4
	M	16,9	1,1	47,1	674,3	18,7	14,8	106,5	66,5	48,2	0,2	39,1	349,5	34,4	0,1	34,3	137,2
8	S/O*	41,6	453,9	160,1	104,4	2298	87,3	20,4	348,9	47,5	344,6	215,3	50,2	1760	87,7	2,7	514,0
	M	4,3	1,5	50,4	674,3	74,9	62,2	437,9	41,0	11,4	0,3	132,5	1043,6	97,0	0,5	60,7	89,1
9	S/O*	65,2	156,1	779,6	121,0	1724	56,3	13,3	379,3	60,7	272,2	920,0	66,4	2052	75,6	3,1	430,8
	M	17,1	1,8	183,6	674,3	75,6	97,4	494,8	102,6	39,8	0,3	179,6	808,9	90,9	0,6	56,0	299,1
10	S/O*	25,5	327,1	272,7	246,3	1780	47,8	0,2	222,7	55,6	272,2	183,1	160,5	1807	17,8	2,4	70,2
	M	12,1	1,1	56,5	73,9	3,9	6,7	45,2	2,2	22,1	0,0	13,0	224,5	10,2	0,0	16,1	2,0
11	S/O*	151,0	307,4	75,0	62,7	2147	68,0	22,9	376,3	239,8	272,2	51,3	110,4	2584	34,8	8,1	224,2
	M	4,1	3,4	11,9	417,5	20,3	18,5	212,5	321,2	7,5	0,3	19,9	331,3	27,3	0,1	77,3	4,0
12	S/O*	11,7	199,5	105,2	59,7	1494	99,1	34,7	340,3	23,1	150,3	65,3	21,9	2797	38,2	11,2	248,0
	M	5,3	0,7	13,9	25,8	18,7	99,6	214,6	2,0	15,1	0,2	26,6	18,4	24,3	1,0	76,4	114,8
13	S/O*	18,9	141,4	156,6	75,0	1221	37,3	13,9	352,6	29,8	207,3	95,3	41,1	2074	40,5	14,0	259,1
	M	1,2	0,2	7,4	105,9	5,3	3,3	122,3	2,8	1,6	0,1	13,0	99,6	7,6	0,0	45,4	2,0
14	S/O*	80,5	231,9	64,7	75,0	2248	46,3	13,2	399,0	114,7	272,2	54,2	54,4	2659	19,6	4,6	328,5
	M	10,7	0,2	101,0	450,3	5,8	2,8	47,1	2,5	23,6	0,1	113,4	683,7	44,0	0,0	18,2	2,9

15	S/O*	32,6	161,3	109,9	80,8	1602	56,3	20,2	353,9	51,5	238,8	67,9	85,1	2284,8	21,6	9,5	289,3
	M	5,9	0,3	29,2	106,6	8,0	31,6	268,1	2,6	102,5	0,2	61,4	426,6	65,6	0,5	114,8	746,8
16	S/O*	191,1	73,8	93,2	163,1	2757	85,5	30,5	193,1	246,2	207,3	75,8	74,1	3284,6	34,9	6,8	307,6
	M	11,0	0,5	15,4	170,2	30,0	91,3	154,7	38,6	36,9	0,1	23,3	215,3	82,1	1,1	64,6	6,9
17	S/O*	30,1	489,2	57,8	390,0	2225	70,6	15,7	353,1	52,8	372,2	49,9	134,0	1820,5	29,5	3,4	227,5
	M	4,3	0,9	13,0	296,2	25,2	91,1	274,1	43,4	15,1	0,2	29,9	322,9	30,2	1,1	96,6	7,5
18	S/O*	205,9	229,6	467,0	230,5	2567	47,7	24,9	270,2	206,6	187,3	238,7	85,6	3181,1	20,4	6,0	248,9
	M	13,8	1,2	16,8	446,4	49,1	97,1	333,5	185,9	290,4	0,3	29,9	75,8	77,6	0,9	103,8	9,4
19	S/O*	258,4	256,9	486,7	139,1	2597	56,4	18,3	292,0	232,9	600,9	397,6	141,3	2655,3	12,7	5,1	180,9
	M	23,6	2,0	11,7	22,6	37,4	45,5	53,5	121,4	221,1	0,0	13,0	82,4	61,6	0,4	19,0	4,6

Tabela Z3. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u pacjentów w grupie badanej metodą ELISA i xMap Luminex po roku po przeszczepie nerki (S/O*, surowica/osocze; M, mocz)

Numer pacjenta	Rodzaj materiału	ELISA								Luminex							
		NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN* ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml	NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml
1	S/O*	105,5	388,7	287,1	110,3	967,1	47,0	8,1	370,9	114,4	509,3	215,3	94,8	1180	47,6	1,2	440,5
	M	1,4	0,1	6,2	26,2	1,4	0,9	7,1	11,2	0,6	0,2	8,4	10,7	2,0	0,0	5,8	27,2
2	S/O*	46,6	48,1	170,1	41,3	1104	75,3	12,6	521,3	47,5	344,6	374,5	47,3	1248	61,4	2,8	508,7
	M	3,6	0,1	33,1	87,6	17,5	1,2	184,4	3,6	15,3	0,3	79,2	180,2	28,6	0,2	52,7	7,1
3	S/O*	83,3	181,0	779,6	104,4	975,9	59,5	11,6	570,8	75,0	385,6	348,4	181,2	1288	38,1	2,8	466,7
	M	3,4	0,6	14,8	63,8	4,5	14,8	68,6	3,9	8,5	0,2	34,6	58,4	28,0	0,3	24,0	24,6
4	S/O*	64,1	337,3	93,8	75,6	1190	73,5	14,8	592,4	43,3	323,8	113,3	105,6	1796	94,1	2,9	678,6
	M	5,6	0,1	6,7	264,0	4,6	1,2	49,5	0,5	9,7	0,2	19,9	394,6	6,8	0,1	33,7	3,4
5	S/O*	46,9	205,5	124,2	68,5	1653,1	97,1	9,5	422,9	46,7	344,6	205,0	61,5	1608	64,5	2,2	408,7
	M	0,7	0,3	6,7	86,2	0,6	1,1	17,7	5,2	0,6	0,1	8,4	67,6	0,9	0,0	0,7	22,5
6	S/O*	128,3	194,3	143,9	77,6	1420	81,4	16,2	380,7	99,6	423,8	344,4	60,7	1104	66,0	3,3	425,9
	M	0,7	0,2	5,3	185,7	4,4	1,0	16,7	2,0	0,2	0,1	14,1	85,3	3,9	0,0	5,3	2,5
7	S/O*	80,1	266,5	458,1	152,3	1060	82,1	10,5	443,1	66,7	423,8	300,4	162,3	1816	266,7	2,6	412,0
	M	3,5	0,2	6,5	374,3	4,1	2,5	54,8	3,0	5,6	0,2	14,1	224,6	6,1	0,0	13,9	7,3
8	S/O*	151,1	418,0	92,6	107,2	2774	86,9	17,8	247,1	178,0	272,2	70,6	67,7	3373	41,0	15,1	212,5
	M	4,3	1,3	25,6	664,3	82,2	36,5	290,8	39,0	10,8	0,3	51,3	1040,0	102,1	0,4	103,7	19,9
9	S/O*	145,0	155,4	627,5	34,5	2048	34,5	16,5	308,7	230,0	207,3	270,8	17,1	2153	32,2	4,9	175,8
	M	22,6	1,3	28,8	574,3	29,6	28,0	518,1	19,7	90,9	0,2	45,5	673,8	68,2	0,3	83,3	10,4
10	S/O*	65,7	276,1	400,5	132,3	2418	45,9	20,9	373,1	158,6	207,3	235,6	69,5	2310	20,1	5,5	164,0
	M	8,4	1,6	105,9	674,3	48,2	10,5	212,9	2,2	13,9	0,2	48,4	1940,0	69,1	0,1	73,3	4,0
11	S/O*	120,1	170,0	658,2	48,9	2642	56,9	28,0	325,5	212,3	150,3	298,4	86,1	2789	21,5	10,3	190,4
	M	17,8	5,3	190,6	674,3	12,6	95,8	558,8	10,4	87,7	1,6	798,1	690,0	13,5	1,0	172,2	32,5
12	S/O*	38,6	136,2	127,3	65,5	2306	55,1	38,2	371,4	69,5	207,3	75,3	24,2	3545	10,1	9,8	197,1
	M	5,3	0,8	35,3	387,5	47,5	88,0	535,5	1,9	15,8	0,3	70,6	433,4	106,7	0,9	141,1	12,6
13	S/O*	145,8	151,6	130,9	62,9	1598	28,7	3,9	300,7	247,2	207,3	75,8	33,2	2615	13,9	6,0	293,7
	M	1,3	0,2	10,0	163,0	1,6	1,0	95,2	2,0	1,6	0,1	13,0	171,1	3,6	0,0	39,1	2,0
14	S/O*	135,6	257,5	103,2	22,2	2271	46,5	18,8	376,5	163,8	272,2	70,6	30,4	2848	18,8	6,1	303,5
	M	3,5	0,1	8,1	573,5	11,0	27,8	54,9	0,9	9,8	0,0	9,6	865,4	64,6	0,3	19,6	2,0

15	S/O*	119,3	97,8	183,4	52,9	1619	42,4	18,7	349,9	254,8	222,2	104,5	64,0	2697	17,5	7,0	289,9
	M	10,3	0,3	28,1	130,9	7,6	42,1	206,4	0,1	172,4	0,2	45,5	528,9	24,8	0,6	78,2	28,8
16	S/O*	22,4	21,4	193,3	35,3	806,0	24,6	8,2	169,1	38,9	172,2	121,9	33,2	1943	12,6	2,0	271,2
	M	3,8	0,0	13,9	90,7	6,8	26,6	83,4	3,7	9,9	0,1	16,5	107,5	7,8	0,4	28,8	2,4
17	S/O*	181,7	256,2	106,5	183,5	3531	89,0	45,6	247,6	166,9	150,3	80,8	86,4	6224	43,6	17,2	109,3
	M	13,6	0,8	95,4	129,9	241,0	78,5	104,2	53,6	159,0	0,2	136,4	77,5	168,8	0,9	52,7	240,4
18	S/O*	204,4	196,5	125,1	196,0	2492	59,3	23,3	293,0	232,5	157,3	70,6	65,2	3085	21,9	5,7	270,7
	M	8,2	1,0	28,1	23,1	43,1	88,1	391,8	187,9	122,0	0,3	39,4	57,4	42,7	0,8	109,8	10,1
19	S/O*	138,5	116,9	153,0	72,5	1663	38,5	15,3	394,6	184,9	207,3	59,8	40,3	1110,2	9,4	4,4	257,6
	M	12,8	0,7	10,3	161,8	179,3	82,2	83,0	22,8	74,2	0,1	13,0	195,8	165,2	0,7	28,6	5,4

Tabela Z4. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania parametrów biochemicznych uzyskane u pacjentów w grupie badanej w odstępach czasu po przeszczepie nerki (S, surowica)

Numer pacjenta	Rodzaj materiału	Parametry biochemiczne																	
		Dzień po przeszczepie						Pół roku po przeszczepie						Rok po przeszczepie					
		Kreatynina mg/dl	eGFR ml/min/1,73	Mocznik mg/dl	Sód mmol/l	Potas mmol/l	Chlorki mmol/l	Kreatynina mg/dl	eGFR ml/min/1,73	Mocznik mg/dl	Sód mmol/l	Potas mmol/l	Chlorki mmol/l	Kreatynina mg/dl	eGFR ml/min/1,73	Mocznik mg/dl	Sód mmol/l	Potas mmol/l	Chlorki mmol/l
1	s	5,0	13,0	95,1	136,0	5,3	104,0	1,5	54,0	46,3	142,0	4,4	103,0	1,5	52,0	48,1	144,0	4,7	104,0
2	s	1,3	51,0	50,5	142,0	4,6	109,0	1,0	68,0	39,4	143,0	4,5	106,0	1,2	57,0	32,3	141,0	4,5	107,0
3	s	1,3	47,0	79,2	136,0	4,1	97,0	0,9	71,0	42,5	139,0	5,0	102,0	0,9	72,0	37,6	136,0	4,5	98,0
4	s	1,2	67,0	46,8	145,0	4,2	108,0	1,6	47,0	52,3	139,0	4,5	100,0	1,1	73,0	47,3	144,0	4,6	103,0
5	s	1,4	58,0	52,9	141,0	4,6	110,0	1,2	72,0	30,0	142,0	4,3	103,0	1,2	69,0	34,5	140,0	4,1	101,0
6	s	5,9	7,0	154,3	139,0	6,0	103,0	1,0	57,0	34,0	142,0	5,1	102,0	1,2	49,0	53,3	143,0	4,8	103,0
7	s	5,5	10,0	81,3	139,0	4,7	99,0	1,6	45,0	38,2	142,0	4,6	104,0	1,5	50,0	40,7	141,0	3,3	99,0
8	s	10,4	5,0	168,7	139,0	5,1	99,0	1,2	70,0	60,2	145,0	4,0	107,0	1,2	66,0	56,1	143,0	4,6	102,0
9	s	9,0	7,0	150,9	136,0	5,6	104,0	1,9	43,0	43,6	138,0	3,8	103,0	1,6	53,0	49,8	138,0	4,1	102,0
10	s	3,2	14,0	121,3	139,0	4,3	107,0	1,1	52,0	50,2	143,0	4,4	103,0	1,1	51,0	51,9	144,0	4,6	104,0
11	s	3,8	12,0	76,5	143,0	4,9	103,0	1,5	37,0	38,4	143,0	5,4	103,0	1,7	33,0	37,6	142,0	5,2	103,0
12	s	2,6	21,0	77,0	133,0	4,4	105,0	1,5	42,0	67,0	138,0	4,5	105,0	1,6	39,0	57,7	139,0	4,2	104,0
13	s	3,3	19,0	105,3	137,0	4,7	100,0	1,1	69,0	33,4	142,0	5,0	107,0	1,3	57,0	41,5	141,0	4,7	105,0
14	s	3,9	13,0	49,6	136,0	4,6	101,0	1,5	41,0	47,9	134,0	4,4	96,0	2,0	28,0	57,0	135,0	4,2	99,0
15	s	4,9	9,0	84,7	135,0	6,6	100,0	1,4	41,0	67,7	139,0	4,1	103,0	1,2	47,0	53,1	142,0	4,2	103,0
16	s	10,6	5,0	104,6	134,0	5,9	97,0	1,6	50,0	51,9	139,0	5,2	104,0	1,7	47,0	40,3	143,0	5,1	108,0
17	s	6,3	11,0	65,6	139,0	6,8	99,0	1,4	67,0	38,3	141,0	4,8	108,0	1,5	63,0	41,8	141,0	4,4	111,0
18	s	5,2	11,0	78,6	136,0	5,2	101,0	1,2	61,0	49,2	141,0	4,6	104,0	1,2	61,0	51,2	143,0	4,3	103,0
19	s	4,1	14,0	85,3	138,0	4,7	102,0	1,5	47,0	50,5	138,0	4,8	90,0	1,3	54,0	34,9	140,0	4,5	100,0

Tabela Z5. Szczegółowe zestawienie wyników oznaczania biomarkerów uzyskane u w grupie kontrolnej metodą ELISA i xMap Luminex (S/O*, surowica/osocze; M, mocz)

Numer pacjenta	Rodzaj materiału	ELISA								Luminex							
		NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN* ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml	NGAL ng/ml	KIM-1 pg/ml	CXCL-10 pg/ml	OPN ng/ml	Cys C ng/ml	RBP-4 mg/l	TFF3 ng/ml	CLU µg/ml
1	S/O*	49,1	15,2	110,3	67,3	721,7	30,3	7,8	169,7	144,4	56,4	117,7	55,4	1594	9,1	4,7	154,2
	M	1,1	0,1	15,5	372,0	13,5	26,5	59,4	4,8	1,3	0,1	51,3	154,0	60,7	0,0	63,9	0,2
2	S/O*	42,3	40,0	90,0	38,1	758,1	75,2	5,8	307,1	91,9	150,3	65,3	20,8	1372	14,1	2,1	372,9
	M	1,3	0,0	11,5	309,1	22,9	16,4	90,8	2,5	3,9	0,1	9,6	188,0	124,4	0,1	20,7	0,1
3	S/O*	61,7	38,4	68,1	47,5	690,5	51,6	12,7	204,7	94,0	144,6	75,8	65,2	1189	8,9	3,9	215,1
	M	1,8	0,0	21,6	280,9	9,4	5,4	89,3	9,3	1,9	0,0	9,6	450,5	59,3	0,0	32,0	0,3
4	S/O*	39,6	18,1	63,1	27,7	444,3	30,3	6,1	438,7	69,7	72,2	54,2	24,2	1059	12,0	2,0	348,0
	M	4,0	0,0	17,7	158,2	2,5	12,4	79,7	2,4	10,8	0,0	9,6	336,7	21,3	0,0	23,9	0,1
5	S/O*	47,1	33,5	88,6	56,9	772,6	77,8	8,2	230,5	104,0	128,3	90,6	58,8	1590	13,6	3,2	194,3
	M	2,7	0,0	28,3	205,4	3,2	26,7	123,1	2,6	2,1	0,1	16,5	169,0	37,0	0,0	37,8	0,1



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

**Uchwała nr KB-0012/114/12
Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego
w Szczecinie z dnia 29 października 2012 r.**

Na podstawie art. 29 ust. 1 ustawy z dnia 5 grudnia 1996 roku o zawodzie lekarza i lekarza dentystry (Dz. U. z 05.11.2008 r. Nr 136, poz. 857) oraz § 6 rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dnia 11 maja 1999 r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych (Dz. U. Nr 47, poz. 480) uchwała się, co następuje:

§ 1

Komisja Bioetyczna Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie /obradująca i wydająca opinię zgodnie z zasadami GCP Good Clinical Practice/ w składzie według listy dołączonej do uchwały, po zapoznaniu się z dokumentacją projektu badawczego pt.:

„Wpływ czynników immunologicznych i nieimmunologicznych na czas przeżycia allogenicznego graftu“.

Główny Badacz: dr n. med. Iwona Wojciechowska-Koszko – Zakład Mikrobiologii i Immunologii PUM w Szczecinie

Członkowie zespołu badawczego:

- prof. dr hab. n. med. Stefania Giedrys-Kalemba,
- prof. dr hab. n. med. Kazimierz Ciechanowski,
- prof. dr hab. n. med. Bogusław Machaliński,
- dr n. med. Edyta Paczkowska,
- dr n. med. Bartosz Wojciuk

Recenzent badania: prof. dr hab. n. med. Marek Drożdżik

stwierdza:

1. ośrodek, w którym ma być przeprowadzone badanie spełnia wymogi dla jego przeprowadzenia,
2. kwalifikacje zawodowe i naukowe kierownika badania gwarantują właściwe przeprowadzenie badania,
3. osoby poddane badaniu zostaną szczegółowo zapoznane z celami i zasadami przeprowadzenia doświadczenia, ze spodziewanymi dla nich korzyściami leczniczymi oraz o ryzyku związanym z poddaniem się eksperymentowi,
4. zagwarantowano w badaniu obowiązek uzyskania świadomej zgody od wszystkich badanych osób lub ich przedstawicieli ustawowych, ochronę danych osobowych uczestników badania oraz możliwości odstąpienia od udziału w eksperymencie w każdym jego stadium.

W związku z powyższym Komisja Bioetyczna PUM wyraża pozytywną opinię o zaprezentowanym badaniu.

§ 2


Wydana opinia dotyczy tylko rozpatrywanego wniosku i przedstawionego projektu; każda zmiana i modyfikacja projektu badawczego wymaga uzyskania odrębnej opinii. Wnioskodawca zobowiązany jest do informowania o wszelkich poprawkach, które mogłyby mieć wpływ na opinię Komisji, o ciężkich lub niespodziewanych zdarzeniach niepożądanych i nieprzewidzianych okolicznościach, o zakończeniu badania i o jego wynikach.

§ 3

Uchwała wchodzi w życie z dniem podjęcia i obowiązuje na okres badania.

Lista dokumentów załączonych do wniosku:

- Opis projektu badawczego,
- Informacja dla uczestnika badania,
- Zgoda na udział w badaniu,
- Zgoda Kierownika prof. dr hab. Bogusława Machalińskiego na przeprowadzenie badań w Katedrze i Zakładzie Patologii Ogólnej PUM w Szczecinie,
- Zgoda Kierownika prof. dr hab. Kazimierz Ciechanowskiego na przeprowadzenie badań w Klinice Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych PUM w Szczecinie.

PRZEWODNICZĄCY
Komisji Bioetycznej
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

prof. dr hab. n. med. Marek Drożdżik



Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

Lista członków Komisji Bioetycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie uczestniczących w posiedzeniu w dniu 29 października 2012 r.

Przewodniczący:

1. prof. dr hab. Marek Drożdżik

Wiceprzewodnicząca:

2. mgr Maria Matusiak

3. prof. dr hab. Dariusz Chlubek

4. dr hab. Marek Myślak

5. dr hab. Maciej Żukowski

6. prof. dr hab. Zdzisława Kornacewicz-Jach

7. dr hab. prof. nadzw. PUM Dariusz Bielicki

8. dr hab. Andrzej Brodkiewicz

9. dr hab. Krystyna Lisiecka

10. dr hab. prof. nadzw. PUM Piotr Prowans

11. dr hab. prof. nadzw. PUM Jacek Rudnicki

12. ks. prof. Henryk Wejman

13. ks. dr hab. prof. US Wiesław Dyk

14. mgr Witold Frankiewicz

15. mgr Bernadeta Łęga

INFORMACJA DLA UCZESTNIKA BADANIA

Temat badania: „Wpływ czynników immunologicznych i nieimmunologicznych na czas przeżycia allogenicznego greftu”.

Został Pan/Pani zaproszony/zaproszona do udziału w badaniu naukowym prowadzonym w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii i Immunologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

Udział w badaniu jest całkowicie dobrowolny, a odmowa wzięcia udziału nie wpłynie w żaden sposób na leczenie Pana/Pani.

Zanim Pan/Pani zdecyduje o swoim udziale w badaniu, proszę zapoznać się z zamieszczonymi poniżej informacjami, a w razie wątpliwości i pytań skorzystać z danych kontaktowych umieszczonych poniżej.

Jaki jest cel badania?

Przeszczepy allogeniczne narządów tj. nerka, wątroba czy płuco są często jedynym sposobem leczenia chorób i dysfunkcji tych narządów. Istotnym problemem współczesnej transplantologii jest uzyskanie równowagi immunologicznej w układzie biorca – przeszczep. Brak takiej równowagi staje się przyczyną odrzucenia przeszczepu i w konsekwencji do upośledzenia jego funkcji i skrócenia okresu jego przeżycia. Aktualnie w badaniach naukowych zmierza się w kierunku poszukiwania nowych parametrów prognostycznych umożliwiających maksymalnie indywidualne postępowanie z biorcą i tym samym zapewnienie możliwie najdłuższego okresu przeżycia greftu oraz zachowanie jego optymalnej funkcji.

Odpowiedź układu immunologicznego na aloprzyszczep nerki składa się z etapu rozpoznania obcych antygenów HLA dawcy, aktywacji limfocytów Th i B biorcy oraz fazy efektorowej, która bezpośrednio jest odpowiedzialna za niszczenie komórek przeszczepionego narządu. W fazie tej aktywowane są zarówno mechanizmy odpowiedzi wrodzonej jak i nabytej, głównie reakcja cytotoksyczna przy udziale aloprzeciwcia, limfocytów Tc czy komórek NK. Pytanie, który z powyższych mechanizmów odgrywa najistotniejszą rolę w niszczeniu greftu nadal pozostaje bez jednoznacznej odpowiedzi. Obok dotychczas opisanych mechanizmów odpowiedzi nabytej komórkowej związanych z działaniem IL 2 oraz aktywnością komórek Th1, postuluje się rolę innych nowo poznanych mechanizmów, szczególnie udziału komórek Th17 oraz komórek NK, w tym przypadku efekt uzależniony jest od polimorfizmu KIR i jego interakcji z poszczególnymi antygenami HLA. Ponadto rośnie liczba doniesień sugerujących negatywny wpływ zakażeń układu moczowego na funkcję przeszczepu u biorców nerek.

Dzięki badaniom naukowym dysponujemy coraz to nowszymi markerami pozwalającymi diagnozować różnego rodzaju zaburzenia funkcji nerek. Dlatego chcielibyśmy oszacować przydatność powyżej wymienionych parametrów w monitorowaniu uszkodzenia nerek u pacjentów po przeszczepie celem umożliwienia maksymalnie indywidualnego postępowania z

biorcą i tym samym zapewnienie możliwie najdłuższego okresu przeżycia greftu oraz zachowanie jego optymalnej funkcji.

Jak będzie przebiegało badanie?

Badania przeprowadzane będą w dniu zgłoszenia się pacjenta do przeszczepu oraz podczas planowych wizyt kontrolnych w Poradni Transplantacyjnej, czyli w 6,12,24 miesiącu po przeszczepie. W dniu zgłoszenia do przeszczepu pobrane zostaną 2 próbki krwi na EDTA każda o objętości 2,7 ml, jedna próbka krwi na skrzep o objętości 7,5 ml. W okresie od 1 dnia do 3 tygodni po przeszczepie, czyli w momencie podjęcia przez greft prawidłowej funkcji, pobrana zostanie próbka moczu o objętości 10 ml. Natomiast podczas każdej wizyty kontrolnej pobrane zostaną 1 próbki krwi na EDTA o objętości 2,7 ml, jedna próbka krwi na skrzep o objętości 7,5 ml oraz próbka moczu o objętości 10 ml. Materiał ten będzie również pobierany do badań w ilościach identycznych w przypadkach nagłych, czyli w sytuacjach pogorszenia funkcji przeszczepionego narządu. Pobrany materiał, zostanie odwirowany, rozdzielony i przechowywany do czasu oznaczeń w zamrożeniu w Zakładzie Mikrobiologii. Niewykorzystane porcje pobranych próbek zostaną zarchiwizowane i przechowane przez okres 5 lat celem wykonania w razie konieczności badań powtórkowych i/lub posłużą do wykonania oznaczeń nowych parametrów diagnostycznych celem poszerzenia i zgłębienia powyższego tematu badań. Po upływie 5 lat zgromadzone próbki zostaną zniszczone. Skorzystamy także z kilku najważniejszych dla badania danych medycznych takich jak: wiek, płeć, etiologia infekcji ZUM, stosowane leki, wyniki badań rutynowych wykonywanych w czasie pobytu w Klinice, oczywiście z zachowaniem pełnej anonimowości. Za udział w badaniu nie przewiduje się żadnej odpłatności.

Z kim powinien się Pan/Pani skontaktować w celu uzyskania dodatkowej informacji?

Osoba do kontaktu:

dr n.med. Iwona Wojciechowska-Koszko

Adres:

Katedra i Zakład Mikrobiologii i Immunologii PUM
ul. Powstańców Wielkopolskich 72,
70-111 Szczecin,
tel. 91-466-16-65 (pracownia immunologiczna)

Szczecin, dn.....

Zgoda na udział w badaniu

Ja, niżej podpisany/a, (imię i nazwisko).....
wyrażam zgodę na udział w badaniu naukowym pt. **„Wpływ czynników immunologicznych i nieimmunologicznych na czas przeżycia allogenicznego graftu”**.

Uzyskałem/am wyjaśnienie dotyczące charakteru i celu badania i miałem/am możliwość zadawania pytań dotyczących badania. Otrzymałem/am kopię karty informacyjnej dla uczestników badania.

Po rozważeniu wyrażam zgodę na mój udział w badaniu. Przyjmuję do wiadomości, że mój udział w badaniach jest całkowicie dobrowolny. Wiem, że moje dane osobowe nigdy nie zostaną ujawnione, a zebrane informacje pozostaną poufne. Wyrażam jednocześnie zgodę na wykorzystanie wyników badań w publikacjach naukowych pod warunkiem, że nie pozwolą one na identyfikację mojej osoby.

.....
Podpis osoby prowadzącej badania

.....
Podpis uczestnika badania