

Received: 2014.08.22  
Accepted: 2015.01.07  
Published: 2015.01.28

## Znaczenie aneksyny V w chorobach nerek

### Importance of annexin V in kidney diseases

Anna Jakubowska, Katarzyna Kiliś-Pstrusińska

Katedra i Klinika Nefrologii Pediatrycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu

#### Streszczenie

Aneksyna V (An V) jest białkiem należącym do rodziny białek cytoplazmatycznych wiążących wapń, znajdującym się w wielu tkankach organizmu, m.in. w komórkach kanalików dystalnych oraz nabłonka kłębuszków nerkowych. Dotychczas poznana biologiczna rola tego białka jest związana z apoptozą. An V jest uznawana za wczesny marker tego procesu i wykorzystywana w jednej z częściej stosowanych technik detekcji apoptozy, przez wykrywanie zmian biochemicznych i morfologicznych zachodzących w komórkach. Oznaczanie jej może być pomocne do wyjaśnienia wielu procesów zachodzących w nerkach. Jej zwiększone stężenie wykazano zarówno w stanach ostrych, jak i przewlekłych. Stosując aneksynę V do identyfikacji komórek będących we wczesnej fazie apoptozy w ostrym odmiedniczkowym zapaleniu nerek o etiologii *Escherichia coli* wykazano, że hemolizyny patogennych bakterii stymulują śmierć komórek cewkowych, a nasilenie tego procesu zależy od dawki i czasu działania toksyny. W badaniach nad mechanizmem urazu reperfuzyjnego w ostrym uszkodzeniu nerek stwierdzono ochronne działanie syntetycznego homodimeru aneksyny V na komórki cewek nerkowych. W nefropatii cukrzycowej wykorzystano natomiast aneksynę V do badań nad wpływem zaburzeń metabolicznych na nasilenie apoptozy w komórkach cewek nerkowych. Ponadto oceniano przydatność oznaczania tego białka, jako biochemicznego markera miażdżycy u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek oraz wykorzystano w badaniach przyczyn upośledzonej odporności u pacjentów z tym rozpoznaniem. Dotychczas ukazały się nieliczne prace dotyczące znaczenia aneksyny V w chorobach nerek w populacji dziecięcej. U dzieci z zespołem nercycowym oceniono przydatność progностyczną aneksyny V, a także apoptozę limfocytów T.

**Słowa kluczowe:** aneksyna V • choroby nerek • apoptoza

#### Summary

Annexin V (AnV) belongs to a cytoplasmic calcium binding protein family found in many body tissues, including distal tubule cells and glomerular epithelial cells. The biological role of this protein discovered so far is connected with apoptosis. AnV is considered as an early marker of that process and is used in one of the most frequently applied apoptosis detection methods, consisting in the detection of biochemical and morphological changes in cells. Measuring the AnV level may help understand many renal processes. Elevated AnV levels have been found in both acute and chronic renal conditions. Applying AnV to identify cells in the early phase of apoptosis in acute pyelonephritis caused by *Escherichia coli* showed that hemolysins of pathogenic bacteria stimulate the death of tubular cells and that the intensification of the process depends on the level of the toxin and its activity time. Studies on the mechanisms of reperfusion injury in acute renal injury have revealed protective activity of a synthetic AnV homodimer with regard to tubular cells. AnV was also used in diabetic nephropathy to study the influence of metabolic disorders on the intensification of apoptosis in renal tubular cells. Additionally, the suitability of AnV measurement as a biochemical marker of atherosclerosis in patients with a chronic renal condition was evaluated. It was also used to study the causes

<b>Keywords:</b>	of immunodeficiency in patients diagnosed with the above-mentioned condition. There have been few papers published so far on the significance of AnV in children with renal conditions. The prognostic value of AnV and T cell apoptosis was evaluated in children with nephrotic syndrome.
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1138198">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1138198</a>
<b>Word count:</b>	1988
<b>Tables:</b>	–
<b>Figures:</b>	–
<b>References:</b>	18

**Adres autorki:** Anna Jakubowska, Katedra i Klinika Nefrologii Pediatricznej we Wrocławiu, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław; e-mail: an.jakubow@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **AnV** – aneksyna V (AnV – annexin V), **PChN** – przewlekła choroba nerek (CKD - chronic kidney disease), **ZN** - zespół nerczycowy (nephrotic syndrome).

Aneksyna V, należąca do rodziny białek cytoplazmatycznych wiążących wapń, występuje w wielu tkankach organizmu. Jej obecność wykazano m.in w komórkach kanalików dystalnych oraz nabłonka kłębuszków nerkowych [5]. Dotychczas poznana jej biologiczna rola jest związana z apoptozą. Apoptoza będąca zaprogramowaną śmiercią komórki, umożliwia usunięcie z organizmu szkodliwych, zbytecznych lub uszkodzonych komórek. Warunkuje prawidłowy rozwój i funkcjonowanie organizmu, jednak jej nasilenie obserwuje się w wielu procesach patologicznych. Oznaczanie AnV, uznawanej za wczesny marker apoptozy, może być pomocne do wyjaśnienia wielu procesów zachodzących w nerkach.

Celem pracy jest przedstawienie dotychczasowych badań dotyczących zastosowania oznaczania aneksyny V w różnych schorzeniach nerek.

## BUDOWA I FUNKCJA ANEKSYNY V

Aneksyny to rodzina białek cytoplazmatycznych wiążących wapń, charakteryzujących się zdolnością interakcji z błoną o ładunku ujemnym  $Ca^{2+}$ -zależnie. Ich nazwa pochodzi od greckiego słowa *annex* oznaczającego „przynosić/trzymać razem” i opisuje podstawową właściwość aneksyn, tzn. wiązanie i utrzymywanie razem w całości biologicznych struktur, a zwłaszcza błony komórkowej. Aneksyny biorą udział w przekazywaniu sygnałów, proliferacji komórki oraz regulacji transportu komórkowego. Typowe cechy każdego białka tej grupy to zdolność do wiązania ujemnie naładowanych fosfolipidów  $Ca^{2+}$ -zależnie oraz stały element strukturalny, zbudowany z sekwencji 70 aminokwasów [5,7].

Aneksyny są szeroko rozpowszechnione zarówno w królestwie roślin, jak i zwierząt. U ludzi zidentyfikowano 12 rodzajów tego białka, oznaczonych A1 – A11 i A13.

Cząsteczka aneksyny strukturalnie składa się z dwóch części: z COOH-końcowego rdzenia i NH2-końcowego regionu zmiennego. Rdzeń jest zbudowany z powtórzeń sekwencji homologicznych aminokwasów i zawiera miejsca wiązania jonów  $Ca^{2+}$  i fosfolipidów błony komórkowej. NH2-końcowy region jest obszarem determinującym oddziaływanie z innymi białkami. Wykazano, że aneksyny tworzą zwarte cząsteczki o kształcie dysku z nieznacznym wgłębieniem w środku [5,9].

Aneksyna V (AnV) jest białkiem o masie cząsteczkowej 32–35 kDa i punkcie izoelektrycznym 4,8–5,0. Bierze udział w przekazywaniu sygnałów i proliferacji komórki, regulacji transportu pęcherzykowego, w oddziaływaniu z błoną komórkową oraz w homeostazie wapnia. AnV ma silne właściwości antykoagulacyjne, jest inhibitorem fosfolipazy A2 oraz białkowej kinazy C. Jej obecność wykazano w komórkach śródbłonna i mięśni gładkich naczyń krwionośnych, w płytkach krwi, limfocytach, makrofagach i na powierzchni erytrocytów. Występuje ponadto w dużych ilościach w komórkach kanalików dystalnych oraz nabłonka kłębuszków nerkowych [8]. Dotychczas poznana biologiczna rola tego białka jest związana z apoptozą [7,9].

## ANEKSINA V A APOPTOZA

Aneksyna V jest wykorzystywana w jednej z częściej stosowanych technik detekcji apoptozy przez wykrywanie zmian biochemicznych i morfologicznych zachodzących w komórkach. Wczesnym objawem apoptozy jest utrata asymetrii w rozmieszczeniu lipidów błonowych w warstwie zewnętrznej i wewnętrznej, zachodząca bez naruszenia integralności błony komórkowej. Fosfatydylloseryna obecna w zdrowych komórkach od strony cytoplazmatycznej błony ulega przemieszczeniu do warstwy

zewewnętrznej, co stanowi sygnał pozwalający na rozprowadzenie komórki apoptotycznej i sprawne jej usunięcie przez fagocyty. Aneksyna V wykazuje duże powinowactwo do fosfatydyloseryny, stąd oznaczanie jej umożliwia wykrycie zmian charakterystycznych dla apoptozy [7].

Oznaczanie AnV może być pomocne do wyjaśnienia wielu procesów odbywających się w nerkach. Zachodząca w tym narządzie apoptoza jest procesem będącym elementem ich fizjologicznego rozwoju lub następstwem uszkodzeń.

## ANEKSINA V W CHOROBY NEREK

Zjawisko zaprogramowanej śmierci komórek badano m.in. w nefropatii cukrzycowej [17]. Zaburzenia metaboliczne w cukrzycy mają wpływ na rozwój patologicznych zmian w nerkach, tj.: ostrej hipertrofii komórek cewek nerkowych, przewlekłej nefropatii kłębuszkowej oraz śródmiąższowego włóknienia [13]. Ortiz i wsp. zasugerowali, że metaboliczne zmiany w cukrzycy wpływają na ekspresję genów regulatorowych apoptozy, indukując śmierć komórek nabłonka cewek nerkowych [14]. Bamri-Ezzine i wsp. ocenili proces apoptozy w nerczycy glikogenowej w przebiegu cukrzycy oraz udział w nim systemu Fas/Fas-L i aktywacji kaskady kaspaz. Badanie przeprowadzono na szczurach, u których wywołano stan hiperglikemii, podając dootrzewnowo streptozotocynę, a następnie pozostawiono przez 12 tygodni bez leczenia insuliną. Do identyfikacji populacji komórek apoptotycznych zastosowano aneksynę V oraz TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick-end labeling). Po podaniu AnV do tętnicy nerkowej pobrano tkanki narządu i poddano je ocenie w mikroskopie świetlnym i elektronowym, a także wykonano badania immunohistochemiczne oraz immunofluorescencyjne. Wykazano dużą liczbę komórek o mocnym sygnale błonowym dla AnV, jako wczesnego markera apoptozy. Autorzy stwierdzili, że glikogen kumuluje się przede wszystkim w komórkach cewek nerkowych dystalnych oraz w części grubej wstępującej pętli nefronu i wysunęli wnioski, że kumulacja glikogenu powoduje śmierć komórek cewek nerkowych w wyniku apoptozy, a system Fas/Fas-L odgrywa decydującą rolę w zainicjowaniu tego procesu [1].

Oznaczanie AnV zastosowano także w badaniach nad udziałem uropatogennej bakterii *Escherichia coli* i jej toksyn w rozwoju apoptozy komórek proksymalnych cewek nerkowych [2]. Wiadomo, że w przebiegu ostrego odmiedniczkowego zapalenia nerek może dochodzić do powstania nieodwracalnych zmian o charakterze blizn w nerkach, ale molekularne mechanizmy oddziaływania bakterii na tkankę nerkową pozostają niewyjaśnione. W badaniach eksperymentalnych Chen i wsp. poddali komórki cewek proksymalnych ekspozycji na toksynę uropatogennej *E. coli* O6K13H1 oraz niepatogennej W3110W [2]. Stosując aneksynę V do identyfikacji komórek będących we wczesnej fazie apoptozy stwierdzili, że tylko hemolizyny patogennych bakterii stymu-

lują śmierć komórek cewkowych niezależnie od kaspaz, a z udziałem receptorów Fas aktywujących kinazę ERK1/2. Autorzy wykazali również zależność nasilenia procesu apoptozy od dawki i czasu działania toksyny [2]. Zdaniem badaczy toksyny bakteryjne prowadzą do zaburzeń wewnątrzkomórkowej homeostazy wapnia w cewkach proksymalnych, co wywołuje indukcję apoptozy w ich komórkach, a w konsekwencji bliznowacenie tkanki nerkowej.

AnV była również wykorzystana w badaniach przyczyn upośledzonej odporności u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek (PChN). Główną rolę w zaburzeniach odporności pełnią limfocyty T. Ich obniżoną liczbę oraz nieprawidłową proliferację wykazano u chorych z PChN, zarówno w okresie przeddializacyjnym, jak i u przewlekle dializowanych. Sugeruje się, że u tych pacjentów obwodowe komórki jednojądrzaste oraz monocyty mogą podlegać nasilonemu procesowi apoptozy [3]. Meier i wsp. podjęli próbę wyjaśnienia, w jakim stopniu zaburzenie to dotyczy limfocytów T u chorych na PChN. U ośmiu pacjentów z PChN w stadium przeddializacyjnym, osiemnastu dializowanych przynajmniej przez 6 miesięcy oraz u siedemnastu osób zdrowych stanowiących grupę kontrolną, oznaczono markery aktywacji limfocytów T (CD69) i apoptozy, m.in. aneksynę V. Wykazano, że u chorych na PChN jest znacząco więcej komórek o sygnale pozytywnym dla AnV, a więc znajdujących się w wczesnej fazie apoptozy. Ponadto stwierdzono, że jest to bardziej nasilone u pacjentów przewlekle dializowanych niż u leczonych zachowawczo [12].

Rola aneksyny V była także oceniana w ostrym uszkodzeniu nerek wywołanym ich niedokrwieniem oraz w urazie reperfuzyjnym. Zaburzenia te mogą być powikłaniem wstrząsu, przeszczepu nerki oraz operacji kardiologicznych. Największe znaczenie w patogenezie uszkodzenia nerek przypisuje się fazie reperfuzji, w przebiegu której dochodzi do martwicy cewek nerkowych oraz do powstania śródmiąższowych nacieków zapalnych. Wiadomo, że translokacja fosfatydyloseryny na zewnętrzną powierzchnię komórek cewkowych jest ważnym sygnałem prozapalnym w kaskadzie zdarzeń prowadzących do uszkodzenia nerek. Dochodzi wówczas do aktywacji limfocytów (szczególnie limfocytów T), układu komplementu, zwiększenia aktywności prozapalnej oraz infiltracji przez monocyty i makrofagi. Wever i wsp. wysunęli hipotezę, że osłonięcie grup fosfatydyloseryny może chronić komórki cewek nerkowych przed uszkodzeniem [16]. Wykorzystano powinowactwo aneksyny V do tych grup, jednak ze względu na szybki klirens tego białka, zastosowano w badaniu syntetyczny homodimer dianeksynę. Jego ochronne działanie oceniono u myszy, u których wywołano 20-minutowe niedokrwienie obu nerek, a następnie 3–8-dniowe zjawisko reperfuzji. Po podaniu dianeksyny zaobserwowano mniejsze uszkodzenie komórek proksymalnych cewek nerkowych, mniejszy napływ limfocytów, zmniejszenie transkrypcji i ekspresji markerów uszkodzenia nerek, takich jak NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipo-

calin) i KIM-1 (kidney injury molecule-1) oraz poprawę funkcji nerek. Dianeksyna wydaje się zatem obiecującym narzędziem terapeutycznym, chroniącym przed skutkami niedokrwienia i reperfuzji nerek, ale wymaga to jednak dalszych obserwacji i badań klinicznych.

Kaneko i wsp. ocenili stężenie aneksyny V we krwi chorych na różne schorzenia, w tym u 130 pacjentów z chorobami nerek, płuc i wątroby oraz u 23 z zawałem mięśnia sercowego rozpoznanym w ciągu 6 godzin od pojawienia się bólu w klatce piersiowej. Wyniki oznaczeń porównano z badaniami wykonanymi u 196 zdrowych osób, stanowiących grupę kontrolną. Wykazano, że stężenie aneksyny V w osoczu gwałtownie rośnie u 91,3% badanych już we wczesnym stadium zawału serca, nawet jeśli aktywność kinazy kreatynowej pozostaje jeszcze w normie. Mogłoby to oznaczać, że aneksyna V jest dobrym markerem diagnostycznym zawału serca. Stwierdzono jednak, że w przypadku przebytych w przeszłości ostrych zespołów wieńcowych, w chorobach nerek oraz płuc stężenie aneksyny V w osoczu oscyluje w granicach normy, a u pacjentów po urazach i z rozpoznanymi chorobami wątroby jest tylko nieznacznie wyższe od tych w grupie kontrolnej [6].

Mastuda i wsp. badali umiejscowienie aneksyny V w nerkach szczurów, u których wywołano kłębuszkowe zapalenie nerek. Oznaczono ponadto stężenie tego białka w osoczu i moczu zwierząt, stosując metody immunoenzymatyczne. Obecność aneksyny V wykazano przede wszystkim w cewkach dystalnych, ale również w kłębuszkach i w śródbłonku naczyń wewnątrznerkowych. Po podaniu antygeny nefrytogennej nie zaobserwowano zmian stężenia aneksyny V w osoczu, natomiast wykazano szybki jego wzrost w moczu korelujący ze wzrostem stężenia dehydrogenazy mleczanowej (lactate aldehydogenase – LDH) i N-acetylo-beta-D-glukozaminidazy (N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase –NAG) [11].

Inne badania przeprowadzone przez tych autorów dotyczyły stężeń aneksyny V w moczu pacjentów z różnymi schorzeniami nerek. Stężenie AnV oznaczano metodą ELISA w moczu 25 chorych z zespołem nerczycowym (ZN), 16 z nefropatią toczniową, 25 z nefropatią IgA, 18 z PChN oraz u 105 osób bez nieprawidłowości w badaniu fizykalnym, badaniach biochemicznych krwi i moczu oraz bez hematurii i białkomoczu w wywiadzie. U chorych z pierwszych dwóch grup stwierdzono znacząco wyższe stężenie aneksyny V w moczu w porównaniu do grupy kontrolnej, najwyższe u pacjentów z zespołem nerczycowym. Korelowało ono dodatnio z białkomoczem, natomiast nie stwierdzono związku ze stężeniem w surowicy mocznika i kreatyniny oraz z klirensiem kreatyniny endogennej. Na podstawie przedstawionych badań autorzy wysunęli wniosek, że wzrost stężenia aneksyny V w moczu jest wynikiem uwalniania jej z uszkodzonych struktur nerek, zarówno cewek dystalnych, jak i kłębuszków nerkowych. Brak wzrostu stężenia aneksyny V w moczu chorych na PChN wskazuje – zdaniem badaczy – na przydatność oznaczania tego białka jako wskaźnika ostrego uszkodzenia nerek [10].

Inni autorzy badali przydatność oznaczania AnV jako biochemicznego markera miażdżycy u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek. U 46 chorych z PChN bez objawów klinicznych miażdżycy oznaczono w krwi stężenie aneksyny V, lipidogram oraz zmierzono grubość kompleksu intima-media tętnicy szyjnej. Stwierdzono, że obniżeniu przesączania kłębuszkowego towarzyszy wzrost stężenia aneksyny V we krwi, co koreluje z zaburzeniami lipidogramu. Zdaniem badaczy wzrost stężenia tego białka u chorych z przewlekłą chorobą nerek może wskazywać na dysfunkcję śródbłonka naczyń i być wskaźnikiem prognostycznym rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych w chorobach nerek [4].

Simsek i wsp. badali przydatność oznaczania aneksyny V jako markera prognostycznego u dzieci z zespołem nerczycowym. Do badania zakwalifikowano 23 dzieci ze steroidowrażliwym zespołem nerczycowym, 22 dzieci ze steroidoopornym zespołem nerczycowym oraz 22 zdrowych (grupa kontrolna). U badanych oznaczono we krwi stężenie aneksyny V, mocznika, kreatyniny, białka całkowitego, albumin i cholesterolu oraz w 24-godzinnej zbiorce moczu stężenie AnV, białka i kreatyniny. Stwierdzono istotnie wyższe stężenie aneksyny V w moczu pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym w porównaniu do pozostałych grup dzieci. Nie wykazano istotnej różnicy między stężeniami tego białka w moczu chorych ze steroidowrażliwym zespołem nerczycowym a grupą kontrolną, zarówno w czasie rzutu, jak i remisji choroby. Stwierdzono, że stężenie aneksyny V w dobowej zbiorce moczu nie koreluje z jej stężeniem we krwi ani z białkomoczem we wszystkich badanych grupach. Według badaczy zwiększone stężenie AnV w moczu pacjentów ze steroidoopornym zespołem nerczycowym może być skutkiem nasilonej apoptozy w tkance nerkowej w następstwie choroby i stanowić wskaźnik dalszego przebiegu ZN [15].

Zachwieja i wsp. zastosowali AnV w badaniu procesu apoptozy limfocytów T u dzieci z ZN. Wykazali, że liczba komórek limfocytów T we wczesnej fazie apoptozy była znacząco większa w grupie dzieci z pierwszym rzutem zespołu nerczycowego w porównaniu z grupą dzieci znajdujących się w remisji i osobami z grupy kontrolnej [18]. Wyniki te wskazują, że zmniejszenie się liczby i zaburzenie funkcji limfocytów T u dzieci z zespołem nerczycowym w czasie rzutu wynika z nasilenia apoptozy tych komórek.

## PODSUMOWANIE

Aneksyna V jest białkiem występującym w dużych ilościach w komórkach kanalika dystalnego oraz nabłonka kłębuszków nerkowych. Dzięki dużemu powinowactwu do fosfatydyloseryny, oznaczanie jej umożliwia wykrycie wczesnych zmian charakterystycznych dla apoptozy. Oznaczając stężenie aneksyny V w krwi lub moczu wykazano znamiennej udział apoptozy w wielu stanach patologicznych nerek. Jej zwiększone stężenie wykazano zarówno w stanach

ostrych, takich jak ostre odmiedniczkowe zapalenie nerek, ostre uszkodzenie nerek, jak i przewlekłych np. nefropatia cukrzycowa. Być może dalsze badania umożliwią, że w przyszłości białko to będzie mogło

być wykorzystywane jako narzędzie diagnostyczne, dzięki czemu możliwe będzie wykrycie zmian na wczesnym etapie rozwoju, a więc odpowiednio wcześnie wdrożenie terapii.

## PISMIENNICTWO

- [1] Bamri-Ezzine S., Ao Z.J., Londoño I., Gingras D., Bendayan M.: Apoptosis of tubular epithelial cells in glycogen nephrosis during diabetes. *Lab. Invest.*, 2003; 83: 1069-1080
- [2] Chen M., Jahnukainen T., Bao W., Daré E., Ceccatelli S., Celsi G.: Uropathogenic *Escherichia coli* toxins induce caspase-independent apoptosis in renal proximal tubular cells via ERK signaling. *Am. J. Nephrol.*, 2003; 23: 140-151
- [3] Cohen G., Hörl W.H.: Immune dysfunction in uremia – an update. *Toxins*, 2012; 4: 962-990
- [4] Emanuel V.L., Mnuskina M.M., Smirnov A.V., Panina I.I., Rumiantsev A.S., Vasina E.I., Vasina L.B.: Annexin-5 as a biochemical marker of early vascular disorders under chronic disease of kidneys. *Klin. Lab. Diagn.*, 2013; 4: 9-10
- [5] Gerke V., Moss S.E.: Annexins: from structure to function. *Physiol. Rev.*, 2002; 82: 331-371
- [6] Kaneko N., Matsuda R., Hosoda S., Kajita T., Ohta Y.: Measurement of plasma annexin V by ELISA in the early detection of acute myocardial infarction. *Clin. Chim. Acta*, 1996; 251: 65-80
- [7] Lizarbe M.A., Barrasa J.I., Olmo N., Gavilanes F.: Annexin-phospholipid interactions. Functional implications. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013; 14: 2652-2683
- [8] Marchewka Z.: Low molecular weight biomarkers in the nephrotoxicity. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15: 1129-1138
- [9] Markoff A., Gerke V.: Expression and functions of annexins in the kidney. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2005; 289: 949-956
- [10] Matsuda R., Kaneko N., Horikawa Y., Chiwaki F., Shinozaki M., Abe S., Yumura W., Nihei H., Ieiri T.: Measurement of urinary annexin V by ELISA and its significance as a new urinary-marker of kidney disease. *Clin. Chim. Acta*, 2000; 298: 29-43
- [11] Matsuda R., Kaneko N., Horikawa Y., Chiwaki F., Shinozaki M., Ieiri T., Suzuki T., Ogawa N.: Localization of annexin V in rat normal kidney and experimental glomerulonephritis. *Res. Exp. Med.*, 2001; 200: 77-92
- [12] Meier P., Dayer E., Blanc E., Wauters J.P.: Early T cell activation correlates with expression of apoptosis markers in patients with end-stage renal disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002; 13: 204-212
- [13] Nyengaard J.R., Flyvbjerg A., Rasch R.: The impact of renal growth, regression and regrowth in experimental diabetes mellitus on number and size of proximal and distal tubular cells in the rat kidney. *Diabetologia*, 1993; 36: 1126-1131
- [14] Ortiz A., Ziyadeh F.Z., Neilson E.G.: Expression of apoptosis-regulatory genes in renal proximal tubular epithelial cells exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *J. Invest. Med.*, 1997; 45: 50-56
- [15] Simsek B., Buyukcelik M., Soran M., Bayazit A.K., Noyan A., Seydaoglu G., Anarat A.: Urinary annexin V in children with nephrotic syndrome: a new prognostic marker? *Pediatr. Nephrol.*, 2008; 23: 79-82
- [16] Wever K.A., Wagener F.A., Frielink C., Boerman O.C., Scheffer G.J., Allison A., Masereeuw R., Rongen G.A.: Diannexin protects against renal ischemia reperfusion injury and targets phosphatidylserines in ischemic tissue. *PLoS One*, 2011; 6: e24276
- [17] Woo D.: Apoptosis and loss of renal tissue in polycystic kidney diseases. *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 18-25
- [18] Zachwieja J., Dworacki G., Bobkowski W., Dobrowolska-Zachwieja A., Zaniew M., Maciejewski J.: Increased apoptosis of peripheral blood lymphocytes in children with nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.*, 2002; 17: 197-200

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.