

Lipokalina związana z żelatynazą neutrofilów (NGAL) jako nowy biomarker w ocenie zaburzeń osi sercowo-naczyniowo-nerkowej

Karolina Wrześniewska, Jacek Madany

z Katedry i Kliniki Chorób Wewnętrznych Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie

Praca serca połączona jest nierozdzielnie z pracą nerek ze względu na ich rolę w utrzymaniu równowagi płynów, perfuzji tkanek i ciśnienia krwi. Pogorszenie funkcji jednego z narządów w wyniku przyczyn ostrych lub przewlekłych skutkuje pogorszeniem funkcji drugiego. Taką współzależność określono w medycynie ludzi w 2008 r. mianem zespołu sercowo-nerkowego (CRS – cardio-renal syndrome). Rosnące zainteresowanie wspomnianą wyżej korelacją doprowadziło do opisu i klasyfikacji CRS w medycynie ludzi (1).

W weterynarii, w odniesieniu do psów i kotów, grupa specjalistów w 2015 r. wprowadziła pojęcie „zaburzenia osi sercowo-naczyniowo-nerkowej” (CvRD – cardiovascular – renal axis disorders), i zaproponowała wyodrębnienie trzech jej podtypów, w zależności od pierwotnego czynnika sprawczego. Wyróżnione trzy podtypy to: CvRD_H, CvRD_K i CvRD_O.

Pierwszy z typów, CvRD_H, określa chorobę/dysfunkcję nerek wynikającą z pierwotnej choroby serca. Drugi typ, CvRD_K, to sytuacja, gdy choroba/dysfunkcja układu serca jest wtórna do pierwotnej choroby nerek. Podtyp CvRD_O określa współistniejące upośledzenie obydwu narządów powodowane przez „inne” procesy chorobowe, takie jak np. stan zapalny, leki lub toksyny, które wpływają destrukcyjnie na obydwa narządy i układy. Trzy wskazane podtypy CvRD mogą występować jako choroba stabilna (S) lub niestabilna (U) – na podstawie obrazu klinicznego pacjenta (2).

Rozpoznanie zespołu sercowo-nerkowego jest trudne, ponieważ samo współistnienie chorób serca i nerek nie jest wystarczającym dowodem na jego istnienie. Zainteresowanie CvRD w weterynarii jest

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), as a new biomarker of cardiovascular-renal axis disorders

Wrześniewska K., Madany J., Department and Clinic of Animal Internal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

The pathophysiological interactions between the heart and kidneys are well known as cardiovascular-renal axis disorders (CvRD). Three subtypes have been distinguished, namely: CvRD_H, CvRD_K and CvRD_O, depending on the primary causative agent. Dogs and cats with CvRD have a high hospitalization and mortality rates, so early disease identification is of a great importance. Biomarkers have both diagnostic and prognostic significance in heart and/or kidney failures. One of the newly used is NGAL – an indicator of early kidney damage. It may be used as a diagnostic tool for CvRD of cardiac or renal origin and even in the assessment of disorder prognosis and therapy. Further research for establishing new biomarkers of heart and kidney damage is necessary from clinical point of view.

Keywords: biomarkers, cardiovascular-renal axis disorders, neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL).

zjawiskiem stosunkowo nowym, dlatego też nie jest w pełni opisane i zrozumiane (2, 3, 4, 5).

Biomarkery

Uszkodzenie nerek, w tym i na tle przewlekłej niewydolności serca (CHF), występuje jako AKI (ang. acute kidney injury, pol.: ostre uszkodzenie nerek) lub CKD (ang. chronic kidney disease, pol.: przewlekła choroba nerek). W praktyce klinicznej rozpoznanie jednego i drugiego typu uszkodzenia nerek dokumentuje

się za pomocą zestawu wskaźników: w moczu – jego ciężaru właściwego i zawartości białka, w surowicy – stężenia mocznika, kreatyniny i SDMA, które mogą odzwierciedlać stany przejściowe, jak i utrwalone. Nie są to jednak wskaźniki czułe i specyficzne. Zmiany w moczu mogą zależeć od wielu czynników pozanerkowych i metabolicznych, podobnie jak i wskaźniki surowicze. Stężenie mocznika i kreatyniny zależy m.in. od wieku, diety, masy mięśniowej, stopnia uwodnienia tkanek i czynności wątroby. Najmłodszy ze wskaźników, SDMA, także budzi nadzieje, i został już włączony do standardowej diagnostyki, choć dyskusje na temat skuteczności jego oznaczania wciąż trwają (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12).

Oslabienie funkcji nerek, głównie filtracyjnej, może być zatem ujawnione w rutynowych badaniach laboratoryjnych, ale zmiany te są identyfikowane stosunkowo późno, równoległe towarzysząc objawom klinicznym. Wczesna, inicjacyjna faza chorób nerek ciągle jednak pozostaje laboratoryjnie utajona.

Zacząto więc poszukiwać takich związków – biomarkerów, które lokalizują się w nabłonku funkcjonalnym kłębuszków i kanalików nerkowych i reagują na różne zakłócenia normalnych funkcji komórkowych, w tym i na skutek wcześniejszych chorób serca. Wymaga się zatem, by miały one potencjał do reagowania i sygnalizowania wczesnego i specyficznego uszkodzenia nerek również w chorobach serca. Aktywny biomarker nerkowy winien też ujawniać trwające lub postępujące uszkodzenia przed zastosowaniem konwencjonalnych metod diagnostycznych. Mierzenie stężenia kreatyniny i/lub SDMA to aktualne standardy identyfikujące uszkodzenie nerek w chorobach serca, ale zmiany tych parametrów mogą rozwijać się stosunkowo wolno i odzwierciedlać uszkodzenie już po znacznym upośledzeniu funkcji nerek. Nowe biomarkery nerkowe winny więc przewidywać „czynne” uszkodzenie nerek, w tym wywołane przez serce, w zdecydowanie szybszy sposób.

Wiele związków-kandydatów oceniano w medycynie ludzi (14, 15, 16) i wiele wskaźników jest badanych u zwierząt (10, 17, 18). Wśród nich są obiecujące związki, m.in. takie jak: interleukina 18, białko typu wątrobowego wiążące kwasy tłuszczowe L-FABP, alfa-1 mikroglobulina, N-acetylo-beta-D-glukozaminidaza (NAG), białko wiążące retinol, uromodulina, cystatyna C, cząsteczka-1 uszkodzenia nerek (KIM-1), interleukinę 13, białko morfogenetyczne kości 7, kolagen alfa 2, wskaźnik podocytów/kreatyniny w moczu i wskaźnik oporu nerkowego, a także lipokalina związana z żelatyną neutrofilii (NGAL; 19, 20, 21). Wyniki tych badań są obiecujące i wskazują na nowe możliwości diagnostyczne w przebiegu CvRD.

Lipokalina związana z żelatyną neutrofilii (NGAL)

Lipokalina związana z żelatyną neutrofilii (NGAL), zwana również syderokaliną, jest białkiem sekrecyjnym, o masie cząsteczkowej ok. 25 kDa, znajdującym się w ziarnistościach granulocytów obojętnochłonnych, w komórkach śródbłonka oraz w różnych narządach układów, m.in.: oddechowego, pokarmowego, wydalniczego i rozrodczego. Należy do rodziny

lipokalin, grupy ponad 20 drobnocząsteczkowych białek, głównie mających funkcje transportowe. Zaangażowana w procesy zapalne w komórkach, uważana jest za jeden z najbardziej miarodajnych wczesnych wskaźników dysfunkcji nerek. W nerkach NGAL ulega swobodnej filtracji kłębuszkowej oraz resorpcji w kanalikach bliższych. Zatem wzrost stężenia NGAL w moczu może być konsekwencją uszkodzenia kanalików bliższych, zmniejszenia filtracji kłębuszkowej lub też uszkodzenia dalszej części nefronu – kanalików dalszych. Wzrost NGAL w moczu jest więc głównie wynikiem wzmoczenia nerkowej syntezy tego białka, ale, co istotne, zmiany te nie wpływają na osoczowe jej stężenie. Stężenie NGAL w osoczu zależne jest głównie od ilości uwalnianej w tkankach (13, 22, 23, 24).

NGAL jako biomarker oceny zaburzeń CvRD

Wiele prac wskazuje, że NGAL jest dobrym biomarkerem uszkodzenia nerek u ludzi, ze względu na fakt, że wzrost stężenia tego białka, zarówno w moczu, jak i w osoczu, obserwuje się już po dwóch godzinach od zadziałania czynników uszkadzających nerki i prowadzących do AKI, co znacznie wyprzedza występujące później podwyższenie stężenia kreatyniny (13). W jednym z badań wykazano, że podczas AKI zwiększa się ekspresja genów kodujących NGAL i białko to jest jednym z syntetyzowanych w największych ilościach, i jest dodatnio skorelowane z nasileniem AKI (22). Uważa się, że – obok udziału w diagnostyce AKI – NGAL może być również dobrym biomarkerem wykorzystywanym w diagnostyce CKD. Wykazano u ludzi, że stężenie NGAL i w moczu, i w osoczu ujemnie koreluje z wartością GFR oraz jest niezależnym od innych wskaźników czynnikiem predykcyjnym postępu choroby (25, 26). Obrazową wersję wyjaśniającą zależność między wzrostem NGAL i zmniejszeniem GFR podczas CKD podali Mori i Nakao. Według nich dochodzi do „pożaru lasu”, gdzie „las” to nerka, a „drzewa” to nefrony. Uważają oni, że wzrost NGAL nie wynika tylko ze zmniejszenia GFR, ale z faktu istniejącego „pożaru”, czyli utrzymującego się ciągle stanu uszkodzenia kolejnych nefronów, co skutkuje zwiększeniem komórkowej syntezy NGAL i podwyższaniem jej surowiczej wartości. Zatem nefrony nawet już od wczesnej fazy „pożaru” są w stanie stymulować produkcję NGAL (27). W związku z powyższymi danymi przyjmuje się, że NGAL jest biomarkerem odzwierciedlającym aktywne uszkodzenie nerek „w czasie rzeczywistym” i oznaczanie tego białka pozwala na ocenę dynamiki przewlekłego uszkodzenia nerek.

W weterynarii badania nad oznaczaniem NGAL dla oceny funkcji nerek prowadzi się od kilku lat. Kim i wsp. pokazują diagnostyczną wartość oznaczania tego biomarkera w moczu podczas chorób nerek (28), podobnie jak Palm i wsp. (29) oraz Zheng i wsp. podczas indukowanego AKI (30). Steinbach i wsp. podają dużo wyższe wartości NGAL u psów w przebiegu AKI i CKD, wskazując przydatność oznaczania surowiczego stężenia NGAL przy rozpoznawaniu AKI i CKD (31).

Jedna z ostatnich prac przynosi dane o wynikach surowiczego oznaczania NGAL w grupie psów

z HF i grupie z CRS. Jung i wsp. wskazują na wysoką, 91% czułość i 90% specyficzność oznaczenia surowiczego stężenia NGAL dla rozwoju CvRD (5). W opinii większości autorów wydaje się więc, że NGAL jest dobrym i wczesnym markerem wskazującym na uszkodzenie kanalików nerkowych w przebiegu CvRD, niezależnie czy jest ono sercowego, czy nerkowego pochodzenia. Dodatkowym atutem jest łatwa dostępność do materiału badawczego, moczu i krwi, mogącego być zebrany podczas każdej wizyty gabinetowej i badania klinicznego.

Podsumowanie i perspektywy

Obecnie NGAL jest jednym z obiecujących biomarkerów mogących pomagać w ustalaniu wczesnego etapu uszkodzenia nerek u psów, zarówno podczas AKI, jak i CKD. Zgodnie z informacjami większości doniesień, z badań u ludzi i zwierząt, warto go wykorzystywać w praktyce klinicznej. Biomarkery są nie tylko prognostyczne w przypadku niewydolności serca lub chorób nerek, ale są także przydatne w rozpoznawaniu dysfunkcji układu sercowo-naczyniowego wtórnie do pierwotnej choroby nerek i dysfunkcji nerek wynikającej z pierwotnej choroby układu sercowo-naczyniowego. Mogą zatem znaleźć zastosowanie w rozpoznawaniu pacjentów z CvRD, a nawet ocenie rokowania i prowadzeniu terapii u tych pacjentów.

W przyszłości potrzebne są dalsze badania w celu oceny obecnych biomarkerów i znalezienia nowych biomarkerów w każdym typie CvRD: CvRD_H, CvRD_K i CvRD_O.

Chociaż nowe, innowacyjne metody badawcze, w tym genomika, proteomika i metabolomika, są wciąż w fazie rozwoju, mają one znaczny potencjał do badania biomarkerów w przebiegu CvRD (23, 32).

Piśmiennictwo

1. Ronco C., Haapio M., House A.A., Anavekar N., Bellomo R.: Cardiorenal syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008, 52(19), 1527–1539.
2. Pouchelon J.L., Atkins C.E., Bussadori C., Oyama M.A., Vaden S.L., Bonagura J.D., Chetboul V., Cowgill L.D., Elliott J., Francey T., Grauer G.F., Luis Fuentes V., Sydney Moise N., Polzin D.J., van Dongen A.M., van Israel N.: Cardiovascular–renal axis disorders in the domestic dog and cat: a veterinary consensus statement. *J. Small Anim. Pract.* 2015, 56, 537–552.
3. Keller S.P., Kovacevic A., Howard J., Schweighauser A., Francey T.: Evidence of cardiac injury and arrhythmias in dogs with acute kidney injury. *J. Small Anim. Pract.* 2016, 57(8), 402–8.
4. Martinelli E., Locatelli C., Bassis S., Crosara S., Paltrinieri S., Scarpa P., Spalla I., Zanaboni A.M., Quintavalla C., Brambilla P.: Preliminary investigation of cardiovascular – renal disorders in dogs with chronic mitral valve disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2016, 30, 1612–1618.
5. Jung H-B., Kang M-H., Park H-M.: Evaluation of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel biomarker of cardiorenal syndrome in dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2018, 30, 386–391.
6. Dahlem D.P., Neiger R., Schweighauser A., Francey T., Yerramilli M., Obare E., Steinbach S.M.L.: Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2017, 31, 799–804.
7. Hall J.A., Yerramilli M., Obare E., Yerramilli M., Jewell D.E.: Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in cats with chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, 28, 1676–1683.
8. Hall J.A., Yerramilli M., Obare E., Yerramilli M., Almes K., Jewell D.E.: Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2016, 30, 794–802.
9. Nabity M.B., Lees G.E., Boggess M., Yerramilli M., Obare E., Yerramilli M., Rakitin A., Aguiar J., Relford R.: Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for

- the early detection of chronic kidney disease in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* 2015, 29, 1036–1044.
10. Orvalho J.S., Cowgill L.D.: Cardiorenal syndrome: diagnosis and management. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2017, 47, 1083–1102.
 11. Relford R., Roberston J., Clements C.: Symmetric dimethylarginine: improving the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2016, 46, 941–960.
 12. Sargent H.J., Elliott J., Jepson R.E.: The new age of renal biomarkers: does SDMA solve all of our problems? *J. Small Anim. Pract.* 2021, 62, 71–81.
 13. Dobrek Ł., Thor P.J.: Wybrane białka jako biomarkery uszkodzenia nerek wykorzystywane w diagnostyce nefrologicznej. *Postępy Biochem.* 2016, 62, 482–494.
 14. Maisel A.S., Katz N., Hillege H.L., Shaw A., Zanco P., Bellomo R., Anand I., Anker S.D., Aspromonte N., Bagshaw S.M., Berl T., Bobek I., Cruz D.N., Daliento L., Davenport A., Haapio M., House A.A., Mankad S., McCullough P., Mebazaa A., Palazzuoli A., Ponikowski P., Ronco F., Sheinfeld G., Soni S., G. Vescovo, Zamperetti N., Ronco C.: Biomarkers in kidney and heart disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011, 26, 62–74.
 15. Niizuma S., Iwanaga Y., Yahata T., Miyazaki S.: Renocardiovascular biomarkers: from the perspective of managing chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Front Cardiovasc. Med.* 2017, 6, 4–10.
 16. Tan K., Sethi S.K.: Biomarkers in cardiorenal syndromes. *Transl. Res.* 2014, 164, 122–134.
 17. Hokamp J.A., Nabity M.B.: Renal biomarkers in domestic species. *Vet. Clin. Pathol.* 2016, 45, 28–56.
 18. Yerramilli M., Farace G., Quinn J., Yerramilli M.: Kidney disease and the nexus of chronic kidney disease and acute kidney injury: The role of novel biomarkers as early and accurate diagnostics. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2016, 46, 961–993.
 19. Szczepankiewicz B., Paśławska U., Paśławski R., Gębarowski T., Zasada W., Michałek M., Noszczyk – Nowak A.: The urine podocin/creatinine ratio as a novel biomarker of cardiorenal syndrome in dogs due to degenerative mitral valve disease. *J. Physiol. Pharmacol.* 2019, 70, 229–238.
 20. Szczepankiewicz B., Paśławska U., Siwińska N., Plens K., Paśławski R.: Evaluation of the diagnostic value of the renal resistive index as a marker of the subclinical development of cardiorenal syndrome in MMVD dogs. *J. Renin. Angiotensin Aldosterone Syst.* 2021, 22, 1470320321995082.
 21. Winiarczyk D.: *Przydatność proteomiki w rozpoznawaniu nefropatii różnego pochodzenia u psów*. Rozprawa doktorska. Uniwersytet Przyrodniczy Lublin, 2018.
 22. Gala-Błądzińska A., Kuźniowski M.: Oznaczanie lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) w praktyce klinicznej. *Przeg. Lek.* 2013, 70, 400–403.
 23. Kędzierski L., Kokot M., Biolik G., Ziaja D., Ziaja K., Duława J.: Stężenie lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) w surowicy uzyskanej z różnych obszarów naczyniowych w trakcie zabiegu naprawczego tętniaka aorty brzusznej. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2019, 73, 89–95.
 24. Michałek Ł.: *Rola lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) w diagnostyce przewlekłej choroby nerek w przebiegu przewlekłej niewydolności krążenia*. Rozprawa doktorska. Uniwersytet Medyczny, Łódź 2018.
 25. Bolognani D., Lacquaniti A., Coppolino G., Donato V., Campo S., Fazio M.R., Nicocia G., Buemi M.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 4, 337–344.
 26. Radosz A., Obuchowicz A.: Potencjalne znaczenie diagnostyczne lipokaliny neutrofilowej związanej z żelatynazą. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2013, 67, 61–66.
 27. Mori K., Nakao K.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney Int.* 2007, 71, 967–970.
 28. Kim Y.M., Polzin D.J., Rendahl A., Granick J.L.: Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dogs with stable or progressive kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2019, 33, 654–661.
 29. Palm C.A., Segev G., Cowgill L.D., LeRoy B.E., Kowalkowski K.L., Kanakubo K., Westropp J.L.: Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker for identification of acute kidney injury and recovery in dogs with gentamicin-induced nephrotoxicity. *J. Vet. Intern. Med.* 2016, 30, 200–205.
 30. Zheng J-S., Jing-Nie, Zhu T-T., Ruan H-R., Xue-Wei, Rui-Wu: Screening of early diagnostic markers of gentamicin-induced acute kidney injury in canines. *J. Vet. Res.* 2019, 63, 405–411.
 31. Steinbach S., Weis J., Schweighauser A., Francey T., Neiger R.: Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in dogs with acute kidney injury or chronic kidney disease. *J. Vet. Intern. Med.* 2014, 28, 264–269.
 32. Fu S., Zhao S., Ye P., Luo L.: Biomarkers in cardiorenal syndromes. *Biomed Res. Int.* 2018, 9617363.

Dr n wet. Karolina Wrześniewska,
e-mail: karolina.wrzesniewska@up.lublin.pl