

# Potansiyel Tanısal Bir Biyobelirteç Olarak Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin

## NGAL As a Potential Diagnostic Biomarker

Emel Altekin

Yasin Kenesan

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

**Başvuru Tarihi:** 26.03.2013

**Kabul Tarihi:** 07.04.2013

### ÖZET

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), nötrofiller ve böbrek proksimal tübüllerini de içeren çeşitli epitellerden sentez edilen küçük, stabil bir proteindir. Başlangıçta enfeksiyon ve bazı adenokanser türleri için tanısal amaçlı kullanımı ileri sürülürken, böbrek hasarı sonrası idrarda dramatik yükselişi NGAL'i günümüzde böbrek hasarı için kullanışlı bir biyobelirteç yapmıştır. Bu derlemede yeni bir biyobelirteç olarak NGAL ele alınacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** Lipokalin; biyobelirteç; akut böbrek hasarı

### ABSTRACT

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), is a small, robust protein expressed by neutrophils and various epithelia, including the renal proximal tubules. While initially proposed as a marker for infections and certain adenocarcinomas, it is now apparent that its early and dramatic rise in urine after renal injury may make it a useful marker of such injury. The current status of one of the most promising novel biomarkers, namely neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), is presented in this review.

**Key Words:** Lipocalin; biomarkers; acute kidney injury

### GİRİŞ

Son zamanlarda ya pılan bir çok çalışmada, özellikle akut böbrek hasarında, erken, tanısal bir biyobelirteç olma özelliği ile önemini kanıtlamış monomerik yapıda bir protein olan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL-Neutrophil gelatinase associated lipocalin) (1-3), ilk olarak nötrofillerin jelatinazına bağlı bir protein olarak belirlenmiştir (4).

NGAL, sadece ekstrasellüler transport proteinleri (örn: retinol bağlayıcı protein, yağ asidi bağlayıcı protein) olarak görev aldığı düşünülen, son zamanlarda biyolojik fonksiyon-

larının koku almad an, prostaglandin sentezine kadar uzanan büyük bir fonksiyonel çeşitlilik gösterdiği netleşmiş olan lipokalin (lipocalin 2 - lcn2) süper ailesinin bir üyesidir (5). Lipokalinler fıçı şeklinde tersiyer yapıya sahiptirler, ortak yapı: 8 zincirli, hidrojen bağlı-antiparalel b-fıçı yapısı ve bir internal ligand bağlama yüzeyi içerir. Küçük hidrofobik moleküllere ve özel hücre yüzey reseptörlerine bağlanabilme, çözünebilir makromoleküller ile kompleksler oluşturabilme lipokalinlerin ortak moleküler özellikleridir. NGAL, başlangıçta nötrofil lizozom-

larında bulunması ile karakterizeyken, daha sonra renal tübüler epitelyum, kolon, prostat, meme gibi çeşitli dokularda da eksprese edildiği görülmüştür (6). NGAL stres altındaki hücreden sentezlenir. İnfeksiyon, inflamasyon (aktive nötrofillerin sekonder granüllerinden sentezlenir), iskemi, neoplastik transformasyon NGAL ekspresyonunun arttığı durumlardır (7). Plazmada serbest veya tip IV kollagenaz (gelatinaz B, mmp-9) ile kompleks halinde bulunabilir (8). Düşük molekül ağırlığı ve degradasyona dirençli yapısı nedeniyle kolayca ekskrete olarak idrarda saptanır. Lipokalin 2, siderokalin, onkogenprotein 24p33, uterokalin ve alfa-2 mikroglobulin ilişkili protein NGAL'in sinonim isimleridir (9-11).

### **İmmünite ve NGAL**

Bakteriler sentezledikleri sideroforlar aracılığı ile ekstrasellüler boşluktan demir yakalar. NGAL, ökoryotlarda proliferasyon ve difransiasyon için kritik olan siderofor aracılı demir döngüsüne katılır (12). NGAL siderofor şelazlayıcı etkisi ile bakteriostatik özellik taşır (13). Bu bulguların biyolojik anlamlılığı genetik olarak modifiye farelerde gösterilmiştir. NGAL geninin her iki kopyası da eksik olan farelerin belli gram (-) bakterilere göre daha duyarlı ve normal farelere göre sepsiste ölmeye daha meyilli olduğu gösterilmiştir. Bu yüzden NGAL bakteriyel enfeksiyonlara karşı doğal bağışıklığın önemli bir bileşeni olarak tanımlanmıştır (14). NGAL üretimi bakteriyel enfeksiyon varlığında artmaktadır ve dokularda NGAL düzeyleri bakteriyel-viral enfeksiyon ayırımında kullanılmaktadır (15).

### **Neoplazi ve NGAL**

NGAL ile ilgili yapılan araştırmalar NGAL ekspresyonunun meme, kolon, prostat, akciğer gibi çeşitli kanserlerde uyarıldığını, MMP-9 ile yaptığı kompleksin taranmasının kanserde hastalık düzeyi ile ilişkilendirildiğini göstermektedir. Sv40, hepatosit büyüme faktörü, retinoik asit ve NF-kB gibi, tümör gelişimini provoke eden moleküller tarafın-

dan NGAL gen indüksiyonunun artırdığı tespit edilmiştir (16,17). Ayrıca, NGAL ekstrasellüler matriks ve membranlarda yıkım görevi olan MMP-9 aktivitesini artırır ve yıkımını azaltır. MMP-9'a bağlı NGAL, invazyon ve metastazı kolaylaştırdığından, kanserde düzeyinin artması kötü prognoza işaret eder (18).

Palpe edilemeyen meme lezyonları nedeniyle histolojik tanı için meme biyopsisi yapılmış 113 hasta ve 30 sağlıklı kadın kontrol içeren bir çalışmada, MMP-9, NGAL, ve MMP-9/NGAL kompleksinin düzeyleri periferik kanda enzim immün ölçüm ile belirlenmiş, invaziv duktal karsinomu olan kadınlarda kontrol ile karşılaştırıldığında belirgin MMP-9, NGAL ve MMP-9/NGAL düzeyi artışı izlenmiştir (19). MMP-9 ve NGAL serum düzeyleri ile meme hastalığı ciddiyet skoru arasında belirgin korelasyon izlenirken kompleksleriyle anlamlı bir korelasyon bulunamamıştır. Bu bulgular serum MMP-9 ve NGAL ölçümlerinin meme hastalığı durumunda potansiyel belirteç rolü oynamaları yanında meme kanseri progresyonunun non invaziv takibinde de kullanışlı olabileceğini göstermektedir.

İnflamatuar kolon hastalıklarında, kolonun premalign ve malign lezyonlarında, gastrik kanserlerde NGAL ekspresyonunun indüklendiği, ayrıca prognoz belirleme ve tedavi izleminde NGAL düzeylerinin değerlendirilmede kullanılabileceğine dair çalışmalar da bulunmaktadır (20,21).

### **Böbrek ve NGAL**

Akut böbrek fonksiyon bozukluğu durumunun son aşaması akut böbrek yetmezliğidir. Yetmezlik tanımlaması kreatinin yüksekliğinden anüri ve replasman tedavisine kadar uzanan geniş bir tanımlamadır. Yetmezlik kavramı hasarlanmanın erken dönemlerini ifade edememektedir. Bu nedenle günümüzde akut böbrek hasarı terimi kullanıma girmiştir (22,23).

Postoperatif böbrek fonksiyon bozukluğuna bağlı komplikasyonlar özellikle kardiyak cerrahi sonrası başlıca mortalite nedenidir (24,25).

Akut myokard infarktüsü ve akut böbrek hasarına bağlı mortalitenin kıyaslandığı çalışmalarda, yıllar içinde myokard infarktüsüne bağlı mortalite oranı azalırken böbrek için bakıldığında durum biraz farklıdır. Böbrek yetmezliği kaynaklı mortalite oranlarının yıllar içinde azalmak yerine giderek arttığı saptanmıştır (26,27). Akut myokard infarktüsünde başlangıçta kreatinin kinaz (CK) enzimi en fazla kullanılan tanınal laboratuvar testi iken ilerleyen yıllarda erken tanınal biyobelirteçler (CK-MB, troponin, myoglobin, BNP) hızla rutin kullanıma girmiş bu durum mortalitede önemli oranda azalma ve tedavi yaklaşımlarda önemli gelişme sağlamıştır. Böbrek hastalıklarında erken tanı açısından bakıldığında kalbe göre belirteçler açısından son yıllara kadar fakir kalınmıştır. Böbrekte oluşan bu hızlı fonksiyon kaybının saptanma zamanı ile mortalite gelişimi arasında önemli derecede korelasyon saptanması ve mevcut biyokimyasal parametrelerin erken tanı ve derecelendirmedeki bazı yetersizlikleri nedeniyle son yıllarda yeni biyobelirteçlere olan ihtiyaç artmıştır (28). Bu konuda verilebilecek en çarpıcı örnek, glomerüler fonksiyon hızındaki düşüşün kreatinin yükselmesinden çok daha önce başlaması ve yetmezlik tanısında en yaygın kullanılan belirteç olan kreatinin düzeylerinde yükseklik saptandığında böbrek fonksiyonlarında önemli ölçüde fonksiyon kaybının başlamış olmasıdır (29). Böbrek hasarının erken saptanması belki de sendromun tanımlamasından daha önemlidir. Bu amaçla birçok araştırmacı iskemik hayvan modellerinde ve insanlarda genomik yaklaşımlar ve biyoinformatik tekniklerin kombinasyonu ile birçok genin ekspresyon profillerini incelemiştir. Bu konuda akut böbrek hasarı için yeni biyobelirteçlerden beklentiler hasarın lokalizasyonu (proksimal tübül, distal tübül, interstisyum, vasküler yapılar gibi), süresi (akut, kronik), prerenal, renal veya postrenal ayrımı, etiyoloji ayrımı (iskemi, toksin, sepsis) akut böbrek hasarını diğer böbrek hastalıklarından ayırma (üriner trakt enfeksiyonu, glomerulo-

nefrit, interstitial nefrit), risk ve prognoz belirleme ve hasara yönelik girişimlerin monitörizasyonudur. Analitik beklentiler ise, non-invaziv ve kolayca elde edilen kan veya idrar örneğinde, yatak başında veya standart klinik laboratuvarlarda uygulanabilir, yüksek duyarlılıkta olup erken teşhisi kolaylaştırmasıdır (30). Bu beklentilerin çoğunu karşılayan NGAL geni, akut iskemik ve nefrotoksik hasar sonrası kreatininden önce kısa sürede böbrekte en fazla eksprese olan gen olarak gösterilmiştir. NGAL üretimi renal epitelyum hasarı veya inflamasyonuna cevap olarak hızla artmaktadır. Akut böbrek hasarında kanda ve idrarda NGAL proteini kolaylıkla tespit edilmiştir. Eksperimental olarak akut tübüler hasar sonrası böbrekte NGAL mRNA'sının 1000 kat arttığı; Western-blotting tekniği ile akut böbrek hasarında plazmada 10, idrarda 100 kattan fazla artış gösterdiği gösterilmiştir (31).

Hasar sonrası NGAL düzeylerindeki bu erken yükselişin özellikle kardiyolojik cerrahi girişimler sonrası gelişen akut böbrek hasarının erken tanımlanmasına olanak sağladığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Kardiyak cerrahi sonrası gelişen böbrek hasarında kreatinin ve NGAL düzeylerindeki yükselmelerin kıyaslandığı bir çalışmada operasyon sonrası NGAL düzeyleri altıncı saatte pik yaparken, kreatinindeki yükselmenin ikinci günde başladığı gözlenmiştir (32).

Klinik kullanımda, tanıyı erkenden koyabilecek, komplikasyonları ve olumsuz sonuçları ön görebilecek, tedaviyi yönlendirebilecek şekilde hastaları risk kategorilerine ayıran belirteçlere her zaman ihtiyaç vardır. Bu konuda NGAL'in tanınal bir biyobelirteç olarak kısa zamanda rutin kullanımda yerini alması klinik yararlanım konusunda ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde büyük katkı sağlayacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Mori K, Nakao K. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the realtime indicator of active kidney damage. *Kidney Int* 2007; 71(10): 967-70.

2. Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 2004; 24(3): 307-15.
3. Nickolas TL, Barasch J, Devarajan P. Biomarkers in acute and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 17(2): 127-32.
4. Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengeløv H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993; 268(14): 10425-32.
5. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 1996; 318(Pt 1): 1-14.
6. Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997; 45(1): 17-23.
7. Soni SS, Cruz D, Bobek I, Chionh CY, Nalesso F, Lentini P, et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int Urol Nephrol* 2010; 42(1): 141-50.
8. Yan L, Borregaard N, Kjeldsen L, Moses MA. 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): 37258-65.
9. Liu Q, Ryon J, Nilsen-Hamilton M. Uterocalin: a mouse acute phase protein expressed in the uterus around birth. *Mol Reprod Dev* 1997; 46(4): 507-14.
10. Stoesz SP, Gould MN. Overexpression of neu-related lipocalin (NRL) in neu-initiated but not ras or chemically initiated rat mammary carcinomas. *Oncogene* 1995; 11(11): 2233-41.
11. Triebel S, Bläser J, Reinke H, Tschesche H. A 25 kDa alpha 2-microglobulin-related protein is a component of the 125 kDa form of human gelatinase. *FEBS Lett* 1992; 314(3): 386-8.
12. Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, et al. Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *J Clin Invest* 2005; 115(3): 610-21.
13. 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): 1033-43.
14. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004; 432(7019): 917-21.
15. Xu SY, Pauksen K, Venge P. Serum measurements of human neutrophil lipocalin (HNL) discriminate between acute bacterial and viral infections. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55(2): 125-31.
16. Friedl A, Stoesz SP, Buckley P, Gould MN. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in normal and neoplastic human tissues. Cell type-specific pattern of expression. *Histochem J* 1999; 31(7): 433-41.
17. Hrabá-Renevey S, Türler H, Kress M, Salomon C, Weil R. SV40-induced expression of mouse gene 24p3 involves a post-transcriptional mechanism. *Oncogene* 1989; 4(5): 601-8.
18. Bolognani D, Donato V, Lacquaniti A, Fazio MR, Bono C, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human neoplasias: A new protein enters the scene. *Cancer Letters* 2010; 288(1): 10-6.
19. Provatopoulou X, Gounaris A, Kalogera E, Zagouri F, Flessas I, Nonni A, et al. Circulating levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and their complex MMP-9/NGAL in breast cancer disease. *BMC Cancer* 2009; 9: 390-5.
20. Barresi V, Reggiani-Bonetti L, Di Gregorio C, Vitarelli E, Ponz De Leon M, Barresi G. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) prognostic value in stage I colorectal carcinoma. *Pathol Res Pract* 2011; 207(8): 479-86.
21. Sun Y, Yokoi K, Li H, Gao J, Hu L, Liu B, et al. NGAL expression is elevated in both colorectal adenoma-carcinoma sequence and cancer Progression and Enhances Tumorigenesis in Xenograft Mouse Models. *Clin Cancer* 2011; 17(13): 4331-40.
22. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P; Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care* 2004; 8(4): R204-12.
23. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11(2): R31-6.
24. Tuladhar SM, Püntmann VO, Soni M, Punjabi PP, Bogle RG. Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 53(3): 261-6.
25. Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, Dragun D, et al. Novel and conventional serum biomarkers predicting acute kidney injury in adult cardiac surgery—a prospective cohort study. *Crit Care Med* 2009; 37(2): 553-60.
26. Chertow GM, Soroko SH, Paganini EP, Cho KC, Himmelfarb J, Ikizler TA, et al. Mortality after acute renal failure: Models for prognostic stratification and risk adjustment. *Kidney Int* 2006; 70(6): 1120-6.
27. Hoste EA, Kellum JA. RIFLE criteria provide robust assessment of kidney dysfunction and correlate with hospital mortality. *Crit Care Med* 2006; 34(7): 2016-7.

28. Malyszko J. Biomarkers of Acute Kidney Injury in Different Clinical Settings: A Time to Change the Paradigm. *Kidney Blood Press Res* 2010; 33(5): 368-82.
29. Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (10): 2534-43.
30. Parikh CR, Devarajan P. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit Care Med* 2008; 36(4 Suppl): 159-65.
31. Yuen PS, Jo SK, Holly MK, Hu X, Star RA. Ischemic and nephrotoxic acute renal failure are distinguished by their broad transcriptomic responses. *Physiol Genomics* 2006; 25(3): 375-86.
32. Parikh CR, Devarajan P, Zappitelli M, Sint K, Thiessen-Philbrook H, Li S, et al. Postoperative Biomarkers Predict Acute Kidney Injury and Poor Outcomes after Pediatric Cardiac Surgery. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22(9): 1737-47.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Emel Altekin  
Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir  
Tel : 0 232 412 44 12  
Faks : 0 232 259 05 41  
E-posta: emel.altekin@deu.edu.tr

---