

NGAL – klinické využití a nové poznatky

J. Franeková, A. Jabor

Použití nových biomarkerů se v klinické praxi váže na zodpovězení následujících otázek:

- a) přináší použití nového biomarkeru nějakou přidanou hodnotu k dosud používaným?
- b) má se využít multimarkerová strategie s rizikem, že dojde k plýtvání prostředků nebo se má paleta biomarkerů omezit s rizikem, že jejich výpovědní hodnota nebude významná?

Je proto nutné studovat nejen analytické ale i klinické charakteristiky a teprve na základě dostatečného poznání zařazovat testy do vyšetřovací palety klinických laboratoří.

NGAL: MODIFIKACE KLASICKÉHO POHLEDU NA BIOMARKER

NGAL je kandidátním markerem pro akutní poškození ledvin (acute kidney injury, AKI). Je považován za vysoce senzitivní a specifický marker tubulárního poškození, s časným vzestupem (zvyšuje se o 1 - 2 dny dříve než kreatinin) a výraznou dynamikou změn koncentrací. Umožňuje rychlejší identifikaci pacientů s AKI, a tím včasnější a intenzivnější péči.

Nejvíce úvodních prací se týkalo využití NGAL při operacích v mimotělním oběhu, protože jde o klinický stav, při kterém je přibližně 30% riziko rozvoje AKI. Důvodem mohou být ischemie/reperfuze, zánět a rozvoj SIRS, hemodynamické faktory (nepulzatilní průtok, mikroembolizace), exogenní a endogenní toxiny, volný hemoglobin, rhabdomyolýza (pigmentová nefropatie), oxidační stres (s významnou rolí volného železa) a další faktory, mezi nimiž dominuje délka mimotělního oběhu. Haasova metaanalýza z roku 2009 uvádí párovanou senzitivitu a specifickou pro predikci AKI po operaci v mimotělním oběhu. Při průměrné senzitivitě 75,5% byla průměrná specifická 75,1% a plocha pod křivkou (AUC) byla průměrně 0,78 (Haase, 2010).

V poměrně recentní práci jsou NGAL (marker postižení tubulů) společně s cystatinem C (marker poruchy filtrace) označeny za klíčové biomarkery poškození ledvin, které reagují dříve než kreatinin a urea, jsou komerčně dostupné (na trhu jsou k dispozici aplikace stanovení na automatické analyzátoře), umožní intenzivnější management u rizikových pacientů, případně použití nových terapií, a zlepši lékařské rozhodování včetně ekonomického využití

intenzivních lůžek. Autoři uvedli i možnost POCT technologií pro časnější stanovení těchto biomarkerů (Moore, 2010). NGAL je tedy jistě marker zasluhující pozornost kliniků i laboratorních pracovníků.

Významný italský nefrolog, prof. Claudio Ronco, ještě v roce 2009 označuje NGAL poměrně jednoznačně a nepochybnitelně za biomarker AKI. Ale v publikaci z roku 2010 je již spoluautorem článku s názvem „NGAL: biomarker AKI a dalších systémových onemocnění“ (Soni, 2010). V této práci je už NGAL uváděn také jako „biomarker u řady dalších renálních a nerenálních onemocnění“. Zdá se tedy, že NGAL patrně nebude „troponinem nefrologů“, protože má komplikovanou patofyziologii a není jen markerem poškození tubulárních buněk. Výsledky studií musíme hodnotit s ohledem na to, že byly často prováděny na přesně definovaných populacích s přísnými vylučovacími kritérii (nemusi odpovídat reálné klinické situaci), používaly se soupravy s různými analytickými charakteristikami a různými cut-off hodnotami. NGAL nemá orgánovou specifickou (produkují jej neutrofile, ledviny, játra, myokard), má při poškození organismu protektivní roli a může se v různých tkáních uplatnit různým způsobem. Přibývají však nová data a je velmi zajímavé tento marker dále sledovat, protože se objevují nové diagnostické oblasti: sepsa, nemoc myokardu, kardiorenální syndrom, transplantace, systémová onemocnění a další.

ALTERNATIVNÍ POHLED NA POROVNÁNÍ TROPONINŮ A NGAL

Jak již bylo naznačeno, NGAL nelze označit za marker rovnocenný troponinům. Jejich místo v patofyziologii je zcela rozdílné. Troponin se do cirkulace uvolňuje jako následek nekrózy a při použití ultrasenzitivních metod možná i ischemie myokardu, tedy jako „pasivní“ produkt poškození tkáně. NGAL je naopak aktivně secernovanou součástí renoprotektivního systému: společně s hepcidinem zajišťuje sekvestraci železa, přispívá ke snížení volných kyslíkových radikálů, má imunomodulační a baktericidní účinky. NGAL tedy můžeme spíše porovnat s natriuretickými peptidy: také tyto hormony mají významný kardioprotektivní účinek, byť je využíváme pro posouzení stupně postižení myokardu. Naopak další biomarker používaný v nefrologii – alfa-1-mikroglobulin – je v diagnostickém použití více podobný troponinům: má sice primárně také renoprotektivní účinek, ale je spíše markerem ireversibilního poškození ledvinových tubulů. Tabulka 1, která je jistě zjednodušením problému, tyto alternativní názory shrnuje.

Tab. 1 Alternativní pohled na roli biomarkerů v diagnostice postižení ledvin a myokardu

	Poškození	Protektce
Myokard	Troponin: marker nekrózy myocyty, marker hypoxie/ischemie (?), marker prognózy	BNP/NT-proBNP: marker neurohormonální regulace, antiproliferativní efekt, blokáce RAAS, antagonizace ADH, marker prognózy
Ledviny	Alfa-1-mikroglobulin: marker (ireverzibilního) poškození proximálního tubulu	NGAL: marker s antioxidačním, imunomodulačním a bakteriostatickým působením, sekvestrace železa

NGAL: MOLEKULÁRNÍ FORMY

Cai se spolupracovníky analyzoval výsledky stanovení NGAL dvěma rozdílnými analytickými soupravami (RIA a ELISA). Po kardiopulmonálním bypassu mělo zvýšení NGAL dvě hodiny po operaci 50 % operovaných pacientů, ale pouze u třech se rozvinulo AKI (u jednoho z nich byly hodnoty NGAL dokonce pod cut-off) (Cai, 2009). K podobným výsledkům jsme došli u pacientů po transplantaci srdce: na velmi omezeném souboru pacientů jsme nenašli vztah mezi koncentrací NGAL a pooperační funkcí ledvin. Časný (tj. 3 hodiny po transplantaci) vzestup NGAL s rychlým poklesem nebyl vůbec spojen s rozvojem AKI, naopak se zdálo, že pozdní vzestup (po 24 hodinách po transplantaci) byl spojen s výskytem komplikací. Z našich dat, která zatím máme k dispozici, není možné vzhledem k velmi malým počtům dovozovat seriózní závěry. Zmíněná práce švédských autorů (Cai, 2009) také konstatovala různý počet pacientů s hodnotami nad cut-off při použití různých souprav a přinesla rovněž možné vysvětlení diskrepantních závěrů: po operační zátěži se mění poměr homodimerů a monomerů NGAL a různé metody stanovení rozpoznávají monomery s různou afinitou. Kromě toho se ještě vyskytují molekuly NGAL kovalentně vázané na želatinázu. Není taky zcela jasné, které formy jsou přítomny v plazmě nebo moči při ischemii, operaci (v různých časových okamžicích), intoxikacích, mimotělním oběhu, při chronickém onemocnění ledvin nebo AKI. Nezanedbatelná je také intraindividuální variabilita NGAL (v moči kolem 80 %), není dosud uzavřena otázka sledování plazmatických nebo močových koncentrací (preferuje se zatím stanovení v moči) ani problém interpretování samotné koncentrace v moči nebo poměru ke kreatininu (Delanaye, 2011).

ZÁVĚRY

NGAL lze i nadále považovat za perspektivní marker. Má vztah k patofyziologii, hraje roli v renoprotektivních procesech. Velké množství dat je dostupné pro modelovou zátěžovou situaci, kterou je mimotělní

oběh, méně dat je pro jiné situace. Mezi biomarkery AKI má NGAL nejvyšší senzitivitu a specifčnost. Přibyla nová data o molekulárních formách NGAL (monomery, homodimery, heterodimery), je k dispozici více údajů o analytických charakteristikách diagnostických souprav, jsou dostupné rutinní a automatizované metody ve statimovém režimu, které mají uspokojivé výsledky verifikací. Díky dostupným metodám mohou proběhnout další klinické studie, takže se znalostní databáze o tomto perspektivním markeru bude rozšiřovat. Otázky položené v úvodu článku zatím není možné zodpovědět. Vzhledem k velké dynamice změn koncentrací v patologických stavech, která eliminuje vliv poměrně velké biologické intraindividuální variability, je NGAL stále zajímavým biomarkerem s klinickým potenciálem.

LITERATURA

1. Cai, L., Borowiec, J., Xu, S., Han, W., Venge, P.: Assays of urine levels of HNL/NGAL in patients undergoing cardiac surgery and the impact of antibody configuration on their clinical performances. *Clin. Chim. Acta*, 2009, 403, p. 121-125.
2. Delanaye, P., Rozet, E., Krzesinski, J. M., Cavalier, E.: Urinary NGAL measurement: biological variation and ratio to creatinine. *Clin. Chim. Acta.*, 412, 2011, č. 3-4, s. 390.
3. Haase, M., Bellomo, R., Haase-Fielitz, A.: Novel biomarkers, oxidative stress, and the role of labile iron toxicity in cardiopulmonary bypass-associated acute kidney injury. *J. Am. Col. Cardiol.*, 55, 2010, s. 2024-2033.
4. Moore, E., Bellomo, R., Nichol, A.: Biomarkers of acute kidney injury in anesthesia, intensive care and major surgery: from the bench to clinical research to clinical practice. *Minerva Anesthesiologica*, 2010, 76, 425-440.
5. Soni, S.S., Cruz, D., Bobek, I. et al.: NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int. Urol. Nephrol.*, 2010, 42, p. 141-150