

Użyteczność lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilów (NGAL) i wyliczanego wskaźnika NGAL do kreatyniny w moczu jako wczesnych predyktorów uszkodzenia nerek u pacjentów z cukrzycą typu 2

Usefulness of measuring urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and calculating NGAL to creatinine ratio as early predictors of kidney dysfunction in patients with type 2 diabetes

Agnieszka Gala-Błądzińska¹, Agnieszka Żyłka¹, Katarzyna Rybak¹, Paulina Dumnicka², Marek Kuźniewski³, Beata Kuśnierz-Cabala⁴

¹Poradnia Nefrologiczna Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 im. Św. Królowej Jadwigi w Rzeszowie

²Zakład Diagnostyki Medycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

³Klinika i Katedra Nefrologii, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

⁴Zakład Diagnostyki Katedra Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Streszczenie

Celem badania była ocena użyteczności pomiarów stężenia NGAL w pierwszej porannej porcji moczu oraz wyliczania wskaźnika NGAL/kreatynina (uNGAL/uCr) u chorych z wczesną cukrzycową chorobą nerek (CChN) rozwijającą się w przebiegu cukrzycy typu 2 (DMt2; *diabetes mellitus type 2*) oraz poszukiwanie zależności pomiędzy wartościami tych markerów a rutynowo ocenianymi parametrami biochemicznymi i morfologicznymi.

Materiał i metody: Badaniem objęto 55 chorych z CChN w przebiegu DMt2 oraz 22 osoby bez cukrzycy; do badania kwalifikowano pacjentów z szacowaną filtracją kłębuszkową >60ml/min/1,73m² bez cech jawnego białkomoczu. Stężenie uNGAL oznaczano przy użyciu metody chemiluminescencyjnej z mikrocząsteczkami (CMIA) na analizatorze ARCHITECT (Abbott Diagnostics).

Wyniki. W grupie badanej obserwowano wyższe wartości wskaźnika uNGAL/uCr niż w grupie kontrolnej (mediana 21,3 vs. 12,2 µg/g; p=0,014). W grupie badanej wyższe wartości uNGAL/uCr wykazano u kobiet w porównaniu z mężczyznami (38,6 vs. 11,7 µg/g; p=0,001). W grupie badanej i kontrolnej stężenie uNGAL dodatnio korelowało ze stężeniem kreatyniny w moczu. W grupie badanej zaobserwowano dodatnie korelacje między uNGAL i uNGAL/uCr, a albuminurią i wskaźnikiem albumina/kreatynina (UACR; *urine albumin to creatinine ratio*); w grupie kontrolnej istotna statystycznie była jedynie korelacja uNGAL z albuminurią. Dodatkowo w grupie badanej wykazano dodatnie korelacje między uNGAL i uNGAL/uCr, a stężeniem cholesterolu całkowitego i LDL oraz triglicerydów w surowicy. W analizie regresji wielokrotnej istotnymi predyktorami uNGAL w grupie badanej były albuminuria i stężenie LDL-cholesterolu w surowicy, zaś wskaźnika uNGAL/uCr – UACR i stężenie triglicerydów.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują na użyteczność oznaczania uNGAL i wyliczania uNGAL/uCr jako wczesnych wskaźników uszkodzenia nerek u chorych z DMt2. Wyniki badania wymagają potwierdzenia w większej grupie chorych.

Summary

The aim of the study was to assess the usefulness of measuring concentrations of NGAL in first morning urine and calculating NGAL/creatinine ratio (uNGAL/uCr) among patients with early stage diabetic kidney disease (DKD) in course of type 2 diabetes (DMt2) and to assess the correlations between these markers and routine biochemical and blood count parameters.

Material and Methods: The studied group consisted of 55 patients with DKD in course of DMt2 and 22 controls without diabetes; the study included patients with estimated glomerular filtration rate >60ml/min/1,73m² without overt proteinuria. NGAL was measured with chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) with ARCHITECT analyzer (Abbott Diagnostics).

Results: Studied group had higher values of uNGAL/uCr than controls (median 21.3 vs. 12.2 µg/g; p=0.014). Among studied group, women presented higher uNGAL/uCr comparing to men (38.6 vs. 11.7 µg/g; p=0.001). Both in patients and controls, uNGAL concentrations were positively correlated with urine creatinine. In studied group, we observed positive correlations of uNGAL and uNGAL/uCr with urine albumin and albumin/creatinine ratio (UACR); in control group, only the correlation between uNGAL and albuminuria was statistically significant. Additionally, in studied group, positive correlations were observed between uNGAL and uNGAL/uCr and serum

cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides concentrations. In multiple regression, albuminuria and LDL-cholesterol significantly predicted uNGAL and UACR and triglycerides significantly predicted uNGAL/uCr in the studied group.

Conclusions: The obtained results confirm the usefulness of measuring uNGAL and calculating uNGAL/uCr as early markers of kidney dysfunction in patients with DMt2. The results of the study should be confirmed in larger group of patients.

Słowa kluczowe: cukrzycowa choroba nerek, biomarker, lipokalina związana z żelatynazą neutrofilii

Key words: diabetic kidney disease, biomarker, neutrophil gelatinase-associated lipocalin

Wstęp

Pomimo postępu jaki dokonał się w medycynie w ciągu ostatnich 20 lat w zakresie diagnostyki i leczenia cukrzycowej choroby nerek (CChN), stanowi ona najczęstszą przyczynę rozwoju przewlekłej choroby (PChN) oraz niewydolności nerek [1]. Dane epidemiologiczne szacują liczbę chorych na cukrzycę w Polsce na ok. 2 miliony osób, z czego blisko połowa nie ma świadomości bycia chorym, żyjąc z nierozpoznaną i nieleczoną cukrzycą [2]. Przy założeniu, że jedynie u 20% istnieje zwiększone ryzyko rozwoju CChN, blisko 400 000 osób jest zagrożonych ujawnieniem się tego powikłania. Uszkodzenie nerek w przebiegu DMt2 jest często nieodwracalne, szczególnie jeśli towarzyszy mu spadek filtracji kłębuszkowej i wzrastająca albuminuria. Wczesne wykrycie oraz rozpoczęcie leczenia jest bardzo istotne dla przebiegu klinicznego nefropatii u pacjentów z DMt2 [3,4].

W 2002 r. w USA ukazały się zalecenia Amerykańskiej Narodowej Fundacji Chorób Nerek (National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, NKF KDOQI) dotyczące klasyfikacji, oceny oraz stratyfikacji PChN [5]. W opracowaniu tej klasyfikacji wykorzystano ocenę filtracji kłębuszkowej oraz obecność markerów uszkodzenia nerek. Za prawidłową albuminurię arbitralnie uznano wydalanie poniżej 30 mg albuminy na dobę. W wytycznych KDOQI wprowadzono również po raz pierwszy rozpoznanie cukrzycowej choroby nerek, które zastąpiło dotychczasowy termin nefropatia cukrzycowa.

W celu określenia stadium zaawansowania CChN, w grupie chorych z DMt2, Polskie Towarzystwo Diabetologiczne (PTD) zaleciło od 2010 r. wykonywanie pomiaru wskaźnika albumina/kreatynina w pojedynczej porcji moczu (UACR; *Urinary Albumin to Creatinine Ratio*), pomiar stężenia kreatyniny w surowicy oraz ocenę wielkości przesączania kłębuszkowego (GFR) w chwili rozpoznania cukrzycy u chorego [6].

Z uwagi na złożony patomechanizm zmian w nerkach w przebiegu DMt2 trwają intensywne poszukiwania nowych biomarkerów wczesnego uszkodzenia nerek, które mogłyby pełnić rolę prognostyczną w ocenie zaawansowania CChN.

Obiecującymi parametrami diagnostycznymi w tym zakresie wydają się być NGAL (*neutrophil gelatinase-associated lipocalin*), KIM-1 (*kidney injury molecule -1*), czy L-FABP (*liver-type fatty acid binding protein*) [3, 4]. W warunkach fizjologicznych, NGAL jest białkiem o masie cząsteczkowej 25 kDa wydzielanym w niewielkich ilościach przez nerki, tchawicę, płuca, żołądek oraz jelito grube, a jego ekspresja zwiększa się w znaczący sposób w przebiegu procesu zapalnego oraz w uszkodzeniach śródbłonna [3, 4, 7]. NGAL ulega swobodnej filtracji przez kłębuszek nerkowy, po czym jest całkowicie resorbowany w cewce proksymalnej w mechanizmie

endocytozy zależnej od megaliny. Jako biomarker uszkodzenia nerek, NGAL odkryty został w 2003 r. [8]. Następnie badania Yang et al. [9] wykazały wyraźny wzrost NGAL w moczu (uNGAL) u chorych z CChN w przebiegu DMt2. W kolejnych badaniach Bolignano et al. [10] potwierdzono, że stężenie NGAL w surowicy i w moczu wzrasta zależnie od zaawansowania CChN u chorych z „normoalbuminurią” i „mikroalbuminurią”. Zaobserwowano również, że zwiększone wydalanie NGAL z moczem jest wskaźnikiem obniżania się filtracji kłębuszkowej (eGFR) u chorych z DMt2 zarówno z „mikro”, jak i „makroalbuminurią”. Chociaż aktualnie obowiązuje nomenklatura określająca oba te stany jako albuminurię, „mikroalbuminurię” rozpoznaje się, gdy wydalanie albuminy mieści się w zakresie od 30 do 300 mg na dobę, natomiast „makroalbuminurię”, gdy wydalanie albuminy przekracza 300 mg na dobę, niezależnie od płci [11].

Fu et al. [12] zaobserwowali ponadto, że w stosunkowo krótkim czasie trwania cukrzycy dochodzi do uszkodzenia cewek nerkowych, a pomiar uNGAL może okazać się jednym z najwcześniejszych wskaźników uszkodzenia nerek w DMt2, wyprzedzającym wzrost UACR. Również w badaniu Wu et al. [13] wykazano korelację pomiędzy stężeniem uNGAL oraz spadkiem eGFR i nasileniem albuminurii u chorych z DMt2 [4].

Celem badania była ocena użyteczności pomiarów stężenia uNGAL i wyliczenia wskaźnika uNGAL/uCr w pierwszej porannej porcji moczu u chorych z CChN rozwijającą się w przebiegu DMt2. Dodatkowo autorzy poszukiwali zależności pomiędzy stężeniami uNGAL i wartościami wyliczonego uNGAL/uCr a wybranymi parametrami biochemicznymi i morfologicznymi ocenianymi rutynowo u pacjentów leczonych w Poradni Nefrologicznej Wojewódzkiego Szpitala Klinicznego Nr 2 im Królowej Jadwigi w Rzeszowie.

Materiał i metody

Badaniem objęto łącznie 55 chorych leczonych w Poradni Nefrologicznej Klinicznego Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 im. Królowej Jadwigi w Rzeszowie. Grupę chorych stanowiło 29 (53%) kobiet w wieku średnim 63 ± 14 lat oraz 26 (47%) mężczyzn w wieku 57 ± 15 lat. Kryterium włączenia do badania obejmowało: pacjentów ze zdiagnozowaną DMt2 w wieku powyżej 18 roku życia, z szacowaną filtracją kłębuszkową (eGFR) powyżej $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ bez cech jawnego białkomoczu. Obecność DMt2 stwierdzano na podstawie dostępnej dokumentacji lekarskiej lub na podstawie przeprowadzonego doustnego testu obciążenia 75g glukozy – OGTT (*Oral Glucose Tolerance Test*). Do badania nie zakwalifikowano chorych, którzy nie wyrazili świadomej zgody na udział w badaniu potwierdzonej własnoręcznym podpisem, a także chorych u których stosowano leki potencjalnie nefrotoksyczne, z innymi

schorzeniami nerek, zakażeniem dróg moczowych, zakażeniem ogólnoustrojowym, chorobami nowotworowymi, alergicznymi, niedokrwistością, chorobą tkanki łącznej oraz nieustabilizowanym ciśnieniem tętniczym ($\geq 140/90$ mmHg).

Dodatkowo w celu porównania analizowanych zmian utworzono 22 osobową grupę kontrolną bez cukrzycy, zbliżoną klinicznie pod względem schorzeń współistniejących do grupy badanej.

Badania laboratoryjne wykonywane były w Klinicznym Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 im. Św. Królowej Jadwigi w Rzeszowie u wszystkich pacjentów oraz w grupie kontrolnej.

Materiał do badania stanowiła próbki krwi pełnej pobranej na wersenian, próbki surowicy oraz poranne próbki moczu uzyskiwane od pacjentów w ramach prowadzonej rutynowej kontroli stanu chorego. Krew pobierano przez nakłucie żyły łokciowej wykorzystując system próżniowy firmy Sarstedt. Badanie morfologii krwi oraz badanie HbA_{1c} wykonywano we krwi pełnej pobranej na wersenian (K₂EDTA). W przypadku badań biochemicznych surowicę uzyskiwano w wyniku 10 minutowego wirowania krwi z prędkością 4000 obrotów/min. Panel rutynowych badań biochemicznych obejmował takie parametry jak: białko C-reaktywne (CRP), pełny profil lipidowy oraz stężenie kreatyniny z wyliczeniem eGFR CKD-EPI. Porównanie średnich wartości ocenianych rutynowo parametrów laboratoryjnych w grupie badanej oraz kontrolnej przedstawiono w tabeli I.

Stężenie NGAL, albuminy i kreatyniny w moczu oraz badanie ogólne moczu wykonywano w pierwszej porannej porcji moczu. W oparciu o wartości stężeń albuminy i kreatyniny wyliczono

wskaźnik albumina/kreatynina (UACR). Analogicznie w przypadku uNGAL oraz kreatyniny wyliczono wskaźnik uNGAL/uCr. Badanie ogólne moczu wykonywano przy użyciu analizatora Labumat Urised 2. Stężenie uNGAL oznaczano przy użyciu metody wykorzystującej chemiluminescencję z mikrocząsteczkami CMIA (chemiluminescent microparticle immunoassay) na platformie ARCHITECT Analizer firmy Abbott Diagnostics (Abbott Park, USA). Stężenie albuminy w porannej porcji moczu oznaczano metodą immunoturbidymetryczną, natomiast stężenie kreatyniny metodą enzymatyczną przy użyciu analizatora biochemicznego Olympus AU680. Do badania morfologii krwi obwodowej wykorzystano analizator hematologiczny ADVIA 2120i firmy Siemens (Siemens Healthcare Diagnostic, Niemcy).

Projekt badawczy posiadał zgodę Komisji Bioetycznej Okręgowej Izby Lekarskiej w Rzeszowie (Nr 40/2013/B).

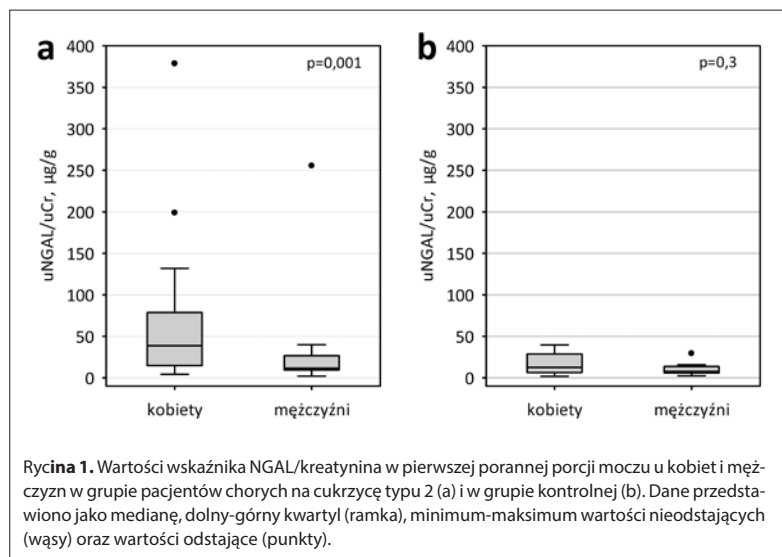
Analiza statystyczna

Analizowane dane przedstawiono jako liczbę chorych (odsetek grupy) dla zmiennych nominalnych oraz medianę (dolny-górny kwartył) lub średnią \pm odchylenie standardowe dla zmiennych ciągłych (odpowiednio dla rozkładu różnego i zbliżonego do normalnego). Normalność rozkładów oceniano przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Do oceny różnic pomiędzy dwoma grupami stosowano test u Manna-Whitney'a lub test t Studenta dla zmiennych niepowiązanych. Do badania korelacji wykorzystano współczynnik Pearsona po zlogarytmowaniu zmiennych o rozkładzie prawoskośnym. W analizie regresji wielokrotnej jako zmienne niezależne wykorzystano zmienne, które wykazywały istotne

Tabela I. Porównanie danych klinicznych oraz parametrów biochemicznych i hematologicznych w grupie badanej i kontrolnej.

Parametr badany	Grupa badana n=55	Grupa kontrolna n=22	p
kobiety/mężczyźni [N (%)]	29 (53) / 26 (47)	13 (59) / 9 (41)	0,6 ^{NS}
wiek [lata]	63 \pm 14	57 \pm 15	0,06 ^{NS}
nadciśnienie tętnicze, N (%)	40 (73)	15 (68)	0,5 ^{NS}
choroba niedokrwienności serca [N (%)]	17 (31)	3 (14)	0,1 ^{NS}
niewydolność serca [N (%)]	6 (11)	3 (14)	0,7 ^{NS}
kreatynina w surowicy [μ mol/l]	64,2 (58,9-77,4)	70,4 (69,5-79,2)	0,046
cukrzyca świeżo wykryta [n (%)]	17 (31)	--	--
czas trwania cukrzycy [lata]	6,0 (1-10)	--	--
BMI [kg/m ²]	31,4 \pm 6,1	28,4 \pm 5,8	0,040
eGFR (CKD-EPI) [ml/min/1,73m ²]	91 (77,0-99,0)	86 (77,0-97,0)	0,6 ^{NS}
eGFR [ml/min/1,73m ²] 60-90 / >90 [N (%)]	30 (55) / 25 (45)	10 (45) / 12 (55)	0,5 ^{NS}
WBC [$\times 10^3/\mu$ l]	7,51 \pm 2,23	6,31 \pm 1,42	0,022
HGB [g/dl]	14,1 \pm 1,3	14,0 \pm 1,1	0,7 ^{NS}
HbA _{1c} [%]	8,1 \pm 2,0	--	--
cholesterol całkowity [mmol/l]	5,3 \pm 1,4	5,7 \pm 1,5	0,3 ^{NS}
cholesterol-LDL [mmol/l]	3,2 \pm 1,2	3,9 \pm 1,2	0,06 ^{NS}
cholesterol-HDL [mmol/l]	1,2 \pm 0,31	1,3 \pm 0,3	0,041
triglicerydy [mmol/l]	1,8 (1,2-2,7)	1,5 (1,0-1,9)	0,09 ^{NS}
kreatynina w moczu [g/l]	1,06 (0,62-1,65)	1,40 (0,71-2,24)	0,3 ^{NS}
uNGAL [μ g/l]	20,3 (9,9-42,6)	10,9 (6,0-38,2)	0,1 ^{NS}
uNGAL/uCr [μ g/g]	21,3 (10,0-51,9)	12,2 (5,9-27,9)	0,014
albuminuria [mg/l]	10,0 (6,6-18,2)	5,9 (3,0-22,9)	0,1 ^{NS}
UACR [mg/g]	8,9 (4,2-19,8)	6,0 (3,6-9,0)	0,08 ^{NS}

^{NS}wartość nieznamienne statystycznie; WBC – całkowita liczba krwinek białych; HGB – stężenie hemoglobiny; uNGAL – stężenie NGAL w pierwszej porannej porcji moczu; UACR – wskaźnik albumina/kreatynina w moczu



Rycina 1. Wartości wskaźnika NGAL/kreatynina w pierwszej porannej porcji moczu u kobiet i mężczyzn w grupie pacjentów chorych na cukrzycę typu 2 (a) i w grupie kontrolnej (b). Dane przedstawiono jako medianę, dolny-górny kwartył (ramka), minimum-maksimum wartości nieodstających (wąsy) oraz wartości odstające (punkty).

statystycznie korelacje ze zmiennymi zależnymi, z pominięciem predyktorów nadmiarowych. Za znamienne statystycznie uznano wyniki przy $p < 0,05$.

Wyniki

W grupie badanej obserwowano wyższe stężenia uNGAL w porównaniu z grupą kontrolną, jednak istotną statystycznie różnicę zaobserwowano tylko dla wskaźnika uNGAL/uCr (tabela I). W grupie kontrolnej maksymalna wartość wskaźnika uNGAL/uCr wynosiła 39,6 µg/g, zaś wartość 95. percentyla wyniosła 38,0 µg/g. W grupie badanej u 37 pacjentów (67%) wskaźnik uNGAL/uCr

wynosił poniżej 38 µg/g, u pozostałych pacjentów (N=18; 33%) wykazano wyższe wartości, znacznie (nawet 10-krotnie) przekraczające wartość 95. percentyla w grupie kontrolnej (maksimum w grupie badanej: 378,6 µg/g).

W grupie badanej obserwowano wyższe wartości uNGAL/uCr u kobiet w porównaniu z mężczyznami (mediana 38,6 vs. 11,7 µg/g; $p=0,001$; Rycina 1), natomiast w grupie kontrolnej różnica nie była istotna statystycznie (mediana 12,5 µg/g u kobiet i 7,7 µg/g u mężczyzn; $p=0,3$). Nie zaobserwowano znamienych różnic związanych z płcią dotyczących nieskorygowanego stężenia uNGAL (mediana odpowiednio u kobiet i mężczyzn: 21,1 i 17,8 µg/g; $p=0,1$ w grupie badanej oraz 10,5 i 20,1 µg/g; $p=0,2$ w grupie kontrolnej).

Korelacje stężenia uNGAL i wskaźnika uNGAL/uCr w grupie badanej i kontrolnej przedstawiono w Tabeli II. Nie wykazano istotnych korelacji między uNGAL i uNGAL/uCr a wiekiem pacjentów, zarówno w grupie badanej, jak i kontrolnej. Nie stwierdzono również korelacji z liczbą leukocytów i stężeniem hemoglobiny we krwi obwodowej. Stężenie uNGAL dodatkowo korelowało ze stężeniem kreatyniny w moczu w obu grupach pacjentów. Stężenie kreatyniny w surowicy korelowało ujemnie z wartością wskaźnika uNGAL/uCr jedynie u pacjentów z cukrzycą, natomiast w obu grupach nie wykazano znamienych statystycznie korelacji uNGAL i uNGAL/uCr z eGFR. W grupie badanej zaobserwowano dodatnie korela-

Tabela II. Analiza zależności pomiędzy stężeniem uNGAL i uNGAL/uCr oraz wybranymi parametrami w grupie badanej i kontrolnej.

	grupa badana n=55		grupa kontrolna n=22	
	ln (uNGAL)	ln (uNGAL/uCr)	ln (uNGAL)	ln (uNGAL/uCr)
wiek	R=-0,01 p=0,9 ^{NS}	R=0,16 p=0,2 ^{NS}	R=0,12 p=0,6 ^{NS}	R=0,33 p=0,1 ^{NS}
WBC	R=0,01 p=0,9 ^{NS}	R=0,04 p=0,6 ^{NS}	R=0,20 p=0,4 ^{NS}	R=0,30 p=0,2 ^{NS}
HGB	R=-0,08 p=0,5 ^{NS}	R=-0,16 p=0,2 ^{NS}	R=-0,01 p=0,9 ^{NS}	R=-0,29 p=0,2 ^{NS}
ln (kreatynina w moczu)	R=0,30 p=0,028	R=-0,34 p=0,012	R=0,62 p=0,002	R=-0,08 p=0,7 ^{NS}
ln (kreatynina w surowicy)	R=-0,21 p=0,1 ^{NS}	R=-0,33 p=0,013	R=-0,24 p=0,3 ^{NS}	R=-0,25 p=0,3 ^{NS}
ln (eGFR)	R=0,03 p=0,8 ^{NS}	R=0,06 p=0,7 ^{NS}	R=0,22 p=0,3 ^{NS}	R=-0,12 p=0,6 ^{NS}
ln (albuminuria)	R=0,55 p<0,001	R=0,32 p=0,016	R=0,63 p=0,002	R=0,17 p=0,4 ^{NS}
ln (UACR)	R=0,36 p=0,007	R=0,54 p<0,001	R=0,38 p=0,08 ^{NS}	R=0,32 p=0,1 ^{NS}
cholesterol całkowity	R=0,26 p=0,061 ^{NS}	R=0,33 p=0,014	R=0,26 p=0,3 ^{NS}	R=0,14 p=0,6 ^{NS}
cholesterol-LDL	R=0,32 p=0,025	R=0,45 p=0,001	R=-0,03 p=0,6 ^{NS}	R=0,21 p=0,4 ^{NS}
cholesterol-HDL	R=0,04 p=0,8 ^{NS}	R=0,10 p=0,5 ^{NS}	R=-0,03 p=0,9 ^{NS}	R=0,18 p=0,5 ^{NS}
ln (triglicerydy)	R=0,37 p=0,008	R=0,42 p=0,002	R=0,13 p=0,6	R=-0,12 p=0,6

ln – logarytm naturalny; pozostałe skróty jak w Tabeli I

cje między uNGAL i uNGAL/uCr, a albuminurią i UACR (Rycina 2), w grupie kontrolnej istotna statystycznie była jedynie korelacja uNGAL z albuminurią. Dodatkowo w grupie badanej wykazano dodatnie korelacje między uNGAL i uNGAL/uCr, a stężeniem cholesterolu całkowitego i LDL oraz triglicerydów w surowicy.

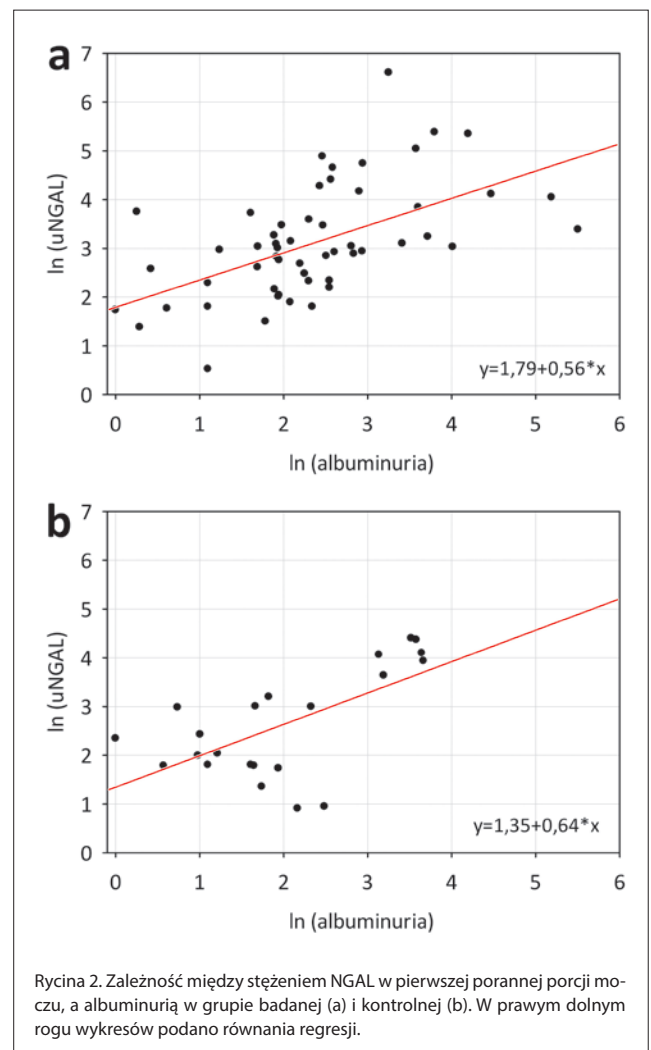
Czas trwania cukrzycy oraz stężenie HbA_{1c} w grupie badanej nie korelowały z uNGAL i uNGAL/uCr.

W analizie regresji wielokrotnej (Tabela III) istotnymi predyktorami uNGAL w grupie badanej były albuminuria i stężenie LDL-cholesterolu w surowicy, zaś wskaźnika uNGAL/uCr – UACR i stężenie triglicerydów.

Dyskusja

Od końca lat 50-tych XX wieku oznaczanie stężenia kreatyniny w surowicy krwi uważane jest za standard diagnostyczny w ocenie funkcji nerek, jednak wpływ wieku, płci, masy ciała pacjenta, czy wzrost stężenia opóźniony o kilkadziesiąt godzin w stosunku do działania czynnika uszkadzającego nerki, wpływają na ograniczenie jego przydatności w niektórych sytuacjach klinicznych [14]. Stwarza to zapotrzebowanie na poszukiwanie nowego biomarkera, niezależnego od wymienionych cech, a także prostego do oznaczania przy pomocy metod rutynowo stosowanych w laboratorium, powtarzalnego, o dużej czułości dla rozpoznawania niewielkich nawet patologii narządu.

U chorych z PChN w stadium od 2 do 4 obserwowane są wzrosty stężenia NGAL w moczu i w surowicy [15, 16, 17]. Autorzy poddali analizie zmiany stężenia uNGAL oraz wskaźnika uNGAL/uCr u chorych z DMt2 zagrożonych rozwojem CChN, a następnie porównali je z danymi uzyskanymi w grupie kontrolnej. Choć brak konsensusu, czy oznaczać jedynie całkowite stężenie NGAL w moczu, czy też opierać się na wyliczeniach wskaźnika uNGAL/uCr, ze względu na wykazaną w badaniach Helmersson [18] dużą zmienność biologiczną NGAL, u chorych z PChN pochodzenia cewkowego zaleca się stosowanie obu wskaźników. W grupie badanej stężenia uNGAL były wyższe w porównaniu z grupą kontrolną, choć różnice istotne statystycznie obserwowano jedynie dla wskaźnika uNGAL/uCr. Wyniki te były zgodne z obserwacjami przeprowadzonymi przez innych autorów w grupie z DMt2 [10, 11, 13]. W toku badania wykazano, że stężenia uNGAL oraz uNGAL/uCr korelowały dodatnio ze stężeniem albuminy w moczu i wskaźnikiem UACR w całej badanej grupie. Zwiększone wydalenie albuminy z moczem pozostaje uznanym czynnikiem ryzyka PChN oraz CChN,



stąd wykazanie dodatniej korelacji pomiędzy uNGAL i uNGAL/uCr w moczu oraz albuminą potwierdza, że badane wskaźniki mogą zostać uznane za wyznaczniki uszkodzenia nerek u chorych z DMt2 [19,20]. W badaniu Bolignano et al. [10] przeprowadzonym w grupie chorych z DMt2 zauważono, że stężenie NGAL oznaczane zarówno w moczu, jak i w surowicy jest lepszym wskaźnikiem progresji PChN, w porównaniu z eGFR w okresie 18,5 miesięcznej obserwacji. Również inne badania potwierdzają istnienie korelacji pomiędzy NGAL oraz gorszym przebiegiem PChN i spadkiem eGFR [4, 21, 22, 23]. Publikacje poświęcone NGAL podkreślają związek lipokaliny 2 z układem immunologicznym, zjawiskiem oporności na insulinę oraz procesami zapalnymi szczegółowo

Tabela III. Analiza regresji wielokrotnej w przewidywaniu uNGAL i uNGAL/uCr w grupie badanej.

zmienne niezależne	ln (uNGAL)		ln (uNGAL/uCr)	
	beta ± SE	p	beta ± SE	p
płeć żeńska	--	--	0,15 ± 0,13	0,3 ^{NS}
ln (kreatynina w moczu)	0,12 ± 0,13	0,3 ^{NS}	-0,09 ± 0,11	0,4 ^{NS}
ln (kreatynina w surowicy)	--	--	-0,18 ± 0,13	0,2 ^{NS}
ln (albuminuria)	0,50 ± 0,13	<0,001	--	--
ln (UACR)	--	--	0,37 ± 0,12	0,004
cholesterol-LDL	0,25 ± 0,12	0,038	0,19 ± 0,11	0,1 ^{NS}
ln (triglicerydy)	0,22 ± 0,12	0,08 ^{NS}	0,27 ± 0,12	0,027

SE – błąd standardowy; pozostałe skróty jak w Tabeli I i II

analizując ich wpływ na przebieg CChN [7, 9, 10]. Uogólniony proces zapalny oraz niedokrwistość mogą prowadzić do wzrostu stężenia NGAL, jest to bowiem białko uwalniane z neutrofilii i makrofagów, a jego podstawowa funkcja biologiczna związana jest z regulacją gospodarki żelazem [24]. Autorzy pracy nie zaobserwowali wpływu liczby leukocytów, czy stężenia hemoglobiny na stężenie uNGAL oraz wielkość uNGAL/uCr. Badania Chou et al. [3] podkreślają diagnostyczne znaczenie wysokich stężeń krążącego NGAL, który odzwierciedla przewlekły proces zapalny w przebiegu PChN. NGAL bywa również określany jako predyktor obniżającej się wartości eGFR u pacjentów z DMt2 [3].

Pomiary stężeń uNGAL oraz wartość wyliczonego wskaźnika uNGAL/uCr mogą dostarczyć informacji na temat uszkodzenia nerki i zmieniają się dynamicznie w czasie wraz ze wzrostem stopnia tego uszkodzenia.

Stężenia cholesterolu we frakcji LDL korelowały z uNGAL, zaś triglicerydów ze wskaźnikiem uNGAL/uCr w grupie chorych na DMt2. Ponadto, oba wskaźniki korelowały z UACR. Wyniki te mogą wskazywać na wpływ aterogennego lipidogramu w grupie z DMt2 na progresję uszkodzenia nerek u chorych z albuminurią >30mg/g. Obserwacja ta jest spójna z badaniem Gall i wsp. [25], w którym wykazano korelację między stężeniem cholesterolu w surowicy a progresją CChN szacowanej wartością eGFR. Istnieje pogląd, że dyslipidemia przyspiesza postęp PChN, jaką jest CChN. Proces ten rozpoczyna się od uszkodzenia włóscinek kłębuszka nerkowego, które umożliwia infiltrację mezangium lipoproteinami [26]. Prawdopodobne jest, że ten proces, zainicjowany przez hiperlipidemię, leży u podłoża zapalenia śródmiąższu nerek u chorych z DMt2 z konsekwencjami pod postacią postępującego uszkodzenia nerek.

Wskaźniki uNGAL i uNGAL/uCr u chorych bez aktywnego zakażenia, istotnej niedokrwistości, choroby nowotworowej i chorób autoimmunologicznych wykazują wysoką specyficzność dla uszkodzenia nerek. Potwierdza to wykazana przez autorów dodatnia korelacja pomiędzy ich wartościami, a albuminurią i UACR (wskaźniki uznawane za markery specyficzne dla uszkodzenia nerek).

DMt2 jest uznawana za schorzenie cywilizacyjne, co za tym idzie, istnieje coraz większa świadomość rozwoju jej późnych powikłań oraz stosunkowo łatwy dostęp do wczesnej diagnostyki. Rozumienie istoty jej przewlekłego i postępującego charakteru powinna skłaniać badaczy do poszukiwania takich właśnie narzędzi diagnostycznych, jakimi w opinii autorów pracy mogłoby stać się rutynowe stosowanie pomiarów NGAL w moczu. Brak wyraźnego momentu rozpoczęcia DMt2, nierzadko zbyt długi okres czasu do jej rozpoznania i podjęcia leczenia, wymaga wdrożenia właściwego narzędzia do oceny progresji CChN. Ustalenie wartości wyjściowej uNGAL i ocena wielkości uNGAL/uCr, a następnie monitorowanie zmiany ich stężenia podczas okresowego badania kontrolnego prowadzonego w Poradni Nefrologicznej może znacząco przyczynić się do obniżenia liczby pacjentów kierowanych w przyszłości do leczenia nerkozastępczego z powodu powikłań DMt2.

Piśmiennictwo

- Collins AJ, Foley RN, Herzog Ch, et al. United States Renal Data System 2012 Annual Data Report: Atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in United States. *Am J Kidney Dis* 2013; 62: 1023-1230.
- Szurkowska M, Szybiński Z, Nazim A, i wsp. Chorobowość z powodu cukrzycy typu 2 w populacji Krakowa. *Pol Arch Med Wewn* 2001; 106: 771-779.
- Chou KM, Lee CC, Chen CH, et al. Clinical value of NGAL, L-FABP and albuminuria in predicting GFR decline in type 2 diabetes mellitus patients. *PLOS One* 2013; 8: e54863.
- Al-Refai AA, Tayel SI, Ragheb A et, al. 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: 37-46.
- National Kidney Fundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39: 1-266.
- Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2010. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Praktyczna* 2010; 11: supl. A.
- Helanova K, Spinar J, Parenica J. Diagnostic and prognostic utility of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in patients with cardiovascular disease -review. *Kidney Blood Press Res* 2014; 39: 623-629.
- Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2534-2543.
- Yang YH, He XJ, Chen SR, et al. Changes of serum and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in type-2 diabetic patients with nephropathy: one year observational follow-up study. *Endocrine* 2009; 36: 45-51.
- Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker of nephropathy in diabetic patients. *Kidney Blood Press Res* 2009; 32: 91-98.
- K/DOQI clinical practice guidelines and clinical practice recommendation for diabetes and chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2007; 49: 12-154.
- Fu WJ, Xiong S, Fang Y, et al. Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. *Endocrine* 2012; 41: 82-88.
- Wu J, Ding Y, Zhu C, et al. Urinary TNF- α and NGAL are correlated with the progression of nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Exp Ther Med* 2013; 6: 1482-1488.
- Gala-Błądzińska A, Kuźniowski M. Oznaczanie lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) w praktyce klinicznej. *Przegl Lek* 2013; 70: 400-403.
- Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 337-344.
- Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Sitniewska E, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in non-diabetic patients with stage 2-4 chronic kidney disease. *Ren Fail* 2008; 30: 625-628.
- Nishida M, Kawakatsu H, Okumura Y, et al. Serum and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in children with chronic renal disease. *Pediatr Int* 2010; 52: 563-568.
- Helmerson-Karlqvist J. Day-to-day variation of urinary NGAL and rational for creatinine correction. *Clin Bioch* 2013; 46: 70-72.
- KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Inter* 2013; 3.
- Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego. *Diabetologia Kliniczna* 2014; 3: supl. A.
- Haase M, Bellomo R, Haase-Fielitz A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16: 526-532.
- Hall IE, Yarlagadda SG, Coca SG, et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after Sidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 189-197.
- Hirsch R, Dent C, Pfrim H et al. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 2089-2095.
- Grigoryev DN, Liu M, Hassoun HT, et al. The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 547-558.
- Gall MA, Nielsen FS, Schmidt UM, et al. The course of kidney function in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetologia* 1993; 36: 1071-1078.
- Moorhead JF, El-Nahas M, Chan MK, et al. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubule-interstitial disease. *Lancet* 1982; 320: 1309-1311.

Adres do korespondencji:

dr hab. n. med. Beata Kuśnierz-Cabala
Zakład Diagnostyki Katedra Biochemii Klinicznej
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
31-501 Kraków, ul. Kopernika 15A
Tel. +48 12 424 8365
email: mbkusnie@cyf-kr.edu.pl

Zaakceptowano do druku: 30.06.2015

