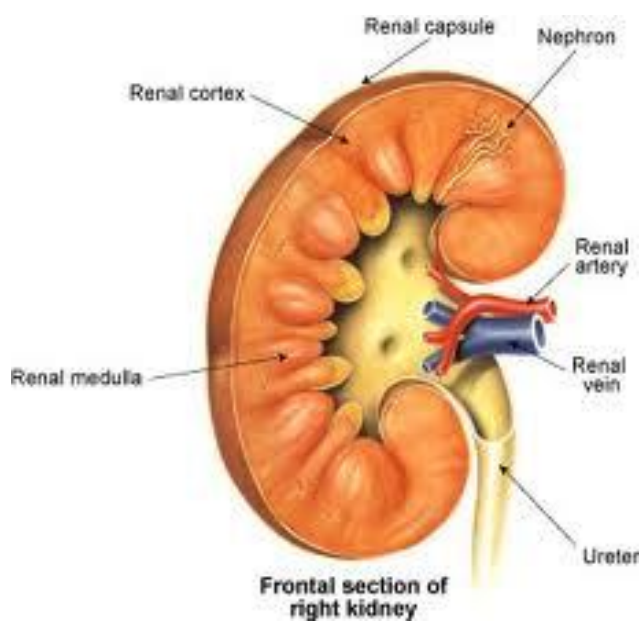


NGAL

و

تشخیص سریع آسیب حاد کلیوی



کمیته علمی - پژوهشی آزمایشگاه مرکزی فردیس

بیماری های کلیوی از جمله شایع ترین بیماری ها در دنیا محسوب می شوند که برای درمان مناسب آنها ، نیازمند تشخیص به موقع و زود هنگام می باشیم. اگر تشخیص به موقع این بیماری صورت نگیرد کارکرد کلیه مختل می گردد. شیوع بیماری در بسیاری از کشورها در حال افزایش بوده و پیامد های وخیم و هزینه های بالای درمانی را به دنبال دارد.

آسیب حاد کلیوی (Acute Kidney Injury) مسئله مهم بالینی در بزرگسالان و کودکان بستری در بیمارستان می باشد. زیرا یکی از عوامل ایجاد کننده آسیب حاد کلیوی جراحی قلب باز است. سالانه میلیون ها جراحی از این نوع بر روی بزرگسالان انجام می گردد. حدود ۳۰-۵۰ درصد از بزرگسالان و تقریباً ۲۰-۵ درصد از کودکان به آسیب حاد کلیوی مبتلا می شوند که بیش از ۵ درصد آن ها نیازمند دیالیز می باشند. نارسایی حاد کلیوی معمولاً بی علامت بوده و هنگامی تشخیص داده می شود که در جریان غربالگری بیوشیمیایی بیماران بستری در بیمارستان، افزایش غلظت اوره و کراتینین مشاهده می گردد. سطح کراتینین سرم خون به دنبال آسیب حاد کلیوی با تاخیر افزایش می یابد ، همچنین استفاده از تست کراتینین معیبه نیز به همراه دارد که عبارتند از: ۱-غلظت کراتینین سرم به طور وسیعی متناسب با سن، جنس، وزن ماهیچه، متابولیسم ماهیچه و تجویز دارو تغییر می کند. ۲-حساسیت و افزایش غلظت آن تنها در زمان پیشرفت بیماری ظاهر می شود و کاهش میزان فیلتراسیون گلومرولی، ترشح توبولی کراتینین را تشدید می نماید. ۳- تغییرات حاد فیلتراسیون گلومرولی ، کراتینین سرم تا زمانی که به تعادل پایه نرسیده باشد (که معمولاً ۲ تا ۳ روز بعد از شروع آسیب رخ می دهد) به درستی نمی توان کارکرد کلیه را پیشگویی نماید. لذا تشخیص تاخیری با این روش همراه با از بین رفتن درصد قابل توجهی از کارایی کلیه ها خواهد بود.

امروزه با روش های مولکولی چندین بیومارکر مولکولی شناخته شده که می توانند آسیب حاد کلیوی را در مراحل اولیه تشخیص دهند. برخی از این بیومارکر ها عبارتند از:

Interleukin 18:

اینترلوکین ۱۸ یک سایتوکاین التهابی با وزن مولکولی ۱۸ کیلودالتون از توبول پروکسیمال کلیه به دنبال آسیب حاد کلیوی ترشح می شود. این مارکر در نارسایی حاد کلیوی ۲ روز قبل از کراتینین افزایش می یابد. در حالی که در نارسایی مزمن کلیه، عفونت دستگاه ادراری، ازوتمی پیش کلیوی و سندرم نفروتیک افزایش نمی یابد. همچنین در بیمارانی که تحت عمل جراحی قلب قرار گرفته اند این بیومارکر ۱۲ ساعت پس از جراحی افزایش می یابد. در نتیجه IL-18 یک مارکر زود هنگام جهت تشخیص AKI می باشد. هرچند IL-18 در شرایط التهابات سیستمیک، آسیب های ایمنولوژیکی و بعضی از مسمومیت های دارویی افزایش می یابد.

Kidney Injury molecule 1 (KIM 1):

KIM 1 گلیکوپروتئین غشایی است که در سلول های آسیب دیده اپیتلیال توبول پروکسیمال کلیوی بیان می شود. در حالت نرمال کلیه این پروتئین را ترشح نمی کند. در کلیه آسیب دیده، KIM1 mRNA به سرعت بیان می گردد و پروتئین به میزان بالایی بر روی غشاء توبول پروکسیمال لوکالیزه می شود. در نتیجه ویژگی KIM 1 از مارکر های دیگر جهت AKI بیشتر است زیرا فقط در کلیه ترشح می گردد. KIM 1 در نارسایی مزمن کلیه، بیماری های فیروتیک و پلی کیستیک کلیه، پروتئینوری مزمن، نفروتوکسیته دارویی مانند جنتامایسین، سیس پلاتین، کادمیوم و کروم افزایش می یابد.

Liver fatty acid binding protein (L-FABP):

L-FABP پروتئین از اعضای یک خانواده بزرگ از پروتئینهای متصل شونده به لیپید با وزن مولکولی ۱۴ کیلودالتون هستند که از بافت کبد استخراج شده است. این پروتئین به میزان زیاد در قلب و کبد (به دلیل فعال بودن متابولیسم اسید های چرب در این بافت ها) و به میزان کمتر در توبول های نزدیک کلیه، پانکراس، روده کوچک، ژژنوم و ایلئوم بیان می گردد. اسید های چرب پس از عبور از غشاء سلول و بدلیل غیر محلول بودن در محیط آبکی سیتوپلاسم بایستی به FABP مورد نظر متصل شده و به ارگانلهای داخل سلول حمل

شوند. کمپلکس البومین-اسید چرب بلند زنجیره از گلوامرول کلیه عبور نموده و در لوله های نزدیک کلیه باز جذب می شود. در سیتوزول سلول توبولی این کمپلکس به آلبومین و اسیدچرب آزاد تجزیه می گردد. در نتیجه این پروتئین در توبول های پروکسیمال، مسئول اتصال، انتقال و تسهیل متابولیسم اسیدهای چرب (FFA) می باشد. اسیدهای چرب آزاد بلند زنجیره که در اثر ایسکمی ناشی از عوامل مختلف از جمله جراحی قلب باز افزایش یافته اند به راحتی در سیتوزول پراکسیده شده و می توانند استرس های اکسیداتیو یا فاکتورهای التهابی داخل سلول را فعال کنند که مولد اثرات سمی و آسیب به ناحیه بین توبولی هستند. از طرفی میزان پروتئین متصل شونده به اسیدهای چرب برای اتصال به این محصولات زیاد شده و با هم به داخل ادرار ترشح می گردد. در نتیجه ایزوفرم مذکور می تواند به عنوان یک آنتی اکسیدان عمل نماید. میزان این پروتئین ۴ ساعت پس از آسیب کلیوی ناشی از جراحی قلب افزایش می یابد. بنابراین وجود این بیومارکر در ادرار، شاخص مناسبی برای ارزیابی سمیت کلیه و پیشرفت بیماری کلیوی می باشد.

سیستاتین C:

سیستاتین C پروتئینی با ۱۲۲ اسیدآمینو و وزن مولکولی ۱۳ کیلودالتون، یک مهارکننده سیستئین پروتئیناز بوده و توسط سلول های هسته دار بدن تولید و در اغلب مایعات بدن نظیر پلاسما، شیر و مایع مفصلی یافت می شود. سیستاتین C با وزن مولکولی پایین و بار مثبت از غشای گلوامرولی آزادانه عبور کرده و در توبول پروکسیمال باز جذب و فقط مقدار مازاد آن از طریق ادرار دفع می گردد. سیستاتین C برخلاف کراتینین تحت تاثیر سن، جنس، رژیم غذایی و توده عضلانی بدن قرار نمی گیرد. این تست زمانی که فرد مظنون به بیماری کلیوی در مراحل اولیه است و یا دچار یک بیماری مانند دیابت، فشار خون بالا و اختلالات قلبی و عروقی است که می تواند به طور ثانویه کلیه ها را درگیر کند درخواست می شود.

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)

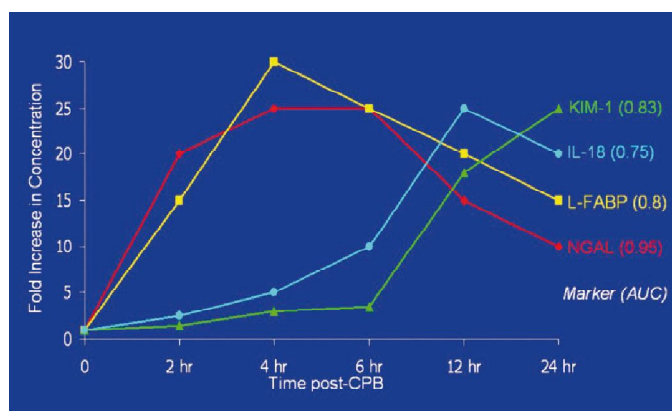
لیپوکالین همراه با ژلاتیناز نوتروفیلی (NGAL) به خانواده لیپوکالین ها تعلق دارد. این پروتئین ها، پروتئین های ترشحی کوچکی هستند که توانایی اتصال به ملکول های کوچک و هیدروفوبیک را دارند و تولید کمپلکس های ماکرومولکولی می کنند. همچنین بسیاری از لیپوکالین ها به رسپتورهای خاصی در سطح برخی سلول ها اتصال می یابند، اما هنوز رسپتور اختصاصی NGAL ها شناسایی نشده اند. NGAL نام های مختلفی دارد این ماده به لیپوکالین نوتروفیلی (NL) که فرم انسانی آن (HNL)، لیپوکالین ۲، انکوژن پروتئین 24p33 و یوتروکالین (Uterocalin) در موش و Neu-related لیپوکالین در رات معروف است. NGAL انسانی شامل یک زنجیره پلی پپتیدی با یک پیوند دی سولفیدی و ۱۷۸ آمینواسید با وزن مولکولی ۲۲ کیلودالتون می باشد و با گلیکوزیله شدن، وزن آن تا ۲۵ کیلودالتون افزایش می یابد. در نوتروفیل ها و ادرار به صورت مونومر (به میزان کم به صورت دی یا تریمر) دیده می شود. همچنین این مولکول به صورت کمپلکس با کلاژن نوع چهارم، نوتروفیلی که ژلاتیناز B یا متالوپروتئیناز ۹ ماتریکس (Matrix) Metalloproteinase-9 نامیده می شود، نیز دیده می شود. NGAL انسانی اولین بار از نوتروفیل های فعال شده بدست آمد. اما به میزان کم در سایر بافت ها مانند: کلیه، پروستات و سلول های اپیتلیال دستگاه گوارش و سیستم تنفسی نیز ظاهر می شود؛ NGAL در آدنوماها و سلول های ملتهب روده، آدنوکارسینومای سینه و کارسینومای سلول های اپیتلیال دستگاه ادراری دیده می شود. به دلیل اندازه مولکولی کوچک و مقاومت به تخریب به راحتی در ادرار ترشح شده و هم به فرم آزاد و هم به فرم کمپلکس با MMP-9 قابل ردیابی می باشد. علی رغم عوامل مختلفی که باعث افزایش آن می شوند سطح ادراری NGAL با میزان سرمی آن رابطه مستقیم دارد. اما به طور مشخص افزایش میزان آن در ادرار می تواند با کارسینوم های یورتلیال یا لوله های کلیوی، ارتباط داشته باشد. در حالی که عملکرد NGAL هنوز کاملاً مشخص نشده است، به نظر می رسد تولید آن در سلول تحت استرس مانند: عفونت، التهاب، ایسکمی، تغییرات نئوپلاستیک و یا در برخی بافتهایی که بعضی عملکرد طبیعی را پشت سر گذاشته اند مثل رحم پس از زایمان (درموش)، و غدد پستانی در زمان شیر دهی افزایش می یابد. همچنین NGAL خاصیت ضد باکتریایی دارد، به طوری که این ماده به انتروباکتین (Enterobactin) و سایر سیدروفورها متصل گشته و باکتری ها را از آهن سه ظرفیتی که ماده غذایی اساسی رشد باکتریها می باشد، محروم می سازد.

NGAL در عفونت، التهابی و نئوپلازی:

NGAL از گرانول های ثانویه نوتروفیل های فعال شده تولید می گردد و سطح پلاسمایی آن در موقع التهاب یا عفونت به ویژه در عفونت های باکتریایی افزایش می یابد. به طور مثال در بیماران سپسیس و مبتلا به عفونت های ریوی میزان نوتروفیل افزایش می یابد در نتیجه NGAL از ایتلیوم دستگاه تنفس رها می شود. بنابراین سطح NGAL در پلاسما می تواند مارکر عفونت باشد و در بیمارانی که مشکل کلیوی ندارند نیز بالا باشد. NGAL در هنگام جراحی های قلبی و آرترواسکلروتیک بر اثر التهاب از اندوتلیوم دهلیزی و ماهیچه های صاف آزاد می شود، و به سرعت از کلیه ها دفع و وارد ادرار می گردد. از آنجایی که سطح آن در بیماری های نئوپلاستیک، آدنوکارسینوما و اختلالات کلیوی مستقل از عفونت افزایش می یابد، بایستی در تفسیر این افزایش دقت شود. افزایش NGAL در عفونت هایی که با میزان بسیار پایین (غیر قابل شمارش) نوتروفیل ها همراه است نشان می دهد که دلیل افزایش سطح NGAL، منابعی غیر از نوتروفیل ها می باشد.

NGAL و کلیه:

قبل از اینکه نوع NGAL انسانی، از نوتروفیل ها جداسازی گردد؛ همولوگ موشی آن به نام 24p3، مترشح از سلول های کلیوی شناخته شده بود که در پاسخ به عفونت ویروسی SV 40؛ ۱۴ تا ۲۰ بار بر امکان بروز آن افزوده می شد. افزایش بیش از حد آن، در سلول های لوله پروکسیمال، در رت دیده شد و مشخص گردید که سطح افزایش یافته NGAL در پلاسما با کاهش عملکرد کلیوی در اثر واسکولیت سیستمیک، رابطه مستقیمی دارد. پس از آن مشخص شد که پس از بازسازی های ضایعات ایسکمیک، سطح آن افزایش می یابد و افزایش آن در هنگام تماس با مواد نفروتوکسیک بیشتر می شود. در مطالعات مشخص گردیده، سطح NGAL ادراری در کودکان مبتلا به سندرم همولیتیک-اورمیک و همچنین پس از بای پس قلبی ریوی، زودرس ترین علامت و مارکر ایسکمی است و آن را می توان یک پروگنوز برای آسیب کلیوی در نظر گرفت. همچنین افزایش همزمان سطح سرمی و ادراری NGAL در بیماران با اختلالات کلیوی ثابت شده است. در بیماران پیوندی مقدار ادراری NGAL عملکرد کلیوی را نشان می دهد که به راحتی با تکنیک وسترن بلات قابل ردیابی است. در حالی که سطح پلاسمایی و سرمی افزایش یافته NGAL با موارد حاد رابطه مستقیم دارد انتظار می رود در موارد ضایعات ایسکمیک؛ سطح آن بیشتر از سایر موارد مانند: اختلالات حاد عملکرد کلیوی، نکرور توبولار حاد یا نفروپاتی توبولواینترشیالی افزایش می یابد. NGAL به عنوان مارکر کلیوی در مقایسه با کراتینین و سیستاتین C از ارزش بالاتری برخوردار است. زیرا NGAL، ۲ ساعت بعد از PCI (percutaneous coronary intervention) افزایش و ۴ ساعت بعد به حداکثر مقدار خود می رسد و ۸ ساعت بعد در ادرار افزایش می یابد، این در حالی است که کراتینین ۴۸ ساعت و سیستاتین C ۲۴ ساعت بعد افزایش می یابد.



نمودار افزایش بیومارکرهای ادراری در هنگام آسیب حاد کلیوی بعد از جراحی بای پس قلبی ریوی

نتیجه گیری:

از آنجایی که بیماری کلیوی شایع بوده و به طور خاموش تا مراحل پیش رفته پیش می رود، غربالگری بیماری کلیوی ضروری است و در صورت عدم غربالگری و مداخله، بیمار از آسیب بدون علائم بالینی کلیوی تا مرگ رنج می برد. لذا به نفرولوژیست ها و متخصصین بیماری های داخلی پیشنهاد می گردد برای سهولت تشخیص سریع و آسان بیومارکر های ذکر شده را در نظر داشته باشند. زیرا این بیومارکر ها به راحتی در سرم و ادرار بیماران قابل تشخیص اند و نمونه گیری روشی غیر تهاجمی است و برای بیمار ساده و راحت است. همچنین از حساسیت بالایی در تشخیص اولیه برخوردارند و در آسیب حاد کلیوی اختصاصی می باشند، به طوری که شدت و علت آسیب حاد کلیوی را می توانند تشخیص دهند. اگرچه آزمایش هر کدام از این مولکول ها دارای معایب و محاسنی می باشد، ولی انتخاب یکی از آن ها برای تشخیص، بایستی با دقت انجام گیرد.

منابع:

- 1- Prasad Devarajan. Emerging biomarkers for Acute Kidney Injury. CLI April/May 2009
- 2- L. O. Utenthal. NGAL: how useful is the new marker of kidney damage? CLI April 2007
- 3- Utenthal LO. NGAL: a marker molecule for the distressed kidney? Clin Lab Internat November 2005; 29(7): 39-41
- 4- Mishra J *et al.* Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal innjury after cardiac surgery. Lancet 2005; 365(9466): 1231-1238.
- 5- L. O. Utenthal, NGAL: a marker molecule for the distressed kidney? CLI November 2005
- 6- Wagener G *et al.* Association between increases in urinary neutrophil gelatinaseassociated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. Anesthesiology 2006; 105: 485-491.
- 7- Hemdahl AL *et al.* Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction. Arterioscler. Thromb Vasc Biol 2006; 26: 136-142.
- 8- Wenqian Huo, Keqin Zhang. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel kidney-specific injury molecule playing potential double-edged functions in kidney injury, Transplantation Reviews 24 (2010) 143–146



آزمایشگاه مرکزی فردیس

(مجتمع تخصصی)

کلینیکال - آناتومیکیال

FARDIS CENTRAL LAB

(Specialty Complex)

Clinical – Anatomical

کرج ، فردیس ، فلکه دوم ، خیابان پانزدهم ، پلاک ۳۵

تلفکس : ۰۵-۳۶۵۴۱۹۰۰

WWW.fardislab.com

info@fardislab.com

تهیه شده در کمیته علمی پژوهشی

آزمایشگاه مرکزی فردیس