

Received: 2015.11.16  
Accepted: 2016.02.23  
Published: 2016.04.18

## KIM-1 i NGAL jako potencjalne biomarkery w diagnostyce i rozwoju procesu nowotworowego

### KIM-1 and NGAL as potential biomarkers for the diagnosis and cancer progression

Zofia Marchewka<sup>1</sup>, Aneta Tacik<sup>1</sup>, Agnieszka Piwowar<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Zakład Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,

<sup>2</sup>Pracownia Markerów Nefrotoksyczności Środowiskowej

#### Streszczenie

Na podstawie przeglądu piśmiennictwa przedstawiono dane wskazujące, że KIM-1 i NGAL są interesującymi i obiecującymi biomarkerami nie tylko w ostrych i przewlekłych procesach zapalnych, lecz również w onkogenezie. Prowadzone są liczne badania nad możliwościami wykorzystania ich zarówno w diagnostyce, jak i zwalczaniu nowotworów oraz monitorowaniu skuteczności terapii. Wyniki dotychczasowych badań naukowych sugerują, że mogą mieć istotne znaczenie w standardach onkologicznych. Jednoczesne oznaczanie KIM-1 i NGAL w moczu może odegrać główną rolę w ocenie kancerogenezy i progresji raka oraz stanowić szybki wskaźnik diagnostyczny, pozwalający określić podtyp nowotworu, zastąpić biopsję i usprawnić terapię. W pracy, oprócz charakterystyki biochemicznej KIM-1 i NGAL, przedstawiono ich rolę zarówno w diagnostyce jak i ocenie rozwoju procesu nowotworowego.

**Słowa kluczowe:**

**biomarkery • KIM-1 • NGAL • nowotwory**

#### Summary

On the basis of scientific literature, there is growing evidence that KIM-1 and NGAL are interesting and promising biomarkers not only in acute and chronic inflammatory processes but also in oncogenesis. There are a number of studies which investigate their possible use in diagnosis, treatment and monitoring of therapy effectiveness. The results of recent research suggests that they may play an important role in standard oncology practice. Simultaneous measurement of KIM-1 and NGAL in urine can play a crucial role in carcinogenesis assessment and cancer progression. In the future, they can become rapid diagnostic indicators, which allow one to determine cancer subtype leading to biopsy replacement and therapy improvement. In the present work, beside biochemical characteristics of KIM-1 and NGAL, we will also discuss their role in the diagnosis and assessment of development of cancer.

**Keywords:**

**biomarkers • KIM-1 • NGAL • cancers**

|                       |   |
|-----------------------|---|
| <b>Full-text PDF:</b> | <a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1199716">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1199716</a> |
| <b>Word count:</b>    | 3950  |
| <b>Tables:</b>        | –   |
| <b>Figures:</b>       | 2   |
| <b>References:</b>    | 41  |

**Adres autorki:** dr Zofia Marchewka, Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Borowska 211, 50-556 Wrocław; e-mail: zofia.marchewka@umed.wroc.pl

## WPROWADZENIE

Zarówno KIM-1 (kidney injury molecule-1), cząsteczka-1 uszkodzenia nerek, jak i NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin), lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą, są od niedawna stosowanymi biomarkarami uszkodzenia nerek. Ich funkcja biologiczna nie jest w pełni poznana. Są niewykrywalne w zdrowej nerce, ani w moczu. W odpowiedzi na stany zapalne lub uszkodzenie kanalików nerkowych następuje wzmożona ich ekspresja i synteza, zwłaszcza w segmencie S3 kanalika proksymalnego. Ekspresja NGAL, podobnie jak KIM-1, jest pobudzana przez uszkodzone komórki nabłonka. Dlatego są to wczesne, nieinwazyjne markery uszkodzenia nerek wykrywane jeszcze przed rozwinięciem się pełnoobjawowej choroby. Przez zdolność oddziaływania z innymi cząsteczkami mogą tworzyć ochronny film na powierzchni komórek i dzięki temu modulować procesy związane z uszkodzeniem i naprawą.

## CHARAKTERYSTYKA BIOCHEMICZNA KIM-1

KIM-1 to glikoproteina transbłonowa typu pierwszego, która w części zewnątrzkomórkowej ma domenę immunoglobulinową zawierającą 6 cząsteczek cysteiny oraz domenę mucynową bogatą w treoninę, serynę i prolinę [12]. Glikoproteina jest umiejscowiona przede wszystkim na szczytowej powierzchni kanalika proksymalnego nefronu w zewnętrznej warstwie rdzenia. Z udziałem metaloproteinaz domena zewnątrzkomórkowa jest odszczepiana i wydzielana do moczu [15]. Rozpuszczalna KIM-1 ma masę cząsteczkową około 90 kDa [27]. Podczas prawidłowego funkcjonowania nerek KIM-1 jest białkiem niewykrywalnym. Niedokrwienie kanalików nerkowych bądź ich uszkodzenie wskutek obecności czynników nefrotoksycznych indukuje jego ekspresję i syntezę, dlatego właśnie ta cząsteczka jest ilościowym biomarkerem uszkodzenia nerek [5].

## ROLA KIM-1 W DIAGNOSTYCE NEREK

W czasie ostrego uszkodzenia nerek, w wyniku ich niedokrwienia w kanalikach nerkowych są obecne liczne martwe komórki, które często przyczyniają się do zaccopowania światła kanalików. KIM-1 jest receptorem zmiataczowym, który pozwala komórkom nabłonka występującym w proksymalnej części kanalika nerko-

wego rozpoznawać i fagocytować martwe komórki lub ich fragmenty. Przez oczyszczanie kanalików z resztek komórkowych KIM-1 wpływa na ograniczenie odpowiedzi immunologicznej [18,40].

Potencjalna rola KIM-1 jako biomarkera w różnych stanach patologicznych nerek jest wciąż intensywnie badana, a w wielu analizach wykazano, że KIM-1 jest czułym i swoistym markerem uszkodzenia kanalika proksymalnego [16,27]. Obecnie prowadzi się wiele badań nad KIM-1 pod względem przydatności we wczesnym diagnozowaniu ostrego uszkodzenia nerek (acute kidney injury; AKI). Jest to stan patologiczny, w którym dochodzi do ostrej apoptozy komórek kanalików nerkowych [24,39]. Klasyczne metody diagnostyczne opierające się na pomiarze zmian stężenia kreatyniny w surowicy i azotu mocznikowego we krwi są użytecznym sposobem oceniania etapów rozwoju tej choroby, natomiast nie są odpowiednie do wczesnego jej wykrywania [38].

Perspektywy zastosowania tego białka nie ograniczają się tylko do diagnozowania ostrej niewydolności nerek. Istnieją badania wykazujące użyteczność KIM-1 w diagnozowaniu i monitorowaniu przewlekłych chorób nerek, ocenianiu funkcjonowania przeszczepionej nerki oraz diagnostyce chorób nowotworowych związanych z tym narządem [25,32].

## ROLA KIM-1 W DIAGNOSTYCE I ROZWOJU PROCESU NOWOTWOROWEGO

Zhang i wsp. wykazali, iż w raku jasnokomórkowym nerki, wywodzącym się z kanalika proksymalnego, występuje zwiększone (około trzykrotnie) stężenie tkankowe i moczowe KIM-1 w stosunku do wartości fizjologicznych. W guzach rozwijających się z komórek kanalika dystalnego - rak chromofobowy lub onkocytoma, nie stwierdzono zwiększonej ekspresji tego biomarkera. Zaobserwowano jego istotny spadek po nefrektomii, co sugeruje, że za jego wzrost są odpowiedzialne komórki nowotworowe [41].

Istnieją badania świadczące o przydatności jednoczesnego oznaczania stężenia KIM-1 oraz białka NGAL w moczu w celu określenia typu histopatologicznego raka nerkowokomórkowego. Stwierdzono różne stężenia tych białek w moczu w zależności od rodzaju zmian

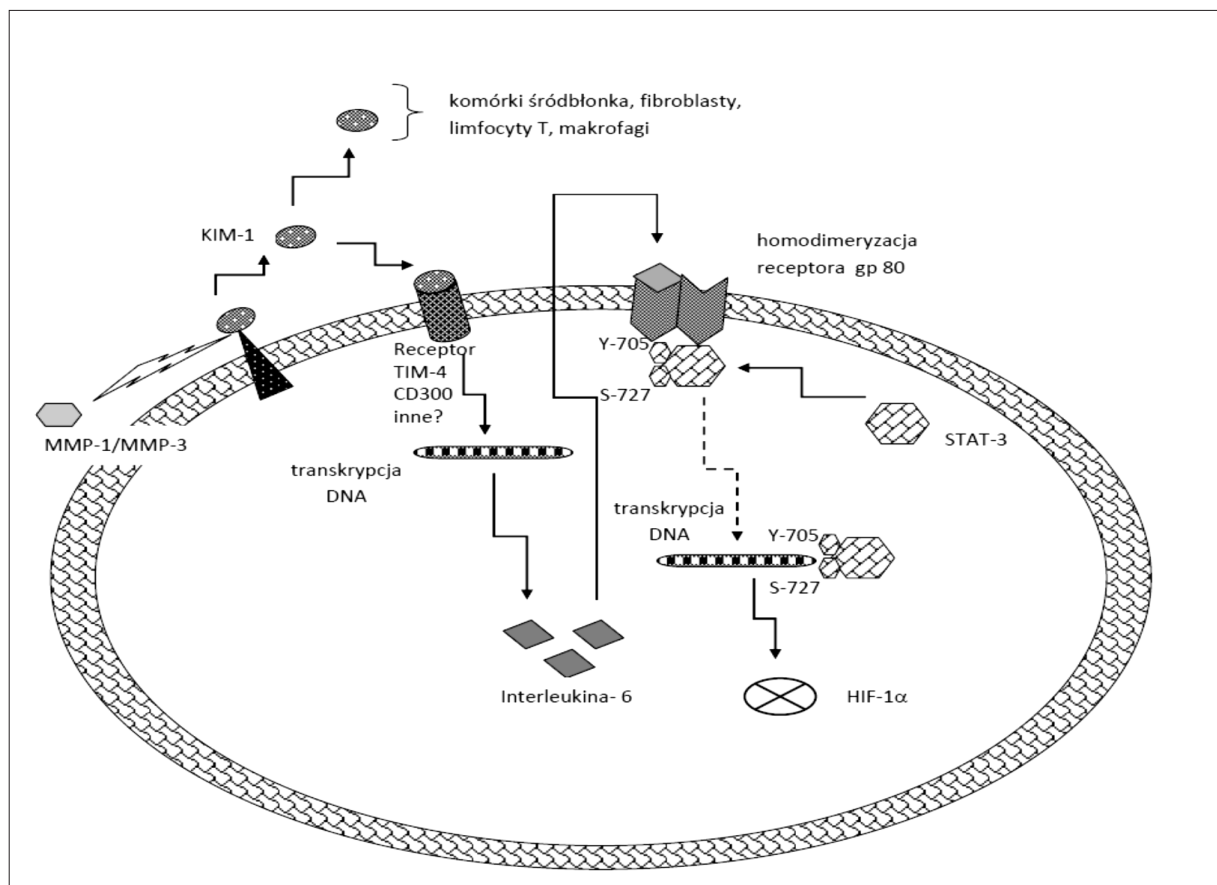
nowotworowych. Na przykład w najczęściej spotykanym raku jasnokomórkowym, u 91,6% badanych stężenie KIM-1 w moczu sięgało 50 ng/mg<sub>Cr</sub> (ng/mg kreatyniny) a NGAL wzrastało do 5 ng/mg<sub>Cr</sub>, natomiast w raku brodawkowatym stężenie KIM-1 w moczu było poniżej 2 ng/mg<sub>Cr</sub>, a stężenie białka NGAL wzrastało nawet powyżej 50 ng/mg<sub>Cr</sub>. Zależność jaką stwierdzono między stężeniami tych dwóch potencjalnych biomarkerów być może będzie w przyszłości pomocna w określaniu typu raka nerkowokomórkowego [34].

Tkankowa ekspresja KIM-1 jest również wykrywalna w przebiegu nowotworów niewywodzących się z komórek nerki. W przebiegu jasnokomórkowego raka jajnika zwiększoną syntezę KIM-1 stwierdzono u 93,8% pacjentek, natomiast w jasnokomórkowym raku macicy u 33% kobiet [23]. Wyniki wskazują, że stężenie KIM-1 może być wykorzystane również w wykrywaniu innych, niewywodzących się z komórek nerki nowotworów.

Sugeruje się, iż zwiększona ekspresja białka KIM-1 może również wpływać na inwazyjność nowotworów. Przeprowadzono badanie na liniach komórkowych, pochodzących z raka jasnokomórkowego (komórki 796-P i 786-O) modulując poziom ekspresji białka KIM-1 - aktywując lub wyciszając. Okazało się, że KIM-1 jest czynnikiem regulującym ekspresję wielu cząsteczek, m.in. może bezpośrednio wpły-

wać na stężenie IL-6. Wyniki eksperymentu wykazały, że w komórkach, w których aktywowano ekspresję KIM-1 stężenie IL-6 kształtowało się również na wyższym poziomie. Nie zaobserwowano tego w komórkach, w których dokonano wyciszenia genu KIM-1. Ponieważ IL-6 jest cytokiną uznawaną za jeden z głównych aktywatorów czynnika transkrypcyjnego STAT-3 (signal transducer and activator of transcription) zasugerowano, że KIM-1 może pośrednio promować rozrost tkanki nowotworowej. Molekularny mechanizm aktywacji czynnika STAT-3 przez IL-6 polega na jej połączeniu z receptorem wiążącym ligand gp80, co powoduje homodimeryzację receptora gp 130. Jest to przyczyną rekrutacji białka STAT-3 i jego następczej fosforylacji na tyrozynie -705 lub serynie -727, co jest jednoznaczne z jego aktywowaniem. Uznaje się, że aktywne białko STAT-3 wpływając na proces proliferacji komórek, ich apoptozę i angiogenezę wywiera działanie, które zwiększa inwazyjność guza. Przykładem pobudzanego przez STAT-3 białka proonkogenne jest HIF-1 $\alpha$  (hypoxia induced factor 1 $\alpha$ ), który promując angiogenezę współzawodniczy z STAT-3 w rozroście tkanki nowotworowej [30]. Przepuszczalny wpływ KIM-1 na rozwój procesu nowotworowego przedstawiono na rycinie 1.

Opisany mechanizm, w wyniku którego komórki nowotworowe zyskują większy potencjał proliferacyjny, wykazano na liniach komórkowych, lecz istnieje praw-



Ryc. 1. Przepuszczalny wpływ KIM-1 na rozwój procesu nowotworowego

dopodobieństwo, że zachodzi również w organizmie ludzkim. Argumentem przemawiającym za tą tezą są obserwacje, z których wynika, że prawie zawsze u pacjentów z przerzutami w zaawansowanym stadium raka nerkowokomórkowego występuje podwyższone stężenie IL-6 w surowicy oraz zwiększona gęstość receptorów tej cytokiny na komórkach guza [30]. Również w przebiegu innych nowotworów zaobserwowano taką zależność np. w raku piersi w ludzkich gruczołach sutkowych odnotowano podwyższone wytwarzanie IL-6, a w wyniku blokady szlaku aktywacji białka STAT-3 przez tę cytokinę zaobserwowano zmniejszenie pierwotnej agresywności nowotworu. W warunkach fizjologicznych aktywność białka STAT-3 jest ściśle kontrolowana. Konstytutywna aktywacja tego czynnika spowodowana np. nadmiernym pobudzeniem receptorów sygnalizacji wewnątrzkomórkowej przez cytokiny i czynniki wzrostu, występuje w wielu nowotworach u ludzi. Istnieją liczne doniesienia, według których deregulacja ekspresji STAT-3 jest przyczyną wystąpienia takich nowotworów jak rak żołądka, mózgu, piersi, płuca, trzustki, prostaty, czerniaka, a także chłoniaków, białaczek i szpiczaka mnogiego. Jednocześnie blokowanie białka STAT-3 jest przyczyną zahamowania wzrostu komórek nowotworowych. Ponadto w przypadku szpiczaka mnogiego czy raka piersi nadmierna fosforylacja cząsteczek STAT-3 została również powiązana z opornością komórek nowotworowych na chemioterapeutyki [10].

### CHARAKTERYSTYKA BIOCHEMICZNA NGAL

Lipokaina neutrofilowa związana z żelatynazą jest białkiem zewnątrzkomórkowym należącym do rodziny lipokain. Nazywana bywa również ludzką obojętno-chłoną lipokainą (HNC), lipokainą-2, 24p3, uterokaliną czy siderokaliną [26]. Lipokainy wykazują duże różnicowanie funkcjonalne. Biorą udział w procesach regulacji starzenia się komórek, ich różnicowaniu oraz modelowaniu odpowiedzi immunologicznej. Podobnie NGAL wpływa na wzrost, rozwój i różnicowanie różnych komórek w organizmie ludzkim [9,33]. Wspólną cechą lipokain jest podobna budowa drugo- i trzeciorzędowa oraz obecność w ich strukturach miejsca wiązania ligandów. NGAL może więc występować w postaci monomeru rzadziej dimeru lub w połączeniu z innymi cząsteczkami np. z metaloproteinazą-9 (matrix metalloproteinase-9; MMP-9) zwaną również żelatynazą B lub kolagenazą typu IV [7,8,29]. Ludzka NGAL występuje w ziarnistościach aktywowanych neutrofilów, w kanalikach proksymalnych nerek, prostatie oraz w tchawicy, żołądku i jelicie grubym. Zwiększone jej stężenie stwierdzono w przebiegu zakażeń bakteryjnych oraz stanów zapalnych. Uszkodzenie nabłonka jest czynnikiem, który potęguje ekspresję NGAL, co sugeruje, że białko to jest zaangażowane w pierwotną odpowiedź immunologiczną [8,11]. Białko ma właściwości bakteriostatyczne dzięki wysokiemu powinowactwu do sideroforów – białek bakteryjnych odpowiedzialnych za wychwyt ze środowiska żelaza. Żelazo jest pierwiastkiem niezbędnym do wzrostu bakterii, a uniemożliwienie jego poboru

z podłoża limituje wzrost drobnoustrojów [8]. W zależności od tego czy NGAL występuje w połączeniu z sideroforami i żelazem (holo-NGAL) bądź jako wolny czynnik (apo-NGAL) zidentyfikowano 2 typy receptorów, z którymi łączy się NGAL. Pierwszy z nich to białko o nazwie 24p3R. Po połączeniu się z receptorem holo-NGAL przenika do środka komórki, gdzie służy jako donor jonów żelaza, przez co wpływa na ekspresję genów zależnych od tego pierwiastka np. receptora transferyny. W przypadku połączenia apo-NGAL z receptorem 24p3R skutek jest przeciwny, czyli nadmierny wychwyt żelaza umiejscowionego wewnątrzkomórkowo oraz jego usuwanie z komórki, co może doprowadzić nawet do jej śmierci w wyniku indukcji apoptozy [3,33]. Drugim typem receptora jest multiligandowy receptor megaliny. Występuje głównie na powierzchni nabłonków, które mają dużą zdolność absorpcyjną np. w komórkach nabłonkowych kanalików nerkowych. NGAL jako mała cząsteczka odporna na degradację jest z łatwością przesączana zarówno w postaci monomeru jak i w połączeniu np. z MMP-9 przez komórki ramienia wstępującego pętli Henlego i cewki zbiorcze. Następnie jest w dużym stopniu wchłaniana zwrótnie w kanaliku proksymalnym w wyniku endocytozy zależnej od megaliny. Uszkodzenie kanalika proksymalnego zmniejsza reabsorpcję białka NGAL, co podwyższa jego stężenie w moczu [17,19,33]. Oprócz upośledzenia reabsorpcji zwrotnej w uszkodzonym nabłonku dochodzi do zwiększonej ekspresji białka NGAL. Przypuszcza się, że białko to przez dostarczanie do komórek nabłonka kanalików proksymalnych żelaza pobudza syntezę oksygenazy, która jest enzymem nefroprotektynym, pomagającym w odbudowie uszkodzonego kanalika. Wzmocniona ekspresja NGAL w tkankach w różnych stanach stresu jest więc mechanizmem, którego zadaniem jest pobudzenie systemów obronnych zależnych od żelaza. NGAL regulując wewnątrznerkowy metabolizm żelaza wpływa stymulująco na proliferację i odbudowę nabłonka [4,26].

### ROLA NGAL W DIAGNOSTYCE KLINICZNEJ

Ekspresja lipokainy-2 może zostać aktywowana wskutek uszkodzenia śródbrzońka oraz w odpowiedzi na toczący się stan zapalny. Jako białko ostrej fazy jest wydzielana przez neutrofile i makrofagi. W wyniku nadmiernego wytwarzania oraz niepełnej resorpcji może dochodzić do zwiększenia jej stężenia w moczu [14]. Niektórym stanom patologicznym np. ostremu uszkodzeniu nerek towarzyszy zmniejszenie funkcjonalności nefronów w wyniku czego następuje zmniejszenie klirensu nerkowego dla NGAL, co jest przyczyną jej akumulacji w surowicy [13]. Jednym z najczęstszych zastosowań klinicznych NGAL jest wczesna diagnostyka AKI. W stanach niedokrwienia nerek oraz posocznicy dochodzi do uszkodzenia cewek nerkowych. Ponieważ NGAL bierze udział w różnicowaniu i dojrzewaniu komórek mezenchymalnych w kierunku komórek nabłonkowych cewek nerkowych w tych stanach wzrasta stężenie lipokainy-2 [3,31]. W badaniu dzieci, które przeszły operację kardiologiczną z wykorzystaniem krążenia pozaustrojowego

wego wykazano, u części pacjentów, u których w wyniku tej operacji doszło do ostrego uszkodzenia nerek, podwyższone stężenie NGAL w surowicy i w moczu w stosunku do wartości referencyjnych już po 2 godzinach od zabiegu. Natomiast stężenie kreatyniny w moczu wzrosło dopiero po 1-3 dniach. Oznaczanie stężenia NGAL w porównaniu do stężenia kreatyniny umożliwia szybsze wdrożenie działań medycznych chroniących nerki - przez co pozwala zapobiec postępującemu uszkodzeniu. Dzięki badaniu ekspresji NGAL można również oceniać nefrotoksyczność niektórych leków np. cisplatyny lub środków cieniujących stosowanych w diagnostyce radiologicznej [13]. Ostatnio bada się również użyteczność NGAL w diagnostyce progresji przewlekłych chorób nerek np. nefropatii zaporowej, nefropatii IgA, idiopatycznym kłębuszkowym zapaleniu nerek, zespołem nerwowym czy w cukrzycowej chorobie nerek [3,13,31].

Ponieważ ekspresja białka NGAL wzrasta w obecności przewlekłego procesu zapalnego, ocenia się również jego zastosowanie jako biomarkera w przebiegu różnych zakażeń oraz chorób zapalnych. Wykazano, że jego stężenie w moczu wzrasta w przebiegu infekcji w obrębie układu moczowego jak i innych chorób, którym towarzyszy reakcja zapalna np. choroba Leśniowskiego-Crohna, miażdżyca czy zapalenie wątroby [1,2,6,13]. W wyniku badania przeprowadzonego u 506 pacjentów z sepsą zaobserwowano, że osoczowe stężenie lipokainy-2 wraz z białkiem C i receptorem IL-1 pozwalają na ocenę ryzyka uszkodzenia narządów wewnętrznych i śmierci u chorych z sepsą [8,13].

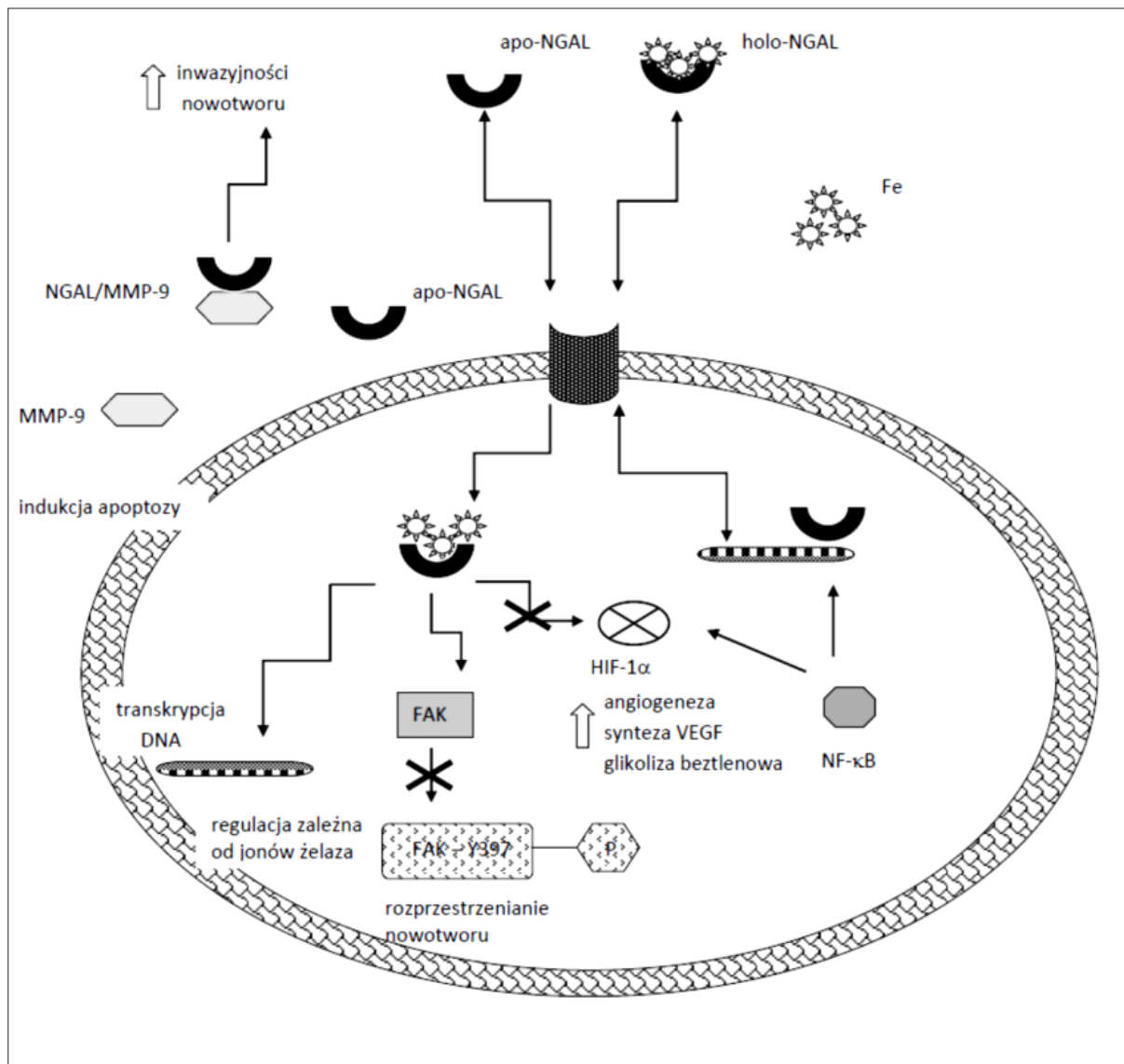
### **ROLA NGAL W DIAGNOSTYCE I ROZWOJU PROCESU NOWOTWOROWEGO**

Białko NGAL jest również szczegółowo badane jako potencjalny parametr pozwalający na udoskonalenie diagnostyki onkologicznej. Obecny stan wiedzy nie pozwala na umieszczenie tego potencjalnego biomarkera w aktualnych standardach diagnostyki nowotworowej, jednak wyniki licznych badań są obiecujące. Wykazano np., że stężenie NGAL w surowicy krwi jest lepszym wskaźnikiem pozwalającym na wykrycie raka żołądka na jego wczesnym etapie niż rutynowo stosowane biomarkery, takie jak CA19-9 czy antygen CEA. Głównym czynnikiem wpływającym na wystąpienie nowotworu żołądka jest zakażenie *Helicobacter pylori*. Bakteria ta syntezuje siderofory, a komórki gospodarza, chcąc chronić się przed zakażeniem wydzielają białko NGAL, które silnie wiąże białko bakterii hamując ich wzrost [7,8]. NGAL może odegrać ważną rolę nie tylko jako białko diagnostyczne, ale również prognostyczne. Okazało się, że średni czas przeżycia pacjentów cierpiących na różne nowotwory np. głowy i szyi, płuc, nerek, piersi, mózgu czy żołądka jest znacząco krótszy jeśli guz charakteryzuje się wzmożoną ekspresją mRNA białka NGAL [7,8]. W przypadku raka żołądka okresy te wynosiły: 35,6 miesięcy dla osób, których guz miał wysoką ekspresję NGAL i 54 miesiące dla osób z niską ekspresją tego białka [8]. Białaczka szpikowa jest wyjątkiem ponieważ wzmożona ekspresja lipo-

kainy-2 w jej przebiegu jest czynnikiem prognozującym lepszy wynik leczenia. Interesujący jest również to, że w przebiegu nowotworów uroepitelialnych odnotowuje się spadek stężenia NGAL-u w moczu pacjentów wraz z progresją choroby. Jednak dotychczas nie wyjaśniono przyczyn tej zależności [7,28].

Badania wykazały, że ekspresja białka NGAL wzrasta również w raku trzustki, raku wątrobowokomórkowym, raku okrężnicy oraz w brodawkowym, pęcherzykowym i anaplastycznym raku tarczycy [8]. Ponadto badając pacjentów cierpiących na nowotwory piersi i mózgu wykazano, że stężenie lipokainy-2 w ich moczu jest dużo wyższe niż u zdrowych osób. W raku piersi tkankowy poziom NGAL dodatkowo dodatnio korelował ze stopniem złośliwości choroby, potencjałem proliferacyjnym komórek nowotworowych oraz obecnością przerzutów do węzłów chłonnych. W przebiegu raka mózgu po chirurgicznym usunięciu guza stężenie NGAL w moczu ulegało normalizacji co sugeruje, że nowotwór był źródłem wzmożonej ekspresji tego białka [4,7]. Takie spostrzeżenia przemawiają za proonkogennym działaniem białka NGAL. W wyniku tworzenia kompleksów NGAL/MMP-9, białko NGAL ochrania żelatynazę B przed proteolityczną destrukcją przez co wydłuża i wzmacnia jej działanie enzymatyczne, które polega na degradacji struktur łącznotkankowego podścieliska oraz macierzy zewnątrzkomórkowej tkanek. Macierz zewnątrzkomórkowa to struktura organizacyjna, która zapewnia odpowiednie ułożenie komórek w tkance, tworzy dla nich fizjologiczne mikrośrodowisko oraz umożliwia względną izolację. Uszkodzenie macierzy w obrębie guza wiąże się ze zwiększeniem inwazyjności nowotworu, dyfuzją transformowanych komórek z pierwotnego miejsca występowania i tworzeniem przerzutów. Ten mechanizm nie wyklucza bardziej bezpośredniego działania białka NGAL, którego skutkiem byłoby aktywowanie wzrostu komórek nowotworowych [4,11,29].

Istnieją jednak badania wykazujące, że białko NGAL ma również antynowotworowe właściwości. Na przykład w nisko zróżnicowanym raku trzustki udowodniono, że NGAL bierze udział w hamowaniu angiogenezy w guzie oraz zmniejszaniu zdolności komórek raka do naciekania [36]. W przebiegu takich stanów patologicznych jak rak trzustki, wątrobowokomórkowy, jelita grubego czy jajnika zaobserwowano, że lipokaina-2 odgrywa rolę czynnika hamującego wystąpienia przerzutów nowotworowych [20,21,22,36]. W wyniku zwiększonej ekspresji białka NGAL wzrasta stężenie wewnątrzkomórkowego żelaza, które jest dostarczane do komórek w postaci kompleksu holo-NGAL. Zwiększone stężenie wewnątrzkomórkowego żelaza powoduje hamowanie czynnika transkrypcyjnego HIF-1 $\alpha$ . Aktywny czynnik HIF-1 $\alpha$  stymuluje proces angiogenezy oraz hamuje apoptozę promując tym samym przeżycie komórki w warunkach stresu. Czynnik ten wpływa więc na wzrost guza nowotworowego, a jego pośrednie hamowanie przez białko NGAL może być przyczyną zmniejszenia inwazyjności nowotworu [4,7]. Innym



Ryc. 2. Przypuszczalny wpływ NGAL na rozwój procesu nowotworowego

przypuszczalnym mechanizmem odpowiedzialnym za zahamowanie rozwoju tkanki nowotworowej może być blokowanie przez białko NGAL fosforylacji kinazy ogniskowo-adhezyjnej (FAK-focal adhesion kinase), co uniemożliwia jej aktywację. Białko FAK odpowiada za przekazywanie sygnału do wnętrza komórki, a jego biologiczna funkcja jest związana z regulacją cyklu komórkowego, zjawiskiem zakotwiczenia komórek w podłożu, procesem ich migracji i inwazyjności oraz występowaniem przerzutów. W wyniku fosforylacji tyrozyny-397 kinaza FAK zostaje pobudzona, łącząc się następnie z białkami z rodziny Src aktywuje kaskadę sygnałową Ras/MAP, która promuje migrację i proliferację komórek. Dowiedziono, że niewielka nadekspresja białka FAK występuje już w fazie preinwazyjnej nowotworu, natomiast w postaci inwazyjnej wyraźnie nasila się jego synteza [7,8,37]. Sugerowano również, że naskórkowy czynnik wzrostu (EGF-epidermal growth factor), znany

czynnik białkowy promujący rozwój guza nowotworowego, powoduje spadek ekspresji zarówno białka NGAL jak i kadheryn E. Być może jest to mechanizm tłumaczący jego właściwości biologiczne [35]. Przypuszczalny mechanizm wpływu NGAL na rozwój procesu nowotworowego przedstawiono na rycinie 2.

Przedstawione dane na podstawie przeglądu aktualnego piśmiennictwa wskazują na złożoną i zróżnicowaną rolę KIM-1 i NGAL w chorobach nowotworowych. Parametry te, zwłaszcza ich równoległe oznaczanie w materiale biologicznym, mogą mieć duże znaczenie w onkogenezie, a także w diagnostyce nowotworów. W przyszłości wykorzystanie przeciwciał przeciw KIM-1 i NGAL w terapii niektórych nowotworów może zapobiec przerzutom odległym. Dlatego konieczne jest kontynuowanie badań nad niewątpliwie ważną ich rolą w różnych nowotworach.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Boekhorst B.C., Bovens S.M., Hellings W.E., van der Kraak P.H., van de Kolk K.W., Vink A., Moll F.L., van Oosterhout M.F., de Vries J.P., Doevendans P.A., Goumans M.J., de Kleijn D.P., van Echteld C.J., Pasterkamp G., Sluijter J.P.: Molecular MRI of murine atherosclerotic plaque targeting NGAL: a protein associated with unstable human plaque characteristics. *Cardiovasc. Res.*, 2011; 89: 680-688
- [2] Bolignano D., Della Torre A., Lacquaniti A., Costantino G., Fries W., Buemi M.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in patients with crohn disease undergoing treatment with infliximab. *J. Investig. Med.*, 2010; 58: 569-571
- [3] Bolignano D., Donato V., Coppolino G., Campo S., Buemi A., Lacquaniti A., Buemi M.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. *Am. J. Kidney Dis.*, 2008; 52: 595-606
- [4] Bolignano D., Donato V., Lacquaniti A., Fazio M.R., Bono C., Coppolino G., Buemi M.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human neoplasias: a new protein enters the scene. *Cancer Lett.*, 2010; 288: 10-16
- [5] Bonventre J.V.: Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2009; 24: 3765-3268
- [6] Bu D.X., Hemdahl A.L., Gabrielsen A., Fuxe J., Zhu C., Eriksson P., Yan Z.Q.: Induction of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in vascular injury via activation of nuclear factor- $\kappa$ B. *Am. J. Pathol.*, 2006; 169: 2245-2253
- [7] Candido S., Maestro R., Polesel J., Catania A., Maira F., Signorelli S.S., McCubrey J.A., Libra M.: Roles of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human cancer. *Oncotarget*, 2014; 5: 1576-1594
- [8] Chakraborty S., Kaur S., Tong Z., Batra S.K., Guha S.: Neutrophil gelatinase associated lipocalin: structure. *Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin: Structure, Function and Role in Human Pathogenesis, Acute Phase Proteins - Regulation and Functions of Acute Phase Proteins*, Prof. Francisco Veas (Ed.), ISBN: 978-953-307-252-4, InTech. <http://www.intechopen.com/books/acute-phase-proteins-regulation-and-functions-of-acute-phase-proteins/neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin-structure-function-and-role-in-human-pathogenesis> (16.04.2015)
- [9] Clerico A., Galli C., Fortunato A., Ronco C.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as biomarker of acute kidney injury: a review of the laboratory characteristics and clinical evidences. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2012; 50: 1505-1517
- [10] Cuadros T., Trilla E., Sarró E., Vila M.R., Vilardell J., de Torres I., Salcedo M., López-Hellín J., Sánchez A., Ramón y Cayal S., Itarte E., Morote J., Meseguer A.: HAVCR/KIM-1 activates the IL-6/STAT-3 pathway in ccRCC and Determines Tumor Progression and Patient Outcome. *Cancer Res.*, 2014; 74: 1416-1428
- [11] Di Carlo A.: The enigmatic role of lipocalin 2 in human cancer. The multifunctional protein neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and its ambiguous role in human neoplasias, *Prevent Res. Public.* 2012; 12. <http://www.preventionandresearch.com/the-enigmatic-role-of-lipocalin-2-in-human-cancer-the-multifunctional-protein-neutrophil-gelatinase-associated-lipocalin-ngal-and-its-ambiguous-role-in-human-neoplasias.html> (24.03.2015)
- [12] Fontanilla J., Han W.K.: Kidney injury molecule-1 as an early detection tool for acute kidney injury and other kidney disease. *Expert Opin. Med. Diagn.*, 2011; 5: 161-173
- [13] Gala-Błądzińska A., Kuźniewski M.: Performance neutrophil gelatinase-associated lipocalin in clinical settings. *Przegląd Lek.*, 2013; 70: 400-403
- [14] Grigoryev D., Liu M., Hassoun H., Cheadle C., Barnes K., Rabb H.: The local and systemic inflammatory transcriptome after acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008; 19: 547-558
- [15] Guo L., Takino T., Endo Y., Domoto T., Sato H.: Shedding of kidney injury molecule-1 by membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *J. Biochem.*, 2012; 152: 425-432
- [16] Han W.K., Bailly V., Abichandani R., Thadhani R., Bonventre J.V.: Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int.*, 2002; 62: 237-244
- [17] Hvidberg V., Jacobsen C., Strong R.K., Cowland J.B., Moestrup S.K., Borregaard N.: The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil-gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake. *FEBS Lett.*, 2005; 579: 773-777
- [18] Ichimura T., Asseldonk E.J., Humphreys B.D., Gunaratnam L., Duffield J.S., Bonventre J.V.: Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells. *I. Clin. Invest.*, 2008; 118: 1657-1668
- [19] Kuligowska-Prusińska M., Odrowąż-Sypniewska G.: NGAL jako nowy marker w diagnostyce chorób nerek. *Abbott Voice*, 2009; 20: 8-12
- [20] Lee E.K., Kim H.J., Lee K.J., Lee H.J., Lee J.S., Kim D.G., Hong S.W., Yoon Y., Kim J.S.: Inhibition of the proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cells by lipocalin 2 through blockade of JNK and PI3K/Akt signaling. *Int. J. Oncol.*, 2011; 38: 325-333
- [21] Lee H.J., Lee E.K., Lee K.J., Hong S.W., Yoon Y., Kim J.S.: Ectopic expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin suppresses the invasion and liver metastasis of colon cancer cells. *Int. J. Cancer*, 2006; 118: 2490-2497
- [22] Lim R., Ahmed N., Borregaard N., Riley C., Wafar R., Thompson E.W., Quinn M.A., Rice G.E.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) an early-screening biomarker for ovarian cancer: NGAL is associated with epidermal growth factor-induced epithelio-mesenchymal transition. *Int. J. Cancer*, 2007; 120: 2426-2434
- [23] Lin F., Zhang P.L., Yang X.J., Shi J., Blasick T., Han W.K., Wang H.L., Shen S.S., Teh B.T., Bonventre J.V.: Human kidney injury molecule-1 (hKIM-1): a useful immunohistochemical marker for diagnosing renal cell carcinoma and ovarian clear cell carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2007; 31: 371-381
- [24] Lisowska-Myjak B.: Laboratoryjne wskaźniki ostrego uszkodzenia nerek oznaczane w moczu i w surowicy. *Forum Nefrologiczne*, 2010; 3: 71-81
- [25] Malyszko J., Koc-Zorawska E., Malyszko J.S., Mysliwiec M.: Kidney injury molecule-1 correlates with kidney function in renal allograft recipients. *Transplant. Proc.*, 2010; 42: 3957-3959
- [26] Marchewka Z.: Niskocząsteczkowe wskaźniki biochemiczne w diagnostyce nefrotoksyczności. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2006; 15: 1129-1138
- [27] Marchewka Z., Płonka J.: Znaczenie diagnostyczne nowego markera KIM-1 w uszkodzeniach nerek. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 695-699
- [28] Monier F., Mollier S., Guillot M., Rambeaud J., Morel F., Zaoui P.: Urinary release of 72 and 92 kDa gelatinases, TIMPs, N-GAL and conventional prognostic factors in urothelial carcinomas. *Eur. Urol.*, 2002; 42: 356-363
- [29] Monisha J., Padmavathi G., Bordoloi D., Roy N.K., Kunnumakkara A. B.: Neutrophil gelatinase - associated lipocalin (NGAL): A promising biomarker for cancer diagnosis and a potential target for cancer therapeutics. *J. Cell. Sci. Molecul. Biol.*, 2014; 1: 106
- [30] Poczęta M., Bednarek I.: STAT-3 ukryty czynnik transkrypcyjny celem terapii przeciwnowotworowej. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2013; 67: 133-141
- [31] Radosz A., Obuchowicz A.: Potential diagnostic significance of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Ann. Acad. Med. Siles.*, 2013; 67: 61-66

- [32] Sabbiseti V.S., Waikar S.S., Antoine D.J., Smiles A., Wang C., Ravisankar A., Ito K., Sharma S., Ramadesikan S., Lee M., Briskin R., De Jager P.L., Ngo T.T., Radlinski M., Dear J.W., Park K.B., Betensky R., Krolewski A.S., Bonventre J.V.: Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2014; 25: 2177-2186
- [33] Schmidt-Ott K.M., Mori K., Li J.Y., Kalandadze A., Cohen D.J., Devarajan P., Barasch J.: Dual action of neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007; 18: 407-413
- [34] Shalabi A., Abassi Z., Awad H., Halachmi S., Moskovitz B., Kluger Y., Nativ O.: Urinary NGAL and KIM-1: potential association with histopathologic features in patients with renal cell carcinoma. *World J. Urol.*, 2013; 31: 1541-1545
- [35] Tong Z., Chakraborty S., Sung B., Koolwal P., Kaur S., Aggarwal B.B., Mani S.A., Bresalier R.S., Batra S.K., Guha S.: Epidermal growth factor down-regulates the expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) through E-cadherin in pancreatic cancer cells. *Cancer*, 2011; 117: 2408-2418
- [36] Tong Z., Kunnumakkara A.B., Wang H., Matsuo Y., Diagaradjane P., Harikumar K.B., Ramachandran V., Sung B., Chakraborty A., Bresalier R.S., Logsdon C., Aggarwal B.B., Krishnan S., Guha S.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer. *Cancer Res.*, 2008; 68: 6100-6108
- [37] Totoń E., Rybczyńska M.: Charakterystyka białka FAK i jego rola w procesie nowotworzenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2007; 61: 303-309
- [38] Trof R.J., Di Maggio F., Leemreis J., Groeneveld A.B.: Biomarkers of acute renal injury and renal failure. *Shock*, 2006; 26: 245-253
- [39] Vaidya V.S., Ramirez V., Ichimura T., Bobadilla N.A., Bonventre J.V.: Urinary kidney injury molecule-1: a sensitive quantitative biomarker for early detection of kidney tubular injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2006; 290: 517-529
- [40] Yang L., Brooks C.R., Xiao S., Sabbiseti V., Yeung M.Y., Hsiao L.L., Ichimura T., Kuchroo V., Bonventre J.V.: KIM-1-mediated phagocytosis reduces acute injury to the kidney. *J. Clin. Invest.*, 2015; 125: 1620-1636
- [41] Zhang P.L., Mashni J.W., Sabbiseti V.S., Schworer C.M., Wilson G.D., Wolforth S.C., Kerns K.M., Seifman B.D., Amin M.B., Geddes T.J., Lin F., Bonventre J.V., Hafron J.M.: Urine kidney injury molecule-1: a potential non-invasive biomarker for patients with renal cell carcinoma. *Int. Urol. Nephrol.*, 2014; 46: 379-388

---

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.