

Lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos, un nuevo marcador de lesión renal aguda en el enfermo grave

Raúl Carrillo-Esper,* Fátima Martha Castillo-Albarrán,** José Pérez-Jáuregui***

Resumen

La insuficiencia renal aguda (IRA) es una complicación frecuente en los enfermos graves y se asocia con elevada morbilidad y mortalidad, por lo tanto, su profilaxis, el diagnóstico oportuno y una intervención temprana impactan de manera positiva en su evolución. La lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (LAGN) o lipocalina, proteína sintetizada por las células tubulares renales y que tiene la propiedad de transportar moléculas lipofílicas como vitaminas, hormonas, ácidos grasos y biliares y agentes antigenéticos lipofílicos, es uno de los biomarcadores más investigados y prometedores para el diagnóstico precoz de la IRA en diferentes escenarios clínicos, dentro de los que destacan sepsis, síndrome cardiorrenal, cirugía cardiaca, trasplante renal, nefropatía por medio de contraste y síndrome urémico hemolítico. La lipocalina es un eficiente biomarcador para guiar el tratamiento temprano y de esta manera mejorar el pronóstico de la IRA en el enfermo grave.

Palabras clave: Lipocalina, biomarcador, insuficiencia renal aguda.

Abstract

Acute renal failure is a frequent complication in critically ill patients and is associated with high morbidity and mortality; therefore, its prophylaxis, diagnosis and intervention positively impact patient evolution. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) or lipocalin, a protein synthesized by renal tubular cells, has the property to transport lipophilic molecules such as vitamins, hormones and antigenic agents. It is a novel biomarker of acute kidney injury (AKI) of several etiologies and is increased in both serum and urine 48 h before the increase of creatinine. It has a strong correlation with early diagnosis of AKI. NGAL is of the most investigated and promising biomarkers for early diagnosis of AKI in different clinical scenarios, most notably in sepsis, cardiorenal syndrome, cardiac surgery, kidney transplant, contrast nephropathy and hemolytic uremic syndrome. Lipocalin guides the early institution of therapeutic interventions to improve prognosis in AKI of several etiologies.

Key words: Lipocalin, biomarkers, acute kidney failure.

Introducción

La lesión renal aguda es un factor de riesgo independiente de mortalidad en el enfermo grave. La mortalidad asociada

es de 40 a 50% en una población general y de 70 a 80% en los pacientes en las unidades de terapia intensiva.¹

El diagnóstico de lesión renal aguda se hace con base en la elevación de la creatinina o la presencia de oliguria. La creatinina sérica es un biomarcador de poco valor ya que está influido por diversos factores extrarenales, se necesita un daño tisular renal avanzado para manifestarse y se presenta dicho aumento después de las 48 horas de la lesión. Los biomarcadores son herramientas utilizadas con frecuencia en la unidad de terapia intensiva para el diagnóstico, seguimiento y toma de decisiones. Para iniciar el estudio de los pacientes con lesión renal aguda destacan la cistatina-C, lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (NGAL), KIM-1 o la interleucina 18 (IL18).²

Por lo anterior, en los últimos años se han desarrollado escalas de evaluación de lesión renal aguda en el enfermo grave, de las que destacan RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, ESRD*)³ y la AKIN (*Acute Kidney Injury Network*).³

* Servicio de Terapia Intensiva.
** Servicio de Patología Clínica.
Fundación Clínica Médica Sur, México, D. F.

Correspondencia:
Fátima Martha Castillo-Albarrán.
Laboratorio de Patología Clínica, Fundación Médica Sur,
Puente de Piedra 150, Col. Toriello Guerra, Del. Tlalpan, 14050 México
D. F.
Tel.: (55) 5424 7200, extensiones 6817 y 6815.
E-mail: dracastilloalbarran@hotmail.com

Recibido para publicación: 28-09-2010
Aceptado para publicación: 07-12-2010

En estudios experimentales y clínicos, la lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (LAGN) es uno de los biomarcadores más investigados y prometedores para el diagnóstico precoz de lesión renal aguda. Cada vez hay más evidencia de que LAGN no es solo un marcador de lesión renal aguda sino un factor predictivo de gravedad, mortalidad y estancia hospitalaria y para inicio de terapia renal de reemplazo.

El objetivo de este trabajo es dar a conocer a la comunidad médica interesada en el manejo de enfermos graves, conceptos actuales relacionados con este biomarcador.⁴

Lipocalinas

La nominación proteica de lipocalina aparece en la literatura científica hacia 1987, nombre con el cual se identifican más de 150 proteínas con expresión de preferencia extracelular, con una masa molecular promedio de 18 a 20 kDa y con la propiedad de transportar moléculas lipofílicas como vitaminas, hormonas esteroideas y tiroideas, ácidos grasos y biliares, agentes antígenicos lipófilos y moléculas odorantes. De los 20 miembros de la especie humana, la lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos LAGN (también conocida como lipocalina 2 a LCN2) es de las más estudiadas, está unida covalentemente a la colagenasa humana tipo IV a través de un puente intramolecular disulfuro.⁵

En la electroforesis de proteínas las lipocalinas corresponden de manera preponderante a la banda alfa (2 μ-microglobulina, proteínas muy antiguas desde el punto de vista biológico al estar filogénicamente presentes desde las eubacterias, relacionadas con el aspecto estructural entre sí pero compartiendo una identidad menor de 20%). A pesar de la alta diversidad, comparten secuencias o motivos proteicos característicos, que en estudios tridimensionales sugieren una estructura conformada por ligandos dependientes de secuencias aminoacídicas muy conservadas, que exhiben la formación de ocho láminas plegadas beta con las que se conforma una estructura similar a una canasta de encestar de baloncesto (*beta-strand basket-like structures*), denominada en el argot técnico como beta-barril (*betabarrel*). Esta estructura tridimensional genera un bolsillo de unión a ligandos lipófilos.^{5,6}

Las LNC junto con los miembros de la familia de las proteínas fijadoras de ácidos grasos (FABP, *fatty acid binding proteins*) y de la familia de la avidina (proteínas conocidas por formar parte de la clara del huevo y capturar la biotina) constituyen la super familia de las calicinas. Dentro de los ligandos lipófilos que unen y transportan están los esteroideos (ejemplo, hormonas esteroideas), hormonas tiroideas, ácidos grasos (en especial los de cadena larga), bilirrubinas y vitaminas liposolubles como el complejo retinoide

vitamínico A (ejemplo, ácido retinoico todo-trans, ácido 9-cis-retinoico, retinal todo-trans, 13-cis-retinal, retinol todo-trans), ácidos biliares, terpenoides, fármacos y tóxicos, y un amplio rango de compuestos aromáticos y alifáticos. Las lipocalinas también poseen la capacidad de unir receptores de membrana y de formar complejos con macromoléculas. En conclusión, la variedad de las funciones biológicas de las lipocalinas (figura 1) están mediadas por:

1. La propiedad de unión de ligandos lipídicos.
2. La unión a receptores plasmalémicos.
3. La formación de macrocomplejos.
4. La actividad catalítica (biosíntesis de PGD2).⁶

Lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos (LAGN)

La LAGN es una glicoproteína que se codifica a partir de un gen que contiene siete exones y genera cinco versiones por corte y empalme alternativo, que explican los diversos reportes de masa molecular variable (19,2, 22,6 o 25 kDa); la versión más estudiada es la de 198 aminoácidos. Originalmente se aisló de los gránulos de los neutrófilos polimorfo nucleares. Puede ser monomérica y homodimérica o heterodimérica; en este último caso forma un complejo con la metaloproteinasa MMP9, también conocida como gelatinasa del neutrófilo polimorfo nuclear. La LCN 2 estabiliza y aumenta la vida media de la MMP9. También puede formar macrocomplejos con la IL8, conocida citocina promotora de migración y activación del polimorfo nuclear y ser producida por muchos tejidos expuestos a microorganismos, en especial los tejidos epiteliales durante la inflamación. El secuestro de la MMP9 y la IL8 explican en gran parte su actividad antiinflamatoria. La LAGN se puede detectar en médula ósea, útero, próstata, glándulas salivales, glándulas lacrimales, estómago, apéndice cecal,

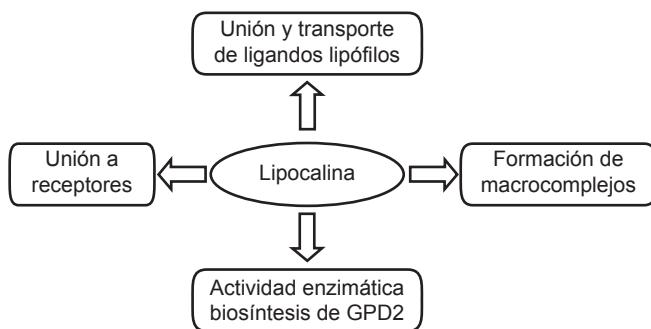


Figura 1. Mecanismo de acción de las lipocalinas.

colon, tráquea, pulmones, glándula mamaria; en el feto, en el bazo y el pulmón. Es un factor regulador negativo de la hematopoyesis de tipo proapoptótico, cuya expresión es suprimida por la IL3. Hoy hay más tendencia, por las evidencias existentes, a pensar que la LAGN se produce en células en estrés y que constituye una defensa en contra de los tóxicos (por ejemplo, lípidos oxidados o sobrecarga de hierro) o que facilita la supervivencia de las células, más que sea o desempeñe un papel proapoptótico. Este efecto proapoptótico, aún no definido, también se ha encontrado en la glándula mamaria y el endometrio no neoplásicos en regresión hormonal. La LAGN es expresada junto con la MMP9 en altas concentraciones por células neoplásicas y esto se correlaciona con el pronóstico y el potencial metastásico en algunos estudios; en otros estudios muestra que la expresión de la LAGN sola promueve la diferenciación y es de buen pronóstico.⁶

La LAGN es un factor nefrogénico que participa en algunos pasos de la embriogénesis. Es producida por las células de los uréteres y actúa sobre el mesénquima metanéfrico derivado del mesodermo intermedio, regulando la diferenciación de éste hacia la formación de los glomérulos y los túbulos de la nefrona.⁶

La familia de genes de las lipocalinas está integrada por varios miembros que comparten una estructura común y que se han duplicado en forma repetida durante la evolución expandiéndose a más de 150 genes conocidos, de ellos al menos 20 reportados en la especie humana. El grupo de proteínas de las LCN está constituido por varios elementos que comparten la propiedad común de unión de ligandos lipofílicos. Las lipocalinas funcionan en un amplio rango de sistemas incluyendo quimiorrecepción y transporte en fisiología sensorial del gusto y olor, coloración, modulación hematoinmune, síntesis de prostaglandina D2, neurofisiología, fisiología reproductiva y fertilidad, embriogénesis, proliferación y división celular, supervivencia y apoptosis celular.⁷

LAGN y metabolismo del hierro

La LAGN une sideróforos bacterianos de la clase catecolato tipo férrico, lo cual explica su potente acción bacteriostática, ya que atrapa hierro y limita su disponibilidad. Participa en el metabolismo del hierro, ya que normalmente une y transporta este metal; incluso, hay evidencias de la filtración glomerular del complejo y su consecuente recaptación por la megalina en el túbulo proximal, con la reabsorción secundaria del hierro. Forma parte de lo que se llama *pool* de hierro no unido a transferrina (*nontransferrin-bound iron*, NTBI), el cual es una ruta de transporte importante

durante el desarrollo en el útero y en estados de sobrecarga férrica (por ejemplo, hemocromatosis). La LAGN dentro del NTBI une y transporta ferroascorbato, ferrocitrato y ferronitritolriacetato. También participa en la activación y represión de genes regulados por el hierro, pues une y libera hierro en el citoplasma para tal efecto, tiene ciclos de captación y liberación a partir de los endosomas, pero su sensibilidad al pH y su localización subcelular difieren totalmente a partir de la transferrina. Esto parece ser fundamental tanto en la respuesta innata como en la embriogénesis epitelial, en especial, la renal.⁸

Estos datos apoyan la participación de 24p3/LAGN en el transporte de hierro y podría explicar diversos fenómenos asociados con esta lipocalina, también se cree que el tráfico de hierro es esencial para la epitelización en el desarrollo de los riñones y la LAGN producida *in situ* por el brote ureteral pueden constituir una alternativa a la vía de la transferrina. Esta idea sería muy fuertemente validada por el estudio de animales sin el receptor de transferrina. En segundo lugar, podría ser 24p3/LAGN miembro del grupo de transporte de hierro no transferrina. En particular, 24p3/LAGN podría redireccionar la adquisición de hierro desde las bacterias hasta las células de mamíferos y el tráfico de hierro en estados de sobrecarga.⁹

LAGN y síndrome cardiorrenal

La LAGN parece ser uno de los biomarcadores que se elevan más tempranamente en la lesión renal isquémica o nefrotóxica se detecta en sangre y orina poco después del daño renal agudo. En un estudio reciente, una sola medida de la LAGN urinaria fue capaz de diferenciar tempranamente a los pacientes con lesión renal aguda, con una sensibilidad y especificidad de 90 y 99%, respectivamente. La LAGN podría ser utilizada como marcador de insuficiencia renal temprana durante el tratamiento de la insuficiencia cardiaca aguda descompensada.¹⁰

LAGN y nefropatía por contraste

Varios investigadores han examinado el papel de la LAGN como un biomarcador predictivo de nefrotoxicidad después de la administración de contraste. En un estudio prospectivo de niños sometidos a cateterismo cardiaco electivo con la administración de contraste, tanto en orina y plasma, la LAGN predijo la nefropatía inducida por contraste (definida como un aumento de 50% en la creatinina sérica de la concentración de referencia) dos horas después de la administración de contraste.¹¹

LAGN biomarcador de lesión renal aguda

La proteína de la LAGN es fácilmente detectable en sangre y orina, estudios en pacientes críticos con daño renal agudo mostraron un incremento 10 veces por arriba del rango de referencia de la LAGN en plasma y hasta 100 veces en orina. Ambos se correlacionaron con los niveles de creatinina sérica. Las biopsias renales mostraron acumulación de la LAGN inmunorreactiva en 50% de los túbulos corticales. Estos resultados identificaron a la LAGN como una respuesta sensitiva y de amplio rango para establecer lesión renal aguda en humanos. La medición de la LAGN es útil para la gran variedad de situaciones clínicas que conducen a lesión renal aguda (cirugía cardiaca, trasplante renal, nefropatía por contraste, síndrome urémico hemolítico y estancia en la unidad de cuidados intensivos) o lesión renal crónica (nefritis lúpica, glomerulonefritis, obstrucción, displasia, enfermedad poliquística renal). La LAGN también ha sido evaluada como un biomarcador de lesión renal aguda en transplante renal. Las biopsias renales obtenidas una hora después de la anastomosis vascular, la cual reveló una correlación significativa entre la LAGN y la intensidad de la tinción y el posterior desarrollo de la función inicial del injerto.¹¹

Estudios genéticos en lesión renal aguda han demostrado que LAGN tiene alta expresión en la porción ascendente del asa de Henle y los conductos colectores. La síntesis de la proteína resultante en la nefrona distal es una fracción importante de LAGN urinaria. Wheeler y sus colaboradores¹² demostraron que las concentraciones séricas de LAGN aumentaron a 24 y 72 horas después del ingreso a la unidad de cuidados intensivos en niños que desarrollaron lesión renal aguda, en comparación con niños que no la desarrollaron. Es de destacar que en la misma cohorte, la LAGN sérica tuvo un aumento significativo en los niños críticamente enfermos con sepsis en comparación con niños gravemente enfermos sin sepsis. En adultos y niños sometidos a cirugía cardiaca, los niveles plasmáticos de la LAGN fueron fuertemente correlacionados con la duración y la gravedad de la lesión renal aguda, tiempo de terapia ventilatoria, duración de estancia hospitalaria y mortalidad. Tanto en los estudios experimentales como en los humanos, la LAGN se distribuyó en las células tubulares en una localización citoplasmática punteada (que concuerdan con una proteína secretada).¹³

Estudios publicados recientemente sugieren que las concentraciones de la LAGN en plasma y orina representan un biomarcador predictivo de lesión renal aguda en la unidad de cuidados intensivos, siendo capaces de predecir esta complicación aproximadamente dos días antes del aumento de la concentración sérica de creatinina. Por lo tanto, la

LAGN es un marcador en una fase temprana de lesión renal, incluso en un grupo heterogéneo de pacientes con tiempo indeterminado de la misma.¹⁴

LAGN y cirugía cardiaca

En plasma y orina, la LAGN es un biomarcador sensible, específico y altamente predictivo para daño renal agudo posterior a cirugía cardiaca pediátrica. Estos hallazgos han sido confirmados en un estudio prospectivo de pacientes adultos con lesión renal aguda posterior a cirugía cardiaca, en los que la concentración urinaria de la LAGN fue significativamente elevada de una a tres horas después de la cirugía. Un estudio prospectivo en niños sometidos a derivación cardiopulmonar mostró 28% de lesión renal aguda, pero el diagnóstico con creatinina sérica solo fue posible después de uno o tres días después e la cirugía. En los estudios experimentales y clínicos, la LAGN es uno de los biomarcadores más investigados y prometedores para el diagnóstico precoz de lesión renal aguda. De hecho, la LAGN resultó ser un excelente biomarcador para la detección temprana de lesión renal aguda, después de exposición a los medios de radio de contraste y de cirugía cardiaca.¹⁵

LAGN y enfermedad renal crónica

Observaciones recientes han señalado el papel crucial del túbulo renal en la génesis y progresión de la enfermedad renal crónica, independiente de la enfermedad primaria y de los mecanismos patogénicos que causan la destrucción progresiva renal en una vía común, la cual se caracteriza por atrofia tubular e hipoxia, lesión capilar peritubular y fibrosis intersticial. De hecho, se ha informado que varias proteínas tubulares están estrechamente implicadas en la patogénesis del daño tubular y su progresión a la fibrosis terminal. Los enfermos con nefropatía membranosa y daño en la función renal han mostrado aumento de los niveles basales de LAGN, la cual es liberada por las células tubulares renales.¹⁶

LAGN y sepsis

Debido a que la LAGN se libera de los gránulos de neutrófilos activados, los niveles aumentan en las enfermedades infecciosas o inflamatorias, especialmente en las infecciones bacterianas. Así, el nivel de LAGN en plasma o suero se ha propuesto como un marcador de infección. Sin embargo, debido a que también puede elevarse en procesos neoplásicos y en enfermedades renales, independientemente del

proceso infeccioso, esta propuesta de aplicación debe ser tomada con precaución.¹⁷

Bagshaw y sus colaboradores¹⁸ compararon a pacientes con lesión renal aguda y sepsis con pacientes que solo presentaron lesión renal aguda. Los niveles de LAGN en orina y suero fueron mayores en el primer grupo. Esta diferencia en los niveles de LAGN tuvo relevancia diagnóstica con implicaciones en el tratamiento.

LAGN se mantiene dentro de los parámetros normales en los recién nacidos sanos, pero aumenta rápidamente con la estimulación microbiana, por dicha razón la LAGN puede ser útil como marcador precoz de infección neonatal.¹⁹

Conclusiones

Debido a las implicaciones que conlleva la lesión renal aguda en el enfermo grave, es indispensable contar con un biomarcador ideal, el cual debe ser altamente sensible y específico, que aparezca precozmente, así como que permita determinar la gravedad y el riesgo de esta lesión. La LAGN se está posicionando como un biomarcador temprano de lesión renal. Existe cada vez más evidencia de que LAGN es un factor predictivo de gravedad, mortalidad y estancia hospitalaria, así como un biomarcador de gran utilidad para la toma de decisiones en relación con la terapia de reemplazo renal.

Referencias

1. Bagshaw SM, George C, Bellomo R. Early acute kidney injury and sepsis: a multicentre evaluation. *Crit Care* 2008;12:1-9.
2. Rodríguez LM, Roglan PA. Diagnóstico precoz del fracaso renal agudo. *Med Intensiva* 2010;34:291-293.
3. Alcázar R, De la Torre M, Santana H. Avances en la insuficiencia renal aguda en el año 2008. *Nefrología* 2009;29:82-87.
4. Kümpers P, Hafer C, Lukasz A, Lichtenhagen R, Brand K, Fliser D, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at inception of renal replacement therapy predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit Care* 2010;14:1-9.
5. García GA. Reproducción y fertilidad humana: aspectos biomédicos de la familia de las lipocalinas. *Repert Med Cir* 2009;18:5-20.
6. García GA, Clavijo D, Mejía OR, García A, Vittorino M, Casadiego CA, et al. Aspectos biomédicos de la familia de las lipocalinas. *Universitas Medica* 2007;48:118-128.
7. Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 1996;318:1-14.
8. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodríguez DJ, Holmes MA, Strong RK, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestrating iron. *Nature* 2004;432:917-921.
9. Yang J, Mori K, Li JY, Barach J. Iron, lipocalin, and kidney epithelia. *Am J Physiol* 2003;285:9-18.
10. Ronco C, McCullough P, Anker SD, Anand I, Aspromonte N, Bagshaw SM, et al. Cardio-renal syndromes: report from the consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative. *Eur Heart J* 2010;31:703-711.
11. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): a new marker of kidney disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2008;241:89-94.
12. Wheeler D, Devarajan P, Qing M, Harmon K, Monaco M, Cvijanovich N, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of acute kidney injury in critically ill children with septic shock. *Crit Care Med* 2008;36:1297-1303.
13. Devarajan P. NGAL in acute kidney injury: from serendipity to utility. *Am J Kidney Dis* 2008;52:395-399.
14. Zappitelli M, Washburn K, Arikan A, Loftis L, Qing M, Devarajan P. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007;11:1-11.
15. Mitsnefes M, Kathman T, Mishra J, Kartal J, Khoury PR, Nickolas T. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:101-108.
16. Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio M, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:337-344.
17. 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;55:125-131.
18. Bagshaw S, Bennett M, Haase M, Haase-Fielitz A, Egi M, Morimatsu H. Plasma and urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin in septic versus non-septic acute kidney injury in critical illness. *Intensive Care Med* 2010;36:452-461.
19. Bohjörkqvist M, Kallman J, Fjaerøft G, Venge P, Schöllin J. Human neutrophil lipocalin: normal levels and use as a marker for invasive infection in the newborn. *Acta Paediatr* 2004;4:534-539.