

Received: 2015.11.03
Accepted: 2016.04.26
Published: 2016.09.28

Rola onkogenu 24p3 lipokaliny neutrofilowej związanej z żelatynazą (NGAL) w nowotworach przewodu pokarmowego

Role of oncogene 24p3 neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in digestive system cancers

Łukasz Michalak², Magdalena Bulska¹, Katarzyna Kudłacz¹, Piotr Szcześniak¹

¹Zakład Biofarmacji Katedra Biofarmacji UM w Łodzi

²Klinika Nefrologii, Nadciśnienia Tętniczego i Medycyny Rodzinnej USK im. WAM-CSW

Streszczenie

Lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą nazywana 24p3 lipokalina, lipokalina 2 lub uterokaliną (u myszy) to małe białko wydzielnicze wiążące ligandy o małej masie cząsteczkowej odgrywające rolę w wielu procesach, np. indukcji apoptozy w leukocytach, transporcie żelaza, transporcie prostaglandyn czy retinolu [19]. Została odkryta w aktywowanych neutrofilach jako kowalentny peptyd związany z żelatynazą ludzkich neutrofilów [7]. Jest wydzielana fizjologicznie przez komórki przewodu pokarmowego, układu oddechowego, cewek nerkowych, wątroby oraz układu immunologicznego. Ogólnoustrojowa (krążąca w osoczu) lipokalina neutrofilowa może pochodzić z wielu źródeł, może być syntetyzowana w wątrobie, uwalniana z aktywowanych neutrofilów lub makrofagów czy z płytek miażdżycowych lub komórek śródbłoka wykazujących fenotyp prozapalny [17]. Przechowywana jest w ziarnistościach wtórnych wraz z laktoferyną, kalprotektyną lub MAC-1, które odgrywają ważną rolę w efektywności i migracji granulocytów obojętnochłonnych [13,19]. Bierze udział w ostrych i przewlekłych stanach zapalnych oraz procesie nowotworzenia (synteza NGAL jest indukowana przez czynniki sprzyjające progresji nowotworu) [13,21]. Do wzrostu stężenia NGAL dochodzi w stanach zapalnych i uszkodzeniu śródbłoka. Jego stężenie oznacza się w surowicy lub moczu. Jest uważany za wskaźnik stopnia uszkodzenia nerek [7,20]. NGAL jest zatem jednym z najbardziej obiecujących biomarkerów nowej generacji w nefrologii klinicznej [6]. Rola NGAL w nowotworach przewodu pokarmowego nie została dokładnie poznana, jednak nadekspresja tego markera została udowodniona w takich nowotworach, jak rak płaskonabłonkowy przełyku, rak żołądka, trzustki czy jelita grubego, co może wskazywać na jego związek z procesem nowotworzenia [3].

Słowa kluczowe:

lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą • NGAL • lipokalina 2 • uterokalin • LCN2 • nowotwory

Summary

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, known also as 24p3 lipocalin, lipocalin-2 or uterocalin (in mouse), is a small secretory protein binding small molecular weight ligands which takes part in numerous processes including apoptosis induction in leukocytes, iron transport, smell, and prostaglandins and retinol transport [19]. It was discovered in activated neutrophils as a covalent peptide associated with human gelatinase neutrophils [7]. Neutrophil lipocalin is secreted **physiologically in the digestive system, respiratory tract, renal tubular cells, liver or immunity system**. Systematic (circulated in plasma) neutrophil gelatinase come from multiple sources; it may be synthesized in the liver, secreted from activated neutrophils or

	<p>macrophages, or derive from atherosclerosis or inflammatory endothelial cells [17]. NGAL is stored secondarily in granulates with lactoferrin, calprotectin or MAC-1, which take part in neutrophils' action and migration [13,19]. NGAL participates in acute and chronic inflammation (production of NGAL is indicated by factors conducive to cancer progression) [13,21]. NGAL levels increase in inflammatory or endothelial damage. NGAL level is measured in blood or urine. It is known as a kidney failure factor [7,20]. NGAL is therefore one of the most promising new generation biomarkers in clinical nephrology [6].</p> <p>The role of NGAL in digestive system neoplasms has not been explored in detail. However, overexpression of this marker was proved in neoplasms such as esophageal carcinoma, stomach cancer, pancreatic cancer or colon cancer, which may indicate an association between concentration and neoplasm [3].</p>
<p>Key words:</p>	<p>neutrophil gelatinase-associated lipocalin • NGAL • lipocalin 2 • uterocalin • LCN2 • neoplasms</p>
<p>Full-text PDF:</p>	<p>http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1220397</p>
<p>Word count:</p>	<p>2051</p>
<p>Tables:</p>	<p>–</p>
<p>Figures:</p>	<p>1</p>
<p>References:</p>	<p>25</p>

Adres autora: dr n. farm. Piotr Szcześniak Zakład Biofarmacji Katedra Biofarmacji Wydział Farmaceutyczny UM w Łodzi, ul. Muszyńskiego 1, 90-151 Łódź; e-mail: piotrlozd@vp.pl

WSTĘP

Nowotwory przewodu pokarmowego stały się w ostatnich latach przedmiotem wielu badań. Rosną statystyki zachorowań na nie, a w związku z tym liczba zgonów. Mimo podejmowania akcji wczesnego wykrywania, unowocześniania metod diagnostyki, wprowadzania nowych leków czy metod napromieniania wyniki leczenia chorych wciąż są niewystarczające. Lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą (NGAL) ma wpływ na regulowanie wzrostu komórek nowotworowych. Na podstawie wielu badań zaobserwowano, iż wzrost ekspresji NGAL może hamować tworzenie przerzutów. Cechy te dają nadzieję wykorzystania NGAL w przyszłości nie tylko jako markera diagnostycznego, ale także jako czynnika stosowanego w przeciwnowotworowej terapii skojarzonej. Rozprzestrzenianie się komórek nowotworowych z guza pierwotnego, tworzenie przerzutów nowotworu w odległych miejscach jest najbardziej zagrażającym życiu powikłaniem raka oraz stanowi najczęstszą przyczynę śmierci.

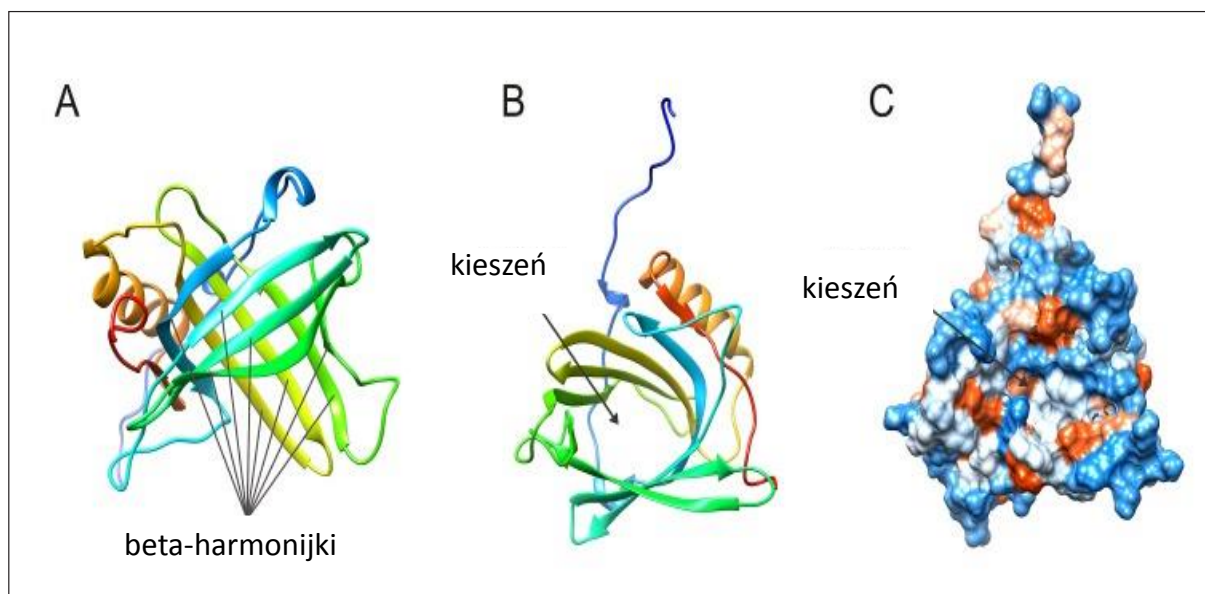
BUDOWA I STRUKTURA NGAL

Lipokalina jest białkiem zbudowanym z 198 aminokwasów, występującym w trzech postaciach: monomeru o masie 25 kDa, dimeru o masie 46 kDa, homotrimeru o masie 70 kD, bądź kowalencyjnego kompleksu z żelatynazą neutrofilową, tzw. metaloproteiną matrix [13]. Białko to jest kodowane przez gen znajdujący się w 9q34.11 chromosomie locus posiadającym 7 eksonów, które produkują co najmniej 5 białek transkrypcyjnych [4]. Charakteryzują się stabilnością (temperatury

denaturacji powyżej 70 °C), są dobrze rozpuszczalne w wodzie, osoczu krwi i innych płynach tkankowych w stężeniach do 1,0 mg/ml. W strukturze zawierają zwykle jeden lub dwa mostki disiarczkowe, często także jedną wolną resztę cysteiny, która może być użyta do modyfikacji cząsteczki. Jednak aby zapobiegać komplikacjom z innymi białkami osocza, zaleca się zastępowanie cysteiny jej resztą Ser. Mogą być wykorzystywane jako cząsteczki transportujące, wychwytyjące aktywne biologicznie lub toksyczne związki lub białka tworzące kompleksy z receptorami. Mogą także pełnić funkcje regulatorów cyklu komórkowego, np. α -1-mikroglobuliny. Rodzina lipokalin ma małą identyczność sekwencji aminokwasowej, co może stanowić w niektórych przypadkach tylko 20% podobieństwa. Strukturalnie łączy je występowanie trzeciorzędowej struktury nazywanej „lipokalina fold”, czyli konstrukcji antyrównoległej β -beczki - 8 arkuszy β połączonych ze sobą wodorami. Daje to układ wgłębienia w kształcie kubka, zdolny do wiązania poszczególnych ligandów, co prowadzi do powstawania kompleksów z rozpuszczalnymi makrocząsteczkami [13]. Arkusze β są powiązane za pomocą siedmiu pętli (L1-L7). Można je podzielić na lipokalinę jądra i lipokalinę poboczną [4,15].

DZIAŁANIE PRZECIWBAKTERYJNE NGAL

NGAL należy do białek ostrej fazy biorących udział w procesie śmierci komórki. Białko to ma zdolność wiązania hydrofobowych substancji do cytoplazmy komórkowej, gdzie dochodzi do utworzenia kompleksu z żelatynazą, metaloproteiną-9 [2]. Bakterie syntetyzują siderofory wyłapujące żelazo z przestrzeni pozakomórkowej za



Ryc. 1. Struktura przeciwrównoległej β -beczki (A) oraz receptor w kształcie kielicha wiążącego ligand (B,C) [3]

pomocą konkretnych transporterów dla wychwytu kompleksu siderofor-żelazo. Siderofory eukariontów biorą udział w przemianach żelaza poprzez lipokalinę, co jest niezbędne w procesach podziałów komórkowych. NGAL łączy się z tymi strukturami poprzez kompleks megaliny lub 24ps, a po połączeniu z centrum aktywnym kompleksu NGAL-siderofor dochodzi do podwyższenia stężenia żelaza. Obserwowane działanie bakteriostatyczne jest więc uzasadnione zaburzeniem gospodarki żelaza drobnoustrojów [7,21].

CZYNNIKI POWODUJĄCE WZROST STĘŻENIA NGAL

Ekspresja NGAL może być indukowana przez wiele cytokin i czynników wzrostu, w tym interleukinę 1 (IL-1 α i β , IL-17, IL-22), insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF-1), transformujący czynnik wzrostu alfa (TGF- α) oraz czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α). IL-1 β indukuje ekspresję NGAL oraz wzmaga jego interakcję z MMP-9, który jest zależny od aktywacji transkrypcyjnej NF- κ B. W wyniku działania kilku rodzajów bodźców dochodzi do aktywacji NF- κ B i zachodzi ekspresja NGAL i MMP-9. NF- κ B indukują cytokiny zapalne IL-1 β i TNF- α , jednak tylko NGAL indukuje transkrypcję w obrębie płuc [21].

• NGAL w chorobach nowotworowych

Wzrost ekspresji NGAL zauważa się w przypadku guzów złośliwych związanych z różnymi narządami, w tym: skóry, piersi, tarczycy, jajników, śluzówki macicy, okrężnicy, płuc, wątroby, dróg żółciowych, przełyku, żołądka i trzustki. Zwiększona ekspresja NGAL w nowotworach może sugerować występowanie zaawansowanych stadiów nowotworu z inwazją i przerzutami, co oznacza złe rokowania dla pacjentów.

• NGAL w nowotworach przełyku

Do grupy nowotworów przełyku należą rak płaskonabłonkowy i gruczolakorak. Badania zależności stężenia NGAL były prowadzone głównie w odniesieniu do raka płaskonabłonkowego (ESCC). W większości przypadków nowotwór ten zostaje zauważony dopiero w zaawansowanym stadium, co skraca długość życia do kilku miesięcy, a pięcioletnia przeżywalność występuje jedynie u 5-10% pacjentów. Badania przeprowadzone przez dwie grupy badawcze z Chin wykazały zwiększony poziom ekspresji NGAL u chorych na ESCC w porównaniu z grupą ochotników zdrowych oraz zauważono dodatnią korelację w zróżnicowaniu komórek nowotworowych [5,25]. Zaobserwowano także zwiększoną aktywność enzymatyczną metaloproteinazy-9 kompleksu NGAL, skorelowaną z głębokością guza. Nie stwierdzono jednak istotnego związku między ekspresją lipokaliny a proliferacją komórkową. NGAL może być zaangażowany w progresję ESCC i postrzegany jako odrębny czynnik prognostyczny dla ESCC, pomimo iż cechy NGAL w płaskonabłonkowym raku przełyku nie zostały jeszcze dokładnie poznane [5,25].

• NGAL w nowotworach żołądka

Nowotwory żołądka są jednymi z najczęstszych złośliwych nowotworów na świecie, odnotowuje się ponad 800 000 nowych przypadków rocznie. Większość zachorowań obserwuje się u pacjentów po 50 r.ż. Ryzyko zachorowania u mężczyzn jest większe niż u kobiet. Za etiologię i patogenezę oprócz predyspozycji genetycznych, czynników środowiskowych i diety odpowiada przewlekłe zapalenie błony śluzowej spowodowane przez bakterie *Helicobacter pylori*, przy czym od momentu zakażenia i przejścia w zapalenie przewlekłe do powsta-

nia zmian nowotworowych mija przeszło 30 lat. Charakterystyka ekspresji NGAL w raku żołądka jest nadal w dużej mierze nieznana. Analiza barwienia immunohistochemicznego wykazała, że NGAL jest zaangażowany w inwazję nowotworu i przerzuty. Zaobserwowano, że ekspresja NGAL u chorych z nowotworem żołądka jest istotnie wyższa niż u osób zdrowych, a jego stężenie jest wprost proporcjonalne do wielkości guza. W związku z tym NGAL można traktować jako wskaźnik inwazji przerzutów, a więc czynnik diagnostyczny raka żołądka [23].

• NGAL w nowotworach trzustki

Rak trzustki pozostaje jednym z najbardziej śmiertelnych typów nowotworów. Pięcioletnie przeżycie po rozpoznaniu jest mniejsze niż 3,5%. Niedobór wczesnych biomarkerów znacznie utrudnia zdolność do uruchomienia środków zapobiegawczych w odpowiednim czasie. Stosowana na szeroką skalę analiza ekspresji genów oraz próba identyfikacji biomarkerów jest powszechnie proponowana jako metoda diagnozowania nowotworów złośliwych, przewidywania inwazji i przerzutów. Pierwsze badania dotyczące zależności ekspresji NGAL a występowania raka trzustki zostały zaprezentowane przez grupę japońskich badaczy, którzy zaobserwowali znaczącą nadekspresję genową NGAL jako jednego z genów w badanych liniach komórkowych raka trzustki [6]. W 2002 r. dwie niezależne jednostki badawcze podjęły się poszukiwań przypuszczalnej roli NGAL w raku trzustki. Han i wsp., korzystając z wysokiej gęstości mikromacierzy cDNA przeprowadzili porównanie komórek normalnych i zmienionych nowotworowo trzustki, co wykazało 27-krotnie zwiększone stężenie NGAL w trzech liniach komórkowych raka trzustki w porównaniu do normalnej tkanki [9]. Inne badania przeprowadził zespół Iacobuzio-Donahue i wsp. [10,11]. Podczas analizy globalnego wzoru ekspresji genów w gruczolakoraku trzustki za pomocą mikromacierzy cDNA, zauważyli nadekspresję NGAL w raku trzustki. Wykazano także, że po wszczepieniu do trzustki u myszy bez grasicy komórek nowotworowych, trzustkowe komórki nowotworowe wydzielają NGAL ektopowo. Wpływa to na powstawanie znacznie mniejszych guzów i zmniejszoną częstość występowania przerzutów do wątroby. W warunkach *in vitro* nie zaobserwowano znaczącej różnicy w indeksie proliferacji komórek nowotworowych, uzyskanych od dwóch grup zwierząt [22]. Oprócz hamowania inwazji i przerzutów, NGAL wydaje się negatywnym regulatorem angiogenezy. Nowotworowe komórki trzustkowe z nadekspresją NGAL wydzielają znacznie mniejsze ilości VEGF w stosunku do komórek normalnych [22]. Oprócz badania poziomu ekspresji NGAL, stosując barwienie immunologiczne można identyfikować ogniska śródbłonkowych neoplazji, czyli przednowotworowych zmian prowadzących do raka inwazyjnego.

• NGAL w nowotworach jelita grubego

Rak jelita grubego (CRC) jest jednym z najczęściej występujących nowotworów przewodu pokarmowego na całym świecie i drugą najczęstszą przyczyną zgonów w Euro-

pie spowodowanych nowotworami. Uważa się, że NGAL odgrywa rolę w regulacji wzrostu komórek, gdyż jego ekspresja wzrasta w rozmaitych komórkach rozrostowych, takich jak komórki nowotworowe. Niektóre badania wbrew oczekiwaniom nie potwierdzają tej tezy, np. wydzielanie fizjologiczne NGAL nie pobudza wzrostu komórek jelita grubego, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Jednak dodanie ludzkiego rekombinowanego NGAL powoduje zmniejszenie inwazyjności silnie przerzutujących komórek linii raka KM12SM jelita *in vitro*. Nie ma wyraźnych dowodów eksperymentalnych ukazujących związek przyczynowy między sekrecją NGAL a proliferacją komórek nowotworowych. Zauważono jednak, że ekspresja NGAL hamuje zdolność komórek okrężnicy do inwazji *in vitro* oraz tłumi tworzenie przerzutów w eksperymentalnym modelu zwierzęcym [13]. Badania, które skupiają się na ludzkich tkankach jelita wykazały, że w tkankach nowotworowych dochodzi do nadekspresji NGAL. Zależność ekspresji NGAL i procesu nowotworzenia mogą być również skorelowane z tworzeniem kompleksu NGAL/MMP-9. NGAL może chronić MMP-9 przed degradacją proteolityczną, która jest fizjologicznym procesem o kluczowym znaczeniu w kontrolowaniu aktywności tego białka. Wówczas następuje wzrost aktywności MMP-9, który bierze udział w rozwoju raka na skutek degradacji składników cząsteczkowych błony podstawnej i macierzy zewnątrzkomórkowej. Dochodzi do uwalniania czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF) z zewnątrzkomórkowej macierzy, rozwoju naczyń, inwazji i tworzenia przerzutów odległych [1]. Duńscy badacze zaobserwowali bardzo wysoki poziom ekspresji NGAL w obszarach nabłonka okrężnicy w stanie zapalnym oraz przednowotworowych i nowotworowych zmianach komórek okrężnicy. W gruczolakoraku ekspresja NGAL była szczególnie wysoka w błonie śluzowej przejściowego oraz powierzchniowego obszaru owrzodzeń. Słaba ekspresja NGAL występowała w niektórych komórkach prawidłowego nabłonka okrężnicy. Wysoka ekspresja w tkankach zapalnych może potwierdzać hipotezę o przeciwzapalnej funkcji NGAL jako zmiatacza produktów bakteryjnych [18].

• Nowotwory dróg żółciowych oraz łagodne choroby dróg żółciowych

Karwin i wsp. przeprowadzili badanie w Klinice Chirurgii szpitala w Rejavithi, w którym porównywano poziom ekspresji NGAL. Grupa badana obejmowała 50 chorych na raka dróg żółciowych i 50 pacjentów z łagodnymi chorobami dróg żółciowych, którzy stanowili jednocześnie grupę kontrolną. Zaobserwowano wówczas znaczący wzrost ekspresji NGAL w grupie osób z nowotworem przewodów żółciowych w porównaniu z grupą pacjentów cierpiących z powodu innych chorób dróg żółciowych. Tajlandzcy naukowcy oznaczali także stężenie albumin, globulin, AST, ALT, ALP oraz bilirubiny bezpośrednio. Nadrzędnym celem badania było wykrycie zależności pomiędzy stężeniem NGAL a poziomem tych wskaźników biochemicznych. Zaobserwowano istnienie znaczącej korelacji, chociaż współczynniki nie przekraczały wartości 0,7. Oznaczano także poziom markera

nowotworowego, jakim jest CA 19-9. Zaobserwowano jego znaczący wzrost u osób z nowotworem dróg żółciowych w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenie we wszystkich próbkach zmierzono za pomocą testu immunoenzymatycznego ELISA. Wyniki zostały wyrażone w U/ml z przelicznikiem na ng/ml. Wartość diagnostyczna oznaczeń poziomu obydwu markerów, zarówno NGAL, jak i CA19-9 jest obiecująca. Jednak ich kliniczne wykorzystanie w diagnostyce różnicowej nowotworu dróg żółciowych od innych, nienowotworowych chorób dróg żółciowych wymaga potwierdzenia w dalszych badaniach [14].

Budzyńska i wsp. również analizowali zależność stężeń NGAL oraz CA 19-9. Pacjentów podzielono na dwie grupy. Pierwszą z nich stanowiło 16 chorych z rakiem dróg żółciowych i 6 z nowotworem trzustki. Do drugiej grupy przydzielono 18 pacjentów z nienowotworowymi chorobami dróg żółciowych. W badaniu przeprowadzonym na Uniwersytecie Medycznym w Katowicach nie zaobserwowano wpływu płci na poziom lipokaliny. Dodatkowo nie wykazano istnienia zależności pomiędzy stężeniem NGAL a masą ciała czy poziomem wskaźników biochemicznych, takich jak: CRP, ALT, AST, GGTP, bilirubina. Zaobserwowano jednak wyraźny wzrost stężenia NGAL w pierwszej grupie pacjentów ($1244 \text{ ng/ml} \pm 1186 \text{ ng/ml}$) w porównaniu z grupą chorych z łagodnymi chorobami dróg żółciowych, do której zakwalifikowano również pacjentów z kamicą dróg żółciowych ($674 \text{ ng/ml} \pm 965 \text{ ng/ml}$) $p=0,01$. Wynik ten potwierdza wyraźny wzrost stężenia NGAL w przypadku wystąpienia nowotworu [2].

W *The American Journal of Gastroenterology* w 2011 r. zamieszczono publikację opisującą przebieg analogicznych badań. Grupę badanych stanowiło 38 pacjentów, obejmujących 22 osoby z łagodnymi schorzeniami dróg żółciowych i 14 z nowotworami dróg żółciowych i trzustki [24]. Materiał badawczy stanowiła żółć, surowica i mocz. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu NGAL pomiędzy pacjentami z nowotworem a

chorymi na łagodne schorzenia dróg żółciowych. Stwierdzono jednak istotny wzrost stężenia NGAL pomiędzy tymi grupami, gdy analizowano próbki pochodzące z żółci pacjentów (mediana 1556 ng/ml vs. 480 ng/ml , $P = 0,007$).

PODSUMOWANIE

Lipokalina neutrofilowa związana z żelatynazą (NGAL) to glikoproteina o masie 25 kDa, należąca do nadrodziny lipokalin [12]. Charakteryzuje się małą masą cząsteczkową, zdolnością wiązania i transportowania cząsteczek hydrofobowych, m.in. kwasów tłuszczowych, retinoidów czy feromonów. Mimo dobrze poznanej budowy, funkcja i rola fizjologiczna tego związku nie zostały dotychczas jednoznacznie określone. Wiadomo jednak, że bierze on udział w transporcie żelaza w komórce. Strategia wyczerpania żelaza komórkowego regulowana przez NGAL potwierdza hipotezę o jego działaniu bakteriostatycznym [8]. Istotne jest także spostrzeżenie, iż regulowanie przez NGAL genów odpowiedzialnych za transport żelaza ma wpływ na proces różnicowania komórek pierwotnych. Związek ten uczestniczy także w regulacji odpowiedzi immunologicznej, metabolizmie komórek czy syntezie prostaglandyn. Nadal trwają badania nad wpływem NGAL na mechanizm apoptozy. Jedną z hipotez zakłada wzrost stężenia lipokaliny w odpowiedzi na bodźce indukujące śmierć komórek. Nie do końca jest też wyjaśniona jej funkcja jako składowej kaskady prowadzącej do apoptozy. Materiał biologiczny, w którym możemy obecnie oznaczać poziom tego związku, stanowi surowica krwi oraz mocz. Możliwość wykorzystania żółci do tego celu nie jest jeszcze udowodniona [21]. Podwyższoną ekspresję NGAL odnotowano w różnych nowotworach, w tym w raku jelita grubego, nowotworze piersi, jajników, trzustki czy płuc [16]. Aktualny stan wiedzy nie pozwala jednak na umieszczenie oznaczeń stężenia NGAL w standardach onkologicznych. Wykorzystanie lipokaliny neutrofilowej w diagnostyce nowotworów wymaga jeszcze wielu badań [3].

PIŚMIENICTWO

- [1] Baressi V., Luciano R., Vitarelli E., Labate A., Tuccari G., Barresi G.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin immunoreactivity in colorectal carcinoma: a stage-specific prognostic factor? *Oncol. Lett.*, 2010; 1: 1089-1096
- [2] Budzyńska A., Nowakowska-Dulawa E., Marek T., Boldys H., Nowak A., Hartleb M.: Differentiation of pancreatobiliary cancer from benign biliary strictures using neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2013; 64: 109-114
- [3] 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
- [4] Chakraborty S., Kaur S., Guha S., Batra S.K.: The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1826: 129-169
- [5] Du Z.P., Lv Z., Wu B.L., Wu Z.Y., Shen J.H., Wu J.Y., Xu X.E., Huang Q., Shen J., Chen H.B., Li E.M., Xu L.Y.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and its receptor: independent prognostic factors of oesophageal squamous cell carcinoma. *J. Clin. Pathol.*, 2011; 64: 69-74
- [6] Furutani M., Arii S.: Identification of a neutrophil gelatinase-associated lipocalin mRNA in human pancreatic cancers using a modified signal sequence trap method. *Cancer Lett.*, 1998; 122: 209-214
- [7] Gala-Błądzińska A., Kuźniewski M.: Oznaczanie lipokaliny związanej z żelatynazą neutrofilii (NGAL) w praktyce klinicznej. *Przegl. Lek.*, 2013; 70: 400-403
- [8] Goetz D.H., Holmes M.A., Borregaard N., Bluhm M.E., Raymond K.N., Strong R.K.: The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol. Cell.*, 2002; 10: 1033-1043
- [9] Han H., Bearss D.J., Browne L.W., Calaluze R., Nagle R.B., Von Hoff D.D.: Identification of differentially expressed genes in pancreatic cancer cells using cDNA microarray. *Cancer Res.*, 2002; 62: 2890-2896
- [10] Iacobuzio-Donahue C.A., Ashfaq R., Maitra A., Adsay N.V., Shen-Ong G.L., Berg K., Hollingsworth M.A., Cameron J.L., Yeo C.J., Kern

- S.E., Goggins M., Hruban R.H.: Highly expressed genes in pancreatic ductal adenocarcinomas: a comprehensive characterization and comparison of the transcription profiles obtained from three major technologies. *Cancer Res.*, 2003; 63: 8614-8622
- [11] Iacobuzio-Donahue C.A., Maitra A., Olsen M., Lowe A.W., van Heek N.T., Rosty C., Walter K., Sato N., Parker A., Ashfaq R., Jaffee E., Ryu B., Jones J., Eshleman J.R., Yeo C.J., et al.: Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am. J. Pathol.*, 2003; 162: 1151-1162
- [12] Immunoassays lipocalin-2-ngal-human-elisa. <http://www.biovendor.com> (02.06.2015)
- [13] 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
- [14] Leelawat K., Narong S., Wannaprasert J., Leelawat S.: Serum NGAL to clinically distinguish cholangiocarcinoma from benign biliary tract diseases. *Int. J. Hepatol.*, 2011; 2011: 873548
- [15] Loch J.: Badania strukturalne oddziaływań laktoglobuliny ze związkami o działaniu biologicznym. <http://www.zbf.wbbib.uj.edu.pl/documents/3312903/68672511/materialy%20ref.1.pdf> (20.05.2014)
- [16] Moniaux N., Chakraborty S., Yalniz M., Gonzalez J., Shostrom V.K., Standop J., Lele S.M., Ouellette M., Pour P.M., Sasson A.R., Brand R.E., Hollingsworth M.A., Jain M., Batra S.K.: Early diagnosis of pancreatic cancer: neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Br. J. Cancer*, 2008; 98: 1540-1547
- [17] Nguyen M.T., Devarajan P.: Biomarkers for the early detection of acute kidney injury. *Pediatric Nephrol.*, 2008; 23: 2151-2157
- [18] Nielsen P.N., Borregaard N., Bundgaard J.R.: Induction of NGAL synthesis in epithelial cells of human colorectal neoplasia and inflammatory bowel diseases. *Gut*, 1996; 38: 414-420
- [19] Radosz A., Obuchowicz A.: Potencjalne znaczenie diagnostyczne lipokaliny neutrofilowej związanej z żelatynazą. *Ann. Academiae Med. Silesiensis*, 2013; 67: 61-66
- [20] 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
- [21] Singer E., Markó L., Paragas N., Barasch J., Dragun D., Müller D.N., Budde K., Schmidt-Ott K.M.: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications. *Acta Physiol.*, 2013; 207: 663-672
- [22] 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
- [23] Wang H.J., He X.J., Ma Y.Y., Jiang X.T., Xia Y.J., Ye Z.Y., Zhao Z.S., Tao H.Q.: Expressions of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in gastric cancer: a potential biomarker for prognosis and an ancillary diagnostic test. *Anat. Rec.*, 2010; 11: 1855-1863
- [24] Zabron A., Horneffer-van der Sluis V.M., Wadsworth C.A., Laird F., Gierula M., Thillainayagam A.V., Vlavianos P., Westaby D., Taylor-Robinson S.D., Edwards R.J., Khan S.A.: Elevated levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in bile from patients with malignant pancreatobiliary disease. *Am. J. Gastroenterol.*, 2011; 106: 1711-1717
- [25] Zhang H., Xu L., Xiao D., Xie J., Zeng H., Wang Z., Zhang X., Niu Y., Shen Z., Shen J., Wu X., Li E.: Upregulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in oesophageal squamous cell carcinoma: significant correlation with cell differentiation and tumour invasion. *J. Clin. Pathol.*, 2007; 60: 555-561

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.