



Sveučilište u Zagrebu

FARMACEUTSKO-BIOKEMIJSKI FAKULTET

Vinka Mikulić

**DIJAGNOSTIČKA VRIJEDNOST NGAL I
HEPCIDINA U RANOM OTKRIVANJU
BUBREŽNOG OŠTEĆENJA U
NOVOROĐENČADI**

DOKTORSKI RAD

Mentori:

prof. dr. sc. Dunja Rogić

izv. prof. dr. sc. Ivanka Mikulić

Zagreb, 2023.

SAŽETAK

Nedostatak specifičnoga ranog biokemijskog biljega velik je problem u dijagnostici i liječenju bubrežnih oštećenja, u prvom redu akutnoga bubrežnog oštećenja (ABO) novorođenčadi. Laboratorijska dijagnostika bubrežnih oštećenja još uvijek se dobrim dijelom oslanja na promjene koncentracije kreatinina u serumu. Međutim, kreatinin kao biljeg oštećenja bubrega ima brojne nedostatke, od kojih je najveći nedovoljna dijagnostička osjetljivost. Posljedica je toga kasna dijagnoza, a samim time i ograničena rana terapijska intervencija. Stoga se kontinuirano istražuju rani biokemijski biljezi koji bi bili od pomoći u ranom otkrivanju i prevenciji bubrežnih oštećenja.

U ovom istraživanju izmjerene su koncentracije urinskih biljega hepcidina i lipokalina povezanog s neutrofilnom gelatinazom (NGAL, engl. *neutrophil gelatinase associated lipocalin*) te su uspoređene s biljezima općeg statusa bubrežne funkcije koji su trenutačno u upotrebi (kreatinin, cistatin C, eGFR). Radi što boljeg razumijevanja dijagnostičke točnosti izabranih biljega bubrežne funkcije ispitanici su bili podijeljeni u tri skupine: terminski zdrava novorođenčad (N-Z, N = 120), novorođenčad s akutnim bubrežnim oštećenjem (N-ABO, N = 20) te skupina s drugim bubrežnim oštećenjima i bolestima (N-DBB, N = 23). U svrhu ovog istraživanja koristila se isključivo ostatna količina seruma preostala nakon provedenih rutinskih laboratorijskih pretraga, a uzorci urina uzeti su unutar 72 sata nakon rođenja.

Rezultati ovog istraživanja utvrdili su više koncentracije urinskih biljega NGAL-a i hepcidina u novorođenčadi s ABO u odnosu na zdravu novorođenčad. Koncentracije NGAL-a u pacijenata s drugim bubrežnim bolestima statistički su bitno više u odnosu na zdravu novorođenčad, dok kod hepcidina nije opažen bitan porast koncentracije. Novorođenčad s ABO imala je statistički niže vrijednosti eGFR-a u odnosu na zdravu novorođenčad primjenom svih triju prediktivnih jednadžbi. Korištenjem cistatin C jednadžbe i CKID jednadžbe utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima eGFR-a između skupine s N-ABO i N-DBB. U procjeni dijagnostičke točnosti za novorođenčad u skupini N-ABO, u ovom se istraživanju NGAL pokazao najboljim izborom uz vrlo uvjerljive rezultate temeljene na ROC analizi. Dobivena je visoka vrijednost područja ispod krivulje koja je pri graničnoj vrijednosti 67,3 ng/mL iznosila 0,987, uz osjetljivost 97 % i specifičnost od 93,6 %. S druge strane, AUC vrijednost za hepcidin iznosila je 0,875, gdje granična vrijednost od 52,1 ng/mL ostvaruje jako dobru osjetljivost od 81 %, ali znatno slabiju dijagnostičku specifičnost 70 %. Na temelju rezultata ovog istraživanja u novorođenčadi s ABO rani porast koncentracije urinskih biljega te mogućnost brzoga, jednostavnog, standardiziranog i automatiziranog mjerenja, u prvom

redu NGAL-a, može doprinijeti realnom uključenju ovoga neinvazivnog biljega u svakodnevnu kliničku praksu.

Ključne riječi: lipokalin povezan s neutrofilnom gelatinazom (NGAL), hepcidin, cistatin C, procjena glomerularne filtracije (eGFR), bubrežno oštećenje.



University of Zagreb

FACULTY OF PHARMACY AND BIOCHEMISTRY

Vinka Mikulić

**DIAGNOSTIC MEANING OF NGAL AND
HEPCIDIN IN EARLY DETECTION OF
RENAL DAMAGE IN NEWBORNS**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisors:

Professor Dunja Rogić, Ph.D.

Associate Professor Ivanka Mikulić, Ph.D.

Zagreb, 2023

ABSTRACT

The lack of specific early biochemical markers is a major problem in the diagnosis and treatment of kidney damage, especially acute kidney injury (AKI) in neonates. Laboratory diagnostics of kidney damage still largely rely on changes in serum creatinine concentration. However, creatinine as a marker of kidney damage has numerous drawbacks, the biggest of which is inadequate diagnostic sensitivity. As a result, there is delayed diagnosis and hence limited early therapeutic intervention. Therefore, early biochemical markers that could aid in early detection and prevention of kidney damage are continuously being researched.

In this study, the concentrations of urinary biomarkers hepcidin and neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) were measured and compared with commonly used markers of general kidney function (creatinine, cystatin C, eGFR). To better understand the diagnostic accuracy of the selected kidney function markers, participants were divided into three groups: term healthy neonates (N-H, N = 120), neonates with acute kidney injury (N-AKI, N = 20), and a group with other kidney injuries and diseases (N-OKD, N = 23). Only the remaining serum samples after routine laboratory tests were used for this study, and urine samples were collected within 72 hours after birth.

The results of this study showed higher concentrations of urinary biomarkers NGAL and hepcidin in neonates with AKI compared to healthy neonates. NGAL concentrations in patients with other kidney diseases were significantly higher compared to healthy neonates, while no significant increase in hepcidin concentration was observed. Neonates with AKI had statistically lower eGFR values compared to healthy neonates using all three predictive equations. Using the cystatin C equation and CKID equation, a statistically significant difference in eGFR values was found between the N-AKI and N-OKD groups. In the assessment of diagnostic accuracy for newborns in the N-AKI group, this study showed that NGAL was the best choice with very convincing results based on ROC analysis. The obtained high area under the curve value was 0.987 at a cutoff value of 67.3 ng/mL, with a sensitivity of 97% and specificity of 93.6%. On the other hand, the AUC value for hepcidin was 0.875, with a cutoff value of 52.1 ng/mL achieving good sensitivity of 81%, but significantly lower diagnostic specificity of 70%. Based on the results of this study, the early rise in urinary biomarker concentrations in newborns with AKI and the possibility of fast, simple,

standardized, and automated measurement, primarily of NGAL, can contribute to the real inclusion of this non-invasive biomarker in everyday clinical practice.

Keywords: neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), hepcidin, cystatin C, estimated glomerular filtration rate (eGFR), renal damage.