

Molekulární hranice hemodialýzy: odhalování role membrán v genové expresi, epigenetice a zánětlivých drahách

Syeda H, Doan V, Shoker A, Abdelrasoul A. Molecular frontiers in hemodialysis: unraveling the role of membranes in gene expression, epigenetics, and inflammatory pathways.

Int Urol Nephrol 2025;57:4177–4208.

KLÍČOVÁ SLOVA: hemodialýza - dialyzační membrány - metylace DNA - epigenetika - chronický zánět - biokompatibilita

Osud dialyzovaného pacienta a délka i kvalita jeho života jsou dány adekvátní mimotělní eliminací a komplexní péčí v průběhu pravidelného dialyzačního léčení. Jsou ovlivněny i preexistujícími a *de novo* klinickými komplikacemi, jejich závažností, progresí a případně reverzibilitou, ale i specifickými rizikovými faktory souvisejícími s dialýzou. K nim řadíme nejen uremické toxiny, ale i nefyziologičnost procedury a biokompatibilitu dialyzačních systémů s chronickým zánětem. Pochopitelně všem těmto rizikům, spojeným s dialýzou přímo či nepřímo, pokud možno předcházíme a minimalizujeme je.

Dialyzační technologie, včetně biokompatibility membrán a eliminačních charakteristik, se setrvale zlepšují.¹ K další minimalizaci zbytkové biokompatibility i zánětlivého nastavení organismu jsou však důležité další poznatky, včetně poznatků z molekulárněgenetické oblasti. A právě tímto směrem se autoři zaměřují. Studují vztah mezi zánětem, epigenetickými změnami a genovými modifikacemi v kontextu dialyzační membrány i dialyzační procedury. Jejich práce shrnuje, jak se pokroky v dialyzační technologii promítly do epigenetických modifikací, genových expresí a do chronického zánětu dialyzovaných pacientů.

Článek je koncipován jako přehledová práce. Je rozsáhlý (31 tištěných stran a 369 literárních citací) a jeho čtení není jednoduché. Dosavadní poznatky o epigenetických mechanismech v oblasti dialýzy jsou neucelené a autoři sami na to v textu opakovaně upozorňují. Přesto je článek jako celek důležitý, protože důsledky pro dialyzovaného pacienta jsou nepochybné a takto pojatá analýza nebyla dosud publikována.

Z článku jsou pro prezentaci a komentář v Postgraduální nefrologii vybrány jen některé okruhy. Výběr je

limitován i tím, že z epigenetických mechanismů jsou vybrány jen poznatky, které se týkají metylace DNA; změny histonů a role nekódujících miRNA zde zmíněny nejsou, lze je však v článku najít.

Metylace DNA znamená připojení metylové skupiny ($-CH_3$) na pátou uhlíkovou pozici cytosinu, za kterou následuje guanin. Typicky pak vzniká CpG (cytosin-fosfát-guanin). Tato změna vede k inaktivaci (nikoliv ke změně struktury) daného genu. Brání vazbě příslušného transkripčního faktoru pro gen „postižený“ metylací DNA. Gen je ztišen a genová transkripce neprobíhá. Metylace DNA vede též ke kondenzaci chromatinové struktury, což opět snižuje úroveň transkripce metylovaného genu. Proces metylace DNA patří mezi epigenetické mechanismy, které zodpovídají za skutečnost, že i při podobné genetické výbavě je prezentace genové informace (neboli fenotyp) rozdílná.

Cílem tohoto textu není zprostředkovat jednotlivé detaily sofistikovaných vědeckých poznatků, ale spíše na tuto celou oblast upozornit. V běžné praxi totiž na dialyzační eliminaci nahlížíme automaticky jako na cestu, jak odstranit katabolity a vodu. Tento statický přístup však není postačující.

V mnoha patologických stavech, včetně nemocí ledvin, jejich selhání, uremie, dialyzační a transplantační léčby, se metylace DNA může měnit. Poznatky jsou však bohužel jen částečné.

Dialyzační procedura není biologicky inertní. Vlivem uremických toxinů, ale i samotným kontaktem krve s membránou se různou intenzitou aktivují různé prozánětlivé geny, a to i přes zlepšení biokompatibility mem-

brán. Charakteristiky moderních dialyzačních membrán se mezi sebou liší. Hydrofilní membrány jsou obecně více biokompatibilní. Hydrofobní membrány zvyšují adsorpci proteinů s následným snížením propustnosti a zvýšením predispozice k zánětu. Dalším aspektem je náboj membrány, kdy negativní náboj adsorpci bílkovin snižuje. Důležitá je i porozita a na významu nabývají i bioaktivní povrchy.² Zbytková inkompatibilita dialyzačních membrán však zůstává stále induktorem molekulárněgenetických negativních změn.³

Hemodialýza vyvolává nejen změny epigenetiky, jejíž nejvíce zkoumanou oblastí je právě metylace DNA, ale může vést i ke změně strukturální stability DNA. Narušení struktury DNA může způsobit mechanický stres, fluktuace pH, ale i oxidační stres. Chování fragmentů DNA v krvi během dialýzy není jasné. Konkrétní studie zaměřené přímo na vliv membrány na interakci DNA totiž nejsou k dispozici. Existují studie mapující změny během dialýzy, ale nikoliv při dialýze s konkrétní membránou.

Ovlivnění metylace DNA je rozdílné i podle dialyzační modalit, tedy alespoň v ojedinelé studii, která čeká na rozšíření a potvrzení. Pacienti léčení vysokopropustnou hemodialýzou vykazovali globální (celogenomovou) metylaci DNA významně vyšší než zdravé kontroly a také než pacienti léčení on-line hemodiafiltrací. Navíc metylace DNA byla nejvyšší u těch pacientů léčených hemodialýzou, kteří měli současně zánět. Pokud je koncentrace C-reaktivního proteinu (z jakýchkoliv příčin) zvýšena, metylace DNA stoupá neboli exprese zúčastněných genů je nižší. Hemodiafiltrace jako taková je tedy spojena s příznivějším (aditivně nesníženým) metylačním profilem DNA.⁴

Globální metylaci DNA zkoumaly i další práce, avšak s neshodnými výsledky.⁵⁻⁷ Poznatky o globální metylaci DNA však poskytují jen základní nespecifickou informaci, navíc jen pilotní. Pokud by výzkum měl směřovat k personalizované medicíně, tedy k cíli formulovanému samotnými autory, je třeba data nejen ověřit, ale rozšířit pro konkrétní geny, konkrétní membrány a konkrétně definovanou eliminační strategii. Je také důležité, zda je zkoumána celogenomová metylace (podle některých autorů je u dialyzovaných pacientů zvýšená, podle posledních prací je odlišná v závislosti na tkáni), či je metylace již genově cílená, a také to, v jakém biologickém materiálu je zkoumána (kvalitativní, avšak semikvantitativní výsledky přináší zkoumání tzv. cell-free DNA). Přesto i tato metoda ověřila, že během dialýzy dochází ke změně metylačního

statusu promotorů genů zapojených do imunitní reakce (konkrétně geny interleukinu 7 a další),⁸ kdy je popsáno, že cell-free DNA je během hemodialýzy zvýšená, a to nejspíše v důsledku apoptózy leukocytů na dialyzační membráně i jinde (sekvestrace neutrofilů v plicích).

Chronický zánět dialyzovaných pacientů nelze vnímat jen z pohledu infekce (byť ta se na něm často podílí, i když i v mitigované podobě), ale musíme vědět, že infekce ho dále zesiluje. Akcentaci působí i méně nápadné zdroje (periodontitida, dysfunkční graft *in situ*, infekce u umělého cévního graftu a další). Každé zvýšení koncentrace C-reaktivního proteinu je u dialyzovaných pacientů významné a hodnocení s poznámkou, že elevace je jen mírná, neobstojí. Autoři v textu opakovaně dokládají nepříznivý klinický dopad perzistujícího zánětu non-infekčního původu například na malnutrici, svalové chátrání a zejména na kardiovaskulární komplikace, a další nepříznivé klinické okolnosti pak představují další zhoršení.

Byl zmíněn rozdíl v metylaci DNA mezi modalitami mimotělní eliminační léčby. Zmíníme dále i změny metylace DNA vyvolané během procedury, tj. rozdílnou metylaci na konci procedury.⁸ Zde se za pevně prokázaný považuje vzestup exprese proinflamatorních genů (tj. došlo ke snížení jejich metylace).

Dialýza jako procedura sama o sobě zvyšuje zánětlivou reakci, a navíc mění i jiné epigenetikou ovlivněné charakteristiky. Příkladem u hemodialyzovaných pacientů je alterovaná exprese genů ve vztahu k fibróze (a důsledkem může být i cévní ztuhlost, pochopitelně v kontextu dalších mnoha faktorů). Bylo dokonce navrženo, že opakovaná expozice dialyzační proceduře neboli pravidelné dialyzační léčení jako takové může přispívat k progresivní tkáňové remodelaci neboli fibrotizaci.

Klíčové epigenetické změny ve vztahu k zánětu indukovanému dialýzou zahrnují nejen metylaci DNA, ale i modifikaci histonů a dysregulaci nekódujících miRNA neboli celá problematika je mnohem komplexnější. Navíc molekulárněbiologická realizace genetické informace je ovlivněna i environmentálními faktory, ke kterým zde patří uremické toxiny, oxidační stres a metabolické šířeji pojaté faktory, například hyperglykemie, porucha metabolismu homocysteinu a mnohé další. V celkovém kontextu pak epigenetické a doprovodné děje přispívají nejen k zánětlivému stavu a funkčním a orgánovým změnám, ale i k závažným kardiovaskulárním komplikacím, byť zde tvoří jen určitou část z mnohem silnějších vlivů.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Sylvie Dusilová Sulková, DrSc.

Již v roce 2007 popsal Stenvinkel globální hypermetylací DNA při selhání ledvin a jako první prokázal její asociaci se zánětlivým procesem, a dokonce i dokumentoval vztah ke zvýšené mortalitě dialyzovaných pacientů.⁹ Tato práce je považována

za klíčovou pro pochopení vztahu mezi zánětem a mortalitou dialyzovaných pacientů. Hypermetylace protizánětlivých genů totiž snižuje jejich dostupnost pro skutečnou biologickou roli a umožňuje, že takto podmíněný zánět je dlouhodobý, ba do-

konce perzistentní. Jeho vztah k dialýze je dán právě nyní již jen zbytkovou, avšak přece jen nenulovou biokompatibilitou. Dialyzovaní pacienti mají často nestabilní genom. Epigenetické změny významně ovlivňují úroveň skutečného genového přepisu neboli úroveň realizace genetické informace. Modifikují aktivitu genové transkripce, ale i následujících translačních dějů a v konečném účinku určují, kolik proteinu skutečně z daného genu vznikne. I proto pacienti se stejnou genetickou informací mohou mít odlišné výsledné projevy, tedy výsledný fenotyp. Epigenetické změny jsou vícečetné. Zahrnují metylaci DNA, modifikace histonů a aktivitu nekódujících mikroRNA (pro účely textu byly poslední dvě epigenetické komponenty vynechány). Celá problematika tedy zůstává velmi složitá, a navíc stále ovlivňovaná nejen uremickým prostředím, ale i dialyzační procedurou a dalšími vlivy, včetně environmentálních (například stravy).

K vlastnímu textu zde v komentáři ještě pro ilustraci, jak je celá oblast sice zdánlivě neviditelná, ale skutečně živá, doplníme dva okruhy konkrétních poznatků. Byl zmíněn rozdíl v metylaci globální DNA mezi hemodialýzou a hemodiafiltrací, a to obecně ve prospěch hemodiafiltrace.¹⁰ V souvislosti s tímto byla studována genomická nestabilita, ale také míra oxidačního stresu u pacientů sledovaných v časové řadě (na počátku a po šesti měsících), kteří byli převáděni z nízkopropustné hemodialýzy na postdiluční on-line hemodiafiltraci. Poškození DNA se zmírnilo, současně se zlepšila antioxidační kapacita. K mnoha dílčím výhodám hemodiafiltrace zřejmě přistupují i její více biokompatibilní charakteristiky.

Pro ilustraci nejen určité konkrétní oblasti, ale také vzhledem k přetrvávající rozdrobenosti a nekompletnosti poznatků uvedeme i zcela recentní sdělení nikoliv již z dialyzační oblasti, ale z oblasti orgánových poškození dialyzovaných pacientů. Epigenetické změny zřejmě odpovídají i za přeměnu difuzní na nodulární hyperplazii příštítných tělísek, tedy za změnu, kdy již nelze předpokládat žádný farmakologický profit.¹¹ I tyto poznatky, jako mnoho dalších, potřebují nejen svou vlastní verifikaci, ale i rozšíření do dalších oblastí.

Chronické selhání ledvin je konečná podoba onemocnění ledvin se zánikem funkcí ledvin. Postihuje část pacientů prakticky s jakýmkoliv chronickým onemocněním ledvin. Již v průběhu onemocnění ledvin se akumulují kardiovaskulární rizika, dělená v tomto kontextu na tradiční a netradiční neboli spojená s odlišným složením vnitřního prostředí, s retencí ionizovaného i neionizovaného sodíku, s volumovou zátěží, hypertenzí, anemií a dalšími mechanismy hyperkinetické cirkulace, do určité míry i s dyslipidemií a dalšími metabolickými faktory. S progresí se pak podíl metabolických příčin zvyšuje, neboť již od stadia chronického onemocnění ledvin 3b se rozsah a spektrum metabolických změn rozšiřují, například o komplexní dopad poruchy metabolismu fosforu, progresivní akumulaci fibroblastového růstového faktoru 23, ztrátu fetuinu-A, odlišný metabolismus vitamínu D a v konečné podobě nejen o kostní, ale i o kardiovaskulární důsledky hyperparatyreózy.

Tím je vysvětleno velmi vysoké kardiovaskulární riziko a klinické manifestace onemocnění srdce a cév již v predialyzačním období. Určité projevy, resp. jejich většina, se během dialyzačního léčení neupraví; naopak přistupují i faktory související s dialýzou. Běžně v praxi pracujeme s těmi, které vidíme – hypertenze, převodnění, hyperfosfatemie, hemodynamická nestabilita a další.

Problematika epigenetických změn zůstává rozkryta jen částečně. Opět je však třeba zdůraznit, že komentovaná práce náš pohled na tuto problematiku výrazně rozšiřuje. Uvádí nás do oblasti, která přesahuje náš běžný zorný úhel. Jejím alespoň základním pochopením však můžeme v čase skutečně přinést našim pacientům prospěch při volbě nejen nejmodernější léčby, ale i léčby personalizované. Vždy však půjde o oblast doprovodnou, která důraz na včasný záchyt a zaměření na doložitelné kvantitativně i kvalitativně silné ukazatele nenahradí, ale doplní.

Podpořeno NETPHARM/New Technologies in Pharmaceutical Sciences, reg. č. CZ.02.01.01/00/22_008/0004607.

LITERATURA

1. Bowry SK, Kircelli F, Himmele R, et al. Blood-incompatibility in haemodialysis: alleviating inflammation and effects of coagulation. *Clin Kidney J* 2021;14(Suppl 4):i59–i71.
2. Melchior P, Erenkötter A, Zawada AM, et al. Complement activation by dialysis membranes and its association with secondary membrane formation and surface charge. *Artif Organs* 2021;45:770–778.
3. Ávila E, Sepúlveda RA, Retamal J, et al. Biocompatibility in hemodialysis: artificial membrane and human blood interactions. *BMC Nephrol* 2025;26:482.
4. Ghigolea AB, Moldovan RA, Gherman-Caprioara M. DNA methylation: hemodialysis versus hemodiafiltration. *Ther Apher Dial* 2015;19:119–124.
5. Cheng Y, Liu P, Xie G, et al. DNA methylation in chronic kidney disease. *BMC Nephrol* 2025;26:455.
6. Ingrosso D, Perna AF. DNA methylation dysfunction in chronic kidney disease. *Genes (Basel)* 2020;11:811.
7. Hsu CY, Sun CY, Lee CC, et al. Global DNA methylation not increased in chronic hemodialysis patients: a case-control study. *Ren Fail* 2012;34:1195–1199.
8. Korábečná M, Pazourková E, Horinek A, et al. Alteration in methylation status of immune response genes promoters in cell-free DNA during a hemodialysis procedure. *Expert Opin Biol Ther* 2012;12(Suppl 1):S27–S33.
9. Stenvinkel P, Karimi M, Johansson S, et al. Impact of inflammation on epigenetic DNA methylation – a novel risk factor for cardiovascular disease? *J Intern Med* 2007;261:488–499.
10. Rodríguez-Ribera L, Pastor S, Corredor Z, et al. Genetic damage in patients moving from hemodialysis to online hemodiafiltration. *Mutagenesis* 2016;31:131–135.
11. Kitazawa R, Kobayashi A, Kitazawa S. Hypermethylation of the p16^{INK4a} promoter as an early epigenetic event in nodular hyperplasia associated with secondary hyperparathyroidism. *Acta Histochem Cytochem* 2025;58:161–172.