

## Význam biomarkerů sRAGE a S100A12

Isayama N, Leurs P, Qureshi AR, et al. Plasma S100A12 and soluble receptor of advanced glycation end product levels and mortality in chronic kidney disease stage 5 patients. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:84–91.

**K**ardiovaskulární mortalita nemocných s chronickým onemocněním ledvin (chronic kidney disease, CKD) je oproti běžné populaci zvýšena. Zvýšené kardiovaskulární riziko souvisí mj. se zánětem, oxidačním stresem a endoteliální dysfunkcí. V centru pozornosti je receptor pro konečné produkty pokročilé glykace (RAGE) a jeho ligandy. Jedním z ligandů je EN-RAGE (extracellular newly identified RAGE ligand – extracelulární nově identifikovaný ligand RAGE), rovněž známý jako protein S100A12. Tento protein je exprimován řadou buněčných typů v místě zánětu, cestou RAGE ovlivňuje zánětlivou odpověď a může popisovat aktivitu choroby. Naopak sRAGE (solubilní RAGE, extracelulární doména RAGE) je potenciálně protektivním faktorem pro rozvoj aterosklerózy a v prozánětlivých podmínkách je jeho koncentrace oproti S100A12 spíše snížena. Jinak je tomu ale u pacientů s chronickým onemocněním ledvin, především u pacientů dlouhodobě léčených hemodialýzou, kde jsou oba parametry, S100A12 i sRAGE, významně zvýšeny. Protein S100A12 je navíc v této populaci spojen s kardiovaskulární mortalitou, nicméně toto zjištění v různých studiích není zcela jednoznačné. Cílem studie bylo zaměřit se na nemocné s CKD 5, kteří zahajují pravidelnou dialyzační léčbu, a na roli proteinu S100A12 a receptoru sRAGE pro predikci mortality.

Jde o post hoc analýzu prospektivní studie zahrnující nemocné s CKD 5, kteří zahajují dialyzační léčbu v Univerzitní nemocnici Karolinska ve Stockholmu ve Švédsku. Pacientů bylo celkem 200, medián věku dosahoval 56 let, medián glomerulární filtrace (GF) 6,2 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; 56 z těchto nemocných již bylo dialyzováno (medián 9 dní, rozmezí 2–47 dní), ale protože se jejich plazmatické koncentrace sRAGE a S100A12 nelišily od zbylých 144 nemocných, kteří ještě dialyzováni nebyli, byli do studie zahrnuti všichni nemocní. Třetinu nemocných tvořili diabetici, 39 % z nich mělo v anamnéze kardiovaskulární onemocnění, 96 % užívalo antihypertenziva. Pacienti byli sledováni po dobu pěti let, v případě transplantace byla analýza přežití ukončena. Medián sledování tak dosahoval 23 měsíců. Pro srovnání byla koncentrace sRAGE a S100A12 v plazmě stanovena také u 58 nemocných pravidelně léčených hemodialýzou (HD) a u 78 nemocných léčených peritoneální dialýzou (PD) po jednom roce léčby, u 56 nemocných s CKD 3–4 a u 50 náhodně vybraných kontrol (oba imunochemicky metodou ELISA). U všech subjektů byly změřeny také zánětlivé a nutriční parametry a další laboratorní charakteristiky a u vybrané podskupiny také další ligand RAGE – HMGB1 (high mobility group box protein-1) – metodou western blot. Pro statistickou analýzu byly použity standardní testy včetně mnohorozměrové Coxovy regresní analýzy.

Plazmatické koncentrace proteinu S100A12 byly čtyřikrát vyšší u nemocných s CKD 5 ve srovnání s kontrolami. Podobné plazmatické koncentrace S100A12 byly pozorovány i u pacientů s CKD 3–4 a nemocných léčených HD a PD. Plazmatická koncentrace sRAGE byla 2,4krát vyšší u pacientů s CKD 5 ve srovnání s kontrolami, ale bez rozdílu oproti nemocným léčeným HD a PD. Plazmatické koncentrace sRAGE byly zvýšeny i u pacientů s CKD 3–4 proti kontrolám, ale byly nižší než u nemocných s CKD 5. Poměr

S100A12/sRAGE byl 2,27krát vyšší u CKD 5 než u zdravých kontrol. V případě pacientů s CKD 5 byly plazmatické koncentrace S100A12 vyšší u diabetiků a u nemocných s pozitivní kardiovaskulární anamnézou a korelovaly s hodnotami vysoce senzitivního C-reaktivního proteinu (hsCRP;  $p = 0,53$ ;  $p < 0,001$ ). Hodnoty sRAGE u CKD 5 korelovaly negativně s GF ( $p = -0,26$ ;  $p < 0,01$ ), ale ne s CRP ani s komorbiditami. Protein HMGB1 byl stanoven jen ve vybraných podskupinách a vykazoval různé vztahy k sRAGE a S100A12 v závislosti na přítomnosti zánětu, především negativní korelaci s receptorem sRAGE pouze u pacientů s CKD 5 se zvýšeným CRP. V průběhu sledování 27 % nemocných ve skupině CKD 5 zemřelo, u 42 % z nich byla příčina úmrtí kardiovaskulární a u 25 % byla příčinou infekce. Protein S100A12 byl asociován s celkovou mortalitou – v modelu s adjustací na věk a komorbiditu (diabetes mellitus a kardiovaskulární onemocnění), subjektivní stav, koncentrace albuminu a hsCRP bylo HR (hazard ratio, relativní riziko) 1,32 (95% interval spolehlivosti [confidence interval, CI]: 1,01–1,73);  $p = 0,044$ . Vztah ke kardiovaskulární mortalitě nebyl statisticky významný, ale byl pozorován pozitivní trend směrem ke zvýšenému kardiovaskulárnímu riziku. Naopak sRAGE neměl vztah k celkové mortalitě.

Studie popisuje významné zvýšení koncentrací S100A12 i sRAGE ve stadiu s CKD 5 a též s CKD 3–4 u dlouhodobě dialyzovaných nemocných (HD i PD) a shrnuje, že tyto změny jsou typické pro onemocnění ledvin. U pacientů s CKD 5 má protein S100A12 vztah k zánětu, komorbiditám a zvýšené mortalitě. Tyto vztahy ovšem nebyly pozorovány v případě sRAGE, který proto autoři považují za nevhodný marker pro určení rizika v této populaci nemocných.

### ■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

Práce Isayamy a spol. se věnuje receptoru RAGE, jeho solubilní formě a jeho ligandům především u nemocných s CKD 5, u kterých na rozdíl od nemocných léčených dialýzou podrobnější data dosud chyběla. Receptor RAGE je znám již více než dvacet let, přesto je stále předmětem studia u řady patologických stavů. I když se v článku hovoří především o onemocnění ledvin, ateroskleróze a diabetes mellitus, tento receptor se spoluúčastní též patogeneze nádorových onemocnění či Alzheimerovy choroby. RAGE byl nejprve popsán jako receptor pro konečné produkty pokročilé glykace (AGEs – advanced glycation end products), nicméně jde o receptor multiligandový, který váže též proteiny S100, HMGB1,  $\beta$ -amyloid, Mac-1, glykosaminoglykany či kyselinu lysofosfatidovou. Společně např. s toll-like receptorem (TLR) patří mezi PRR – pattern recognition receptors, tedy receptory pro DAMPs (damage-associated molecular patterns), a PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) a hraje roli v regulaci imunitní odpovědi, buněčné smrti a diferenciace. Kromě transmembránové formy RAGE, která má význam z hlediska signalizace (řadou cest, mj. přes volné radikály, MAP-kinázy, nukleární faktor  $\kappa$ B), existuje také solubilní forma – sRAGE, která vzniká vlivem alternativního sestřihu nebo proteolytickým štěpením RAGE a jejíž protektivní účinky byly prokázány v experimentu. Protein S100A12, o kterém se v článku píše, stejně jako HMGB1, patří mezi DAMPs a jsou také nazývány alarminy. S100A12 je sekretován především neutrofilními granulocyty a jeho vysoké koncentrace byly popsány u zánětlivých stavů. Pro komplexnost by bylo vhodné zmínit, že RAGE je nejen receptor multiligandový, ale také ligandy RAGE se mohou vázat i na jiné receptory, jako je např. TLR, či mít další patologické účinky (modifikace proteinů prostřednictvím AGEs).

Solubilní receptor RAGE – sRAGE – je měřitelný v séru i plazmě a jeho koncentrace významně souvisí s funkcí ledvin (Kalousová et al., 2006). Asociace s renální funkcí byla potvrzena v předložené studii i v další nedávné studii na 1 218 nemocných (Rebholz et al., 2015). Zmíněná studie Rebholze a spol. (Atherosclerosis Risk in Communities study) popsala vztah vyšší koncentrace sRAGE k rozvoji CKD, nicméně tento vztah nebyl významný po adjustaci na odhadovanou glomerulární filtraci (eGF), což opět potvrzuje významný vztah sRAGE k funkci ledvin. V běžné populaci je koncentrace sRAGE u stavů spojených se zánětem či diabetes mellitus a jeho komplikacemi snížena. V populaci 261 nemocných s terminálním selháním ledvin (end-stage renal disease, ESRD) léčených hemodialýzou byla pozorována negativní korelace s reaktanty akutní fáze fibrinogenem a orosomukoidem a s počtem leukocytů a nižší sérové koncentrace u nemocných s diabetickou nefropatií (Kalousová et al., 2007). Chování sRAGE tedy bylo podobné jako v běžné populaci, i když při podstatně vyšších koncentracích, daných silným vlivem snížené funkce ledvin. Přestože tedy předložená studie nepopsala žádný vztah sRAGE k zánětu ani ke komorbiditám a nepovažuje sRAGE za významný marker, je třeba na toto zjištění pohlížet s nadhledem a vědomím, že kromě hsCRP a S100A12 žádný další marker zánětu hodnocen nebyl. Navíc významný prognostický vliv sRAGE byl popsán u akutních stavů.

Co se týče proteinu S100A12, více studií prokazuje jeho jasný vztah k zánětu a zánětlivým parametrům. U pacientů s onemocněním ledvin je popisováno různé zvýšení hodnot S100A12 – minimální či v předložené studii čtyřnásobně. I u nevýrazného zvýšení je ale patrná korelace se zánětlivými parametry. Zvýšení koncentrace S100A12 je typické pro zánětlivá onemocnění – u střevních zánětů, Kawasakiho syndromu či revmatoidní artritidy. Receptor S100A12 je hodnocen jako dobrý marker a nezávislý prediktor mortality, nicméně po adjustaci na komorbiditu a CRP je význam sice signifikantní, ale hraniční (HR 1,32; 95%

CI: 1,01–1,73;  $p = 0,044$ ). Podobně ve studii zahrnující 184 pravidelně hemodialyzovaných nemocných ve Švédsku byl S100A12 významným prediktorem celkové a kardiovaskulární mortality, ale po adjustaci na zánět zůstala významnou pouze jeho prediktivní hodnota pro kardiovaskulární mortalitu, ale ne pro celkovou mortalitu (Nakashima et al., 2010). Podobně v naší studii na 261 pravidelně hemodialyzovaných nemocných byl S100A12 významným prediktorem pro mortalitu z důvodu zánětu, pouze pokud nebyl hodnocen současně s CRP. Určitým problémem může být standardizace výsledků – dřívější práce týkající se S100A12 používaly imunochemické metody připravené ve vlastní laboratoři, další práce používaly výzkumnou metodu ELISA (metody pro klinické použití nejsou k dispozici) a koncentrace naměřené v jednotlivých studiích u stejných skupin nemocných se do určité míry různí. Vždy je ale patrný vztah k zánětu. Doposud nejsou k dispozici bližší informace o metabolismu S100A12, jeho exkreci a intraindividuální variabilitě. Protein S100A12 je jistě velmi slibným markerem, nicméně k jeho využití je potřeba dorešit výše uvedené problémy. Do té doby nám zřejmě stále zůstane hlavním zánětlivým markerem klasický CRP.

#### Literatura

- Kalousová M, Hodková M, Kazderová M, et al. Soluble receptor for advanced glycation end products in patients with decreased renal function. *Am J Kidney Dis* 2006;47:406–411.
- Kalousová M, Jáchymová M, Mestek O, et al. Receptor for advanced glycation end products-soluble form and gene polymorphisms in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:2020–2026.
- Kalousová M, Kuběna AA, Benáková H, et al. EN-RAGE (extracellular newly identified receptor for advanced glycation end-products binding protein) and mortality of long-term hemodialysis patients: a prospective observational cohort study. *Clin Biochem* 2012;45:556–560.
- Nakashima A, Carrero JJ, Qureshi AR, et al. Effect of circulating soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) and the proinflammatory RAGE ligand (EN-RAGE, S100A12) on mortality in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:2213–2219.
- Rebholz CM, Astor BC, Grams ME, et al. Association of plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and risk of kidney disease: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:77–83.