Karbamylované proteiny – biomarker srdečního selhání a mortality diabetiků s terminálním renálním selháním

Drechsler C, Kalim S, Wenger JB, Suntharalingam P, Hod T, Thadhani RI, Karumanchi SA, Wanner C, Berg AH. Protein carbamylation is associated with heart failure and mortality in diabetic patients with end-stage renal disease. Kidney Int 2015;87:1201–1208.

Jedním z následků dlouhodobého zvýšení koncentrace močoviny u pacientů s onemocněním ledvin je karbamylace proteinů, tedy modifikace proteinů prostřednictvím močoviny. Karbamylovaný albumin (a jiné proteiny) odráží koncentraci urey podobně jako glykovaný hemoglobin HbA_{1c} odráží dlouhodobou koncentraci glukózy. Karbamylace proteinů může být dále potencována deficitem aminokyselin, který je u nemocných s terminálním selháním ledvin častý. Karbamylovaný albumin tak ukazuje nejen průměrnou koncentraci urey v čase, ale též proteino-energetickou malnutrici pacientů léčených hemodialýzou. Nedávné práce popisují vztah karbamylovaných proteinů k mortalitě nemocných léčených hemodialýzou. Karbamylace má proaterosklerotické účinky – dochází k modifikace LDL i HDL. Důsledkem je snížené vychytávání karbamylovaných LDL částic prostřednictvím LDL receptorů, místo toho se vážou na makrofágové scavangerové receptory a dochází ke vzniku pěnových buněk. Bylo prokázáno, že pacienti s vyššími hodnotami karbamylovaných proteinů jsou více postiženi kardiovaskulárními chorobami. Vzhledem k tomu, že autoři studie v nedávné práci zjistili vztah mezi karbamylovaným albuminem a 12měsíční celkovou mortalitou pacientů na hemodialýze i po adjustaci na rizikové faktory, považovali za vhodné prozkoumat tuto problematiku podrobněji. Zaměřili se především na význam karbamylovaného albuminu v dlouhodobé prognóze (čtyřleté sledování nemocných), specifické příčiny úmrtí, vztah ke komorbiditám, lipidové parametry a přínos léčby atorvastatinem.

Pro analýzu karbamylovaného albuminu (C-alb) bylo využito 1 161 vzorků nemocných zapojených do studie 4D (Die Deutsche Diabetes Dialyse Studie). Studie 4D byla prospektivní randomizovaná, kontrolovaná studie zkoumající účinek atorvastatinu na mortalitu 1 255 nemocných ve věku 18–80 let s diabetem 2. typu léčených méně než dva roky hemodialýzou. V průběhu let 1998–2002 byli pacienti do studie vybíráni ve 178 dialyzačních centrech v Německu a randomizováni k léčbě 20 mg atorvastatinu nebo k užívání placeba jedenkrát denně. Vzorky byly odebrány týden před randomizací a u všech nemocných byly zaznamenány detailní klinické charakteristiky. Vzorky u 124 nemocných již nebyly k dispozici, proto bylo pro analýzu použito pouze 1 161 vzorků. Byl sledován osud nemocných a zaznamenávány příčiny úmrtí. Úmrtí z kardiovaskulární příčiny bylo dále rozděleno do kategorií zahrnujících infarkt myokardu, srdeční selhání, úmrtí z důvodu ischemické choroby srdeční do 28 dní po intervenci a náhlou smrt. V předložené analýze je separátně hodnocena celková mortalita, kardiovaskulární mortalita, náhlá smrt, infarkt myokardu, cévní mozková příhoda a úmrtí z důvodu infekce. C-alb byl stanoven metodou hmotnostní spektrometrie a hodnoty C-alb jsou udávány v poměru k non C-alb. Další laboratorní analýzy byly provedeny v centrální laboratoři studie 4D. Pro statistickou analýzu byl použit software SPSS a standardní testy včetně mnohorozměrové Coxovy regrese. C-alb byl hodnocen jako spojitá proměnná. Pro hodnocení přínosu léčby atorvastatinem byly subjekty stratifikovány do tercilů podle hodnot C-alb.

Pacienti byli dle výsledků C-alb rozděleni do tří skupin. Vyšší hodnoty C-alb byly spojeny s vyššími koncentracemi urey a kreatininu před dialýzou i po ní, s vyššími hodnotami fosfátů a kalia, ale též s vyšší hodnotou N-terminálního proBNP (brain natriuretic peptide), troponinu T, intaktního parathormonu, alkalické fosfatázy, HDL cholesterolu. Dále byly asociovány s nižším BMI (body mass index), s nižšími koncentracemi celkového cholesterolu, hemoglobinu a ferritinu. C-alb slabě pozitivně koreloval s troponinem T a N-terminálním-proBNP. Vysoká hodnota C-alb souvisela také s diagnózou srdečního selhání, fibrilací síní a hypertenzí. C-alb naopak nebyl asociován s anamnézou ischemické choroby srdeční, ischemické choroby dolních končetin ani s cerebrovaskulárním postižením. Při testování významu C-alb pro jednoleté přežití byla v jednorozměrové analýze vysoká hodnota C-alb silně asociována s úmrtím ze všech příčin, kardiovaskulárními i nekardiovaskulárními příčinami úmrtí. Nejsilnější asociace byla pozorována pro kardiovaskulární mortalitu, především náhlou smrt. Po adjustaci na řadu přidružených faktorů zůstala signifikantní asociace s rizikem náhlé smrti (poměr rizik [hazard ratio, HR] 3,78; 95% interval spolehlivosti [IS] 1,18–12,10; p = 0,025), s celkovou mortalitou a kardiovaskulární mortalitou. Nebyla však prokázána souvislost s rizikem infarktu myokardu. Při posuzování významu C-alb pro dlouhodobou prognózu (4 roky) byl C-alb v jednorozměrové analýze asociován s celkovou a kardiovaskulární mortalitou, náhlou smrtí a srdečním selháním. Po adjustaci v mnohorozměrové analýze zůstaly signifikantní riziko úmrtí z důvodu srdečního selhání (HR 4,64; 95% IS 1,11–19,51; p = 0,036), kardiovaskulární mortalita a celková mortalita, ale již ne náhlá smrt. Při podrobnější analýze se ukázalo, že tento vztah není dán jen preexistujícími komorbiditami. V další analýze byl hodnocen účinek léčby atorvastatinem. U nemocných léčených atorvastatinem, kteří měli C-alb v nejnižším tercilu, bylo pozorováno snížení mortality. U nemocných s C-alb v prostředním a nejvyšším tercilu však nebyl zaznamenán žádný přínos z léčby atorvastatinem.

Studie souhrnně ukazuje vztah zvýšené karbamylace proteinů k markerům kardiálního postižení a ke kardiovaskulární mortalitě, především ke krátkodobému riziku mortality z důvodu náhlé smrti a k dlouhodobému riziku mortality z důvodu srdečního selhání. Studie dále ukazuje, že z léčby statiny mají prospěch pouze nemocní s nízkým stupněm karbamalyce (C-alb).

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Marta Kalousová, Ph.D.

Práce Drechslerové a spol. se zabývá karbamylovaným albuminem (C-alb), který je jedním z biomarkerů karbamylace. Karbamylace je posttranslační modifikací proteinů, a to prostřednictvím urey. Mezi další posttranslační modifikace proteinů patří např. glykace – vznik konečných produktů pokročilé glykace (AGE, advanced glycation end products), oxidace – modifikace prostřednictvím oxidačního stresu a vznik produktů pokročilé oxidace proteinů (AOPP, advanced oxidation protein products) či homocysteinylace – navázání homocysteinu na proteiny. Modifikace proteinů mění jejich strukturu, fyzikální a chemické vlastnosti, může ovlivnit jejich funkci a působit jako neoantigen, tedy indukovat tvorbu protilátek.

V případě karbamylace je zdrojem modifikace proteinů jeden z uremických toxinů – urea (močovina). Močovina je látka o malé molekulové hmotnosti (Mr 60), která je známa již od konce 18. století a je běžně stanovována v séru pacientů s onemocněním ledvin. Ne vždy se na ni nahlíželo jako na uremický toxin. Bylo prokázáno, že zvýšené odstraňování urey nezlepšilo přežití, přitom zvýšené odstraňování solutů bez ovlivnění urey přežití zlepšilo. Stejně tak při-

dání urey do dialyzátu a tím zvýšení její koncentrace v plazmě nad hodnoty běžné u hemodialyzovaných nemocných neovlivnilo uremickou symptomatologii. V experimentálních studiích však bylo popsáno, že suprafyziologické koncentrace urey indukují produkci kyslíkových radikálů a inzulinovou rezistenci v adipocytech, a rovněž byla popsána modifikace proteinů prostřednictvím urey. Močovina se využívá pro posouzení účinnosti dialyzační léčby – poskytuje informaci pro malé molekuly dobře rozpustné ve vodě, tj. dobře dialyzovatelné.

I když hovoříme o karbamylaci proteinů v souvislosti s vysokou koncentrací urey, je třeba si uvědomit, že existují dvě cesty vzniku karbamylovaných proteinů. První cesta tedy souvisí s ureou a ve zvýšené míře se uplatňuje u chronického onemocnění ledvin. Dekompozicí urey vzniká izokyanát, který neenzymaticky reaguje s N-koncem aminokyselin nebo ε-aminoskupinou lysinových zbytků. Druhá cesta je enzymatická a souvisí s oxidačním stresem a zánětem. Využívá leukocytární myeloperoxidázu, která katalyzuje oxidaci thiokyanátu v přítomnosti peroxidu vodíku na izokyanát. Za zmínku stojí, že koncentrace thiokyanátu jsou zvýšeny u kuřáků.

Autoři studie spekulují o tom, že riziko náhlé smrti v krátkodobé prognóze nemocných souvisí s „hyperkarbamylací" srdečních proteinů, a představuje tak akutní inzult převodního systému. Naopak dlouhodobé riziko je dáno příspěvkem karbamylace k uremické kardiomyopatii a fibróze, které postupem času progredují. Práce navíc ukazuje, že na rozdíl od studie 4D, ve které nebyl prokázán přínos z léčby statiny v blíže neselektované populaci diabetiků léčených hemodialýzou, přece jen existuje skupina těchto nemocných, kteří mohou mít z léčby prospěch podobně jako jiné skupiny nemocných. Jde o nemocné s nízkým stupněm karbamylace, kteří mají zároveň vyšší koncentraci cholesterolu – pacienti s vyšším stupněm karbamylace měli již vstupně tendenci k nižším koncentracím cholesterolu.

Samozřejmě se nabízí otázka, zda a jak lze karbamylaci ovlivnit. Na prvním místě jistě stojí ovlivnění hladiny urey, která je zdrojem izokyanátu. Karbamylaci podléhají nejen proteiny, ale i volné aminokyseliny, a to dokonce ve větší míře než proteiny. Nemocní s terminálním selháním ledvin jsou často v proteino-energetické malnutrici a mají deficit volných aminokyselin. Pilotní studie u limitovaného počtu nemocných skutečně prokázala slibný potenciál léčby aminokyselinami ke snížení karbamylace. Vzhledem ke spoluúčasti oxidačního stresu na karbamylaci byl in vitro zkoumán také význam některých antioxidantů (kyselina askorbová, α-tokoferol, lykopen), rovněž s dobrým výsledkem. Pro rutinní praktické použití zmíněných látek pro snížení karbamylace je však třeba vyčkat větších klinických studií.

Literatura

Berg AH, Drechsler C, Wenger J, et al. Carbamylation of serum albumin as a risk factor for mortality in patients with kidney failure. Sci Transl Med 2013;5:175–129.

Velasquez MT, Ramezani A, Raj DS. Urea and protein carbamylation in ESRD: surrogate markers or partners in crime? Kidney Int 2015;87:1092–1094.

Verbrugge FH, Tang WH, Hazen SL. Protein carbamylation and cardiovascular disease. Kidney Int 2015 Jun 10. doi: 10.1038/ki.2015.166. [Epub ahead of print]