



The new adipokine zinc- α 2-glycoprotein (ZAG) as a link between adipose tissue and kidney?

Łukasz Woźny¹, Małgorzata Morawiecka-Pietrzak^{2,3}, Majka Jaszczura², Katarzyna Ziara²,
Władysław Grzeszczak¹

¹Department of Internal Medicine, Diabetology, and Nephrology, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

²Department of Paediatrics, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

³Department of Medical and Molecular Biology, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland

Abstract

Adipose tissue is currently considered not only as an energy store but also as an organ of internal secretion. Numerous adipocytokines regulating a number of human body processes are important in many disease processes, including chronic kidney disease (CKD). Nowadays, the role of zinc α 2-glycoprotein (ZAG) is being sought as a potential link between these two organs. ZAG, through its lipolytic effect, contributes to progressive malnutrition in patients undergoing dialysis, and this significantly increases their mortality. It seems that ZAG may be a new potential biomarker of kidney damage, and the specific pharmacotherapy will significantly reduce the progressive process of cachexia. (*Endokrynol Pol* 2019; 70 (2): 179–189)

Key words: ZAG (zinc- α 2-glycoprotein); malnutrition; adipose tissue; chronic kidney disease

Introduction

For the past few years the perception of adipose tissue as only an energy store has ceased to be valid. Currently, adipose tissue is considered as a highly active endocrine organ secreting hormonally active proteins — adipocytokines [1]. These hormones play an important role in a number of physiological processes, acting both locally (autocrine/paracrine) and in distant organs (endocrine). They participate in energy homeostasis, carbohydrate and lipid metabolism, sex hormone synthesis, cardiovascular activities, haematopoiesis, angiogenesis, and immunological processes [2]. In addition to well-known adipocytokines such as adiponectin, leptin, visfatin, omentin, or apelin, new molecules arouse scientists' interest. One of these new molecules is the ZAG protein (zinc- α 2-glycoprotein). For the first time, this glycoprotein was isolated in 1961 [3], and further studies confirmed that it is secreted by a number of other organs such as kidneys, liver, mammary glands, sweat glands, or digestive tract [4]. Recent reports indicate that fat tissue is responsible for the secretion of this glycoprotein [5]. Despite its 50-year history, this protein is still not

fully understood and the number of functions that it performs in the body indicates the multidirectional nature of its action [6]. In addition, ZAG is designated as a potential biomarker in various types of cancer, including breast, prostate, bladder, and lung cancer [7–9]. Significantly increased levels of ZAG in the serum of cancer patients have been demonstrated, which gives hope for the use of this glycoprotein as a potential biomarker for these diseases. Due to the essential role of adipose tissue metabolism in the modelling and progression of malnutrition in cancer cachexia, scientists are looking for similar mechanisms that contribute to malnutrition in chronic diseases of various aetiologies, e.g. in end-stage renal disease. In order to prevent the growing number of people with chronic kidney disease, the most common cause of which remains diabetes type 2, it is important to find early biomarkers of their damage. The gold standard for monitoring the progress of diabetic nephropathy is still the assessment of microalbuminuria. However, subsequent publications prove that ZAG may become a potentially new biomarker, and thanks to this it will allow earlier implementation of treatment and inhibition of the progression of nephropathy [10].



Łukasz Woźny, Department of Internal Medicine, Diabetology, and Nephrology, School of Medicine with the Division of Dentistry in Zabrze, Medical University of Silesia, Katowice, Poland, tel: (+48) 32 370 44 88; e-mail: lukasz.wozny@med.sum.edu.pl

The structure of ZAG

ZAG (zinc- α 2-glycoprotein) is a 40 kDa protein consisting of a single chain of 278 amino acids. The protein is produced by numerous organs and secreted into various body fluids. For the first time, this glycoprotein was isolated from peripheral blood in 1961 by Burgi et al. [3]; however, subsequent tests have also proved its presence in urine, semen, sweat, saliva, cerebrospinal fluid, and amniotic fluid. Ohkubo et al. [11] showed a six-fold higher concentration of zinc α 2-glycoprotein in semen compared to its peripheral blood concentration. Recent research has shown that adipose tissue also participates in its active secretion — the presence of mRNA by RT-PCR in white adipose tissue cells and brown adipose tissue in mice has been confirmed. The gene for ZAG is located on the long arm of chromosome 7; it consists of four exons and three introns [12]. Its expression is regulated by androgens and progestogens, while glucocorticosteroids are responsible for increased expression in adipose tissue. In their research, Russell and Tisdale put forwards the claim that the 5'-flanking region of the gene significantly regulates the transcription process because it contains several sequences to which transcription factors are attached [13]. In Ueyama et al.'s study, it transpired that the 5'-flanking region of the human ZAG gene contains the TATA box, CAT box, octamer sequence, and three possible Sp1 binding sites, which are potential factors regulating the transcription of this protein [12]. The exact spatial structure of ZAG was discovered in 1999 when Sanchez et al. isolated the crystalline structure of the protein using X-ray crystallography. It turned out that the molecule largely shows homology with major histocompatibility complex (MHC) class I molecules at the same time, suggesting an important role in modelling the body's immune mechanisms. The amino acid chain consists of three domains: α 1, α 2, and α 3. The first two have disulphide bonds homologously in the same positions as molecules belonging to the MHC class I. Domains α 1 and α 2 form a characteristic groove responsible for the antigen connection so that ZAG, similarly to MHC class I molecules, is involved in the binding of various proteins, antigens, and ligands. However, unlike them, ZAG does not have β 2-microglobulin, which is the basis of MHC class I molecules [14].

ZAG as a multidisciplinary protein

In the scientific literature ZAG is called a multifunctional protein. Over 50 years of research has proven an important role in a number of processes at both tissue and cellular levels. Initially, due to its high concentration in semen, ZAG was thought to be a key factor regulat-

ing the process of fertilisation. The lipid metabolism pathways are presumably a significant mechanism for modulating sperm motility. Contemporary research suggests the relationship between ZAG and lipid metabolism, which is based on the observations of the breakdown of phospholipids and the ratio of cholesterol to phospholipids. It turned out that ZAG is able to bind to the sperm cell membranes and regulate their motility depending on the concentration of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in semen [15]. The high degree of sequence homology with MHC class I tissue compatibility proteins and a similar spatial structure allowed the qualification of zinc glycoprotein in the MHC-I- family of similar immunoglobulins [16]. A long time after identification of ZAG, researchers were not able to identify its role in the context of carbohydrate-lipid metabolism. Recently it turned out that the protein functions are similar to the later discovered lipid-mobilising factor (LMF). Similarly to LMF, ZAG induces lipolysis via cAMP through the stimulation of adenylate cyclase and, ultimately, through the activation of hormone-dependent lipase (HSL) [17]. Although it was initially thought that both LMF and ZAG are produced directly by tumour cells, and only then are they transported to adipose tissue, the results of Bing et al. (2004) showed that ZAG is directly synthesised and then secreted in white (WAT) and brown (BAT) adipose tissue [18]. Studies conducted on mouse models have shown that due to LMF-induced lipolysis, MAC16 tumour-laden mice have lower body weight (wild type with 42% body fat reduction, ob/ob mice with 19% body fat reduction) with unchanged water content, non-fat weight, and equivalent food and water intake [17]. Similarly to LMF, ZAG induces cAMP lipolysis by the stimulation of adenylate cyclase in the GTP-dependent mechanism, ultimately activating HSL. These findings were confirmed by the Russell-Zimmerman study, in which the researchers compared the lipolytic capabilities of ZAG to LMF in two trials: *in vitro* and *in vivo*. During the first trial, it was proven that ZAG that is present in human plasma releases glycerol from epididymal adipose tissue cells — this effect becomes enhanced after the implementation of cAMP Ro20-1724 inhibitor phosphodiesterase; however, it is much decreased using the β 3-adrenoreceptor SR59230A antagonist. *In vivo*, a significant decrease in body weight was observed with unchanged energy supply and water intake, and this decline was closely related to the reduction of adipose tissue. This was linked to an increase in energy expenditure, which was the result of increased expression of the mitochondrial uncoupling protein 1 (UCP-1) brown adipose tissue. These studies ultimately confirmed that ZAG stimulates adenylate cyclase in adipose tissue through β 3-adrenergic receptors [19]. The discovery

of the lipolytic effect of ZAG gave rise to further studies on the relationship between glycoprotein and the progressive process of malnutrition. This is particularly true for cancer cachexia but also for a range of chronic diseases, among which this process is most marked in chronic kidney disease.

Malnutrition in end-stage chronic kidney disease

Chronic kidney disease (CKD) is a multi-symptom syndrome resulting from permanent damage or a reduction in the number of active nephrons destroyed by various disease processes ongoing in the kidney parenchyma. In 2012, Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) put forward a view that it is persistent (> 3 months) structural abnormalities or renal function of relevance to health. Chronic kidney disease was divided into five stages, depending on the degree of kidney function measured by the glomerular filtration rate (GFR) [20]. The final, fifth stage, termed end-stage renal disease, is the stage in which the accumulation of uremic toxins occur, the intensification of malnutrition and increased inflammatory response. The main role in the pathogenesis of inflammatory processes is played by pro-inflammatory cytokines and their derivatives, which are chemokines. Co-occurrence of malnutrition, inflammation, and atherosclerosis is defined in patients with end-stage renal disease as MIA syndrome (malnutrition-inflammation-atherosclerosis) [21]. Unfortunately, each component of the MIA team is an independent risk factor for death. The key role in the development of MIA syndrome is played by pro-inflammatory cytokines: interleukin 6 (IL-6), interleukin 1 (IL-1), and tumor necrosis factor alpha (TNF- α). The causes of persistent inflammation in the final stage of renal failure are still not fully understood. The accumulation of uremic toxins and decreased cytokine clearance is probably responsible for this. Factors such as oxidative stress or the underlying disease, which leads to the end stage of the disease, e.g. glomerulopathy or collagenosis, are significant [22]. Because of the chronic loss of protein caused by its reduced supply, catabolism, and loss of urine, patients are very often deficient in globulins, which significantly impairs the immune response. This, unfortunately, leads to recurrent infections that drive back the network of pro-inflammatory cytokines, creating a "vicious circle" image. The most important cytokine in this context, due to the induction of a number of other factors, remains IL-6 [23, 24]. Its action within the liver cells results in increased production of proteins such as C-reactive protein, ferritin, and fibrinogen. It is also responsible for inhibiting the synthesis of albumin or transferrin. Thus, hypoalbumi-

naemia enhances oedema already existing in end-stage renal failure. The low level of transferrin, in turn, contributes to anaemia, which is usually present as a result of reduced production of erythropoietin. Numerous studies have shown that elevated levels of C-reactive protein (CRP) and IL-6, which indicates the presence of sub-clinical inflammation, occur in patients with end-stage renal disease both before and during renal replacement therapy, regardless of the type of treatment [25]. Both elevated levels of CRP and IL-6 are risk factors for non-cardiac and cardiovascular death, which are the main cause of death in this group of patients. [26, 27]. In the study by Bologi et al. haemodialysis showed a correlation between elevated IL-6 levels and lowering of albumin and total cholesterol. An analogous situation occurred in relation to TNF- α . Moreover, statistically higher concentrations of the above-mentioned pro-inflammatory cytokines and low concentrations of albumin, total cholesterol, and low body mass index (BMI) were associated with higher mortality [28]. The cytokine that regulates fat tissue metabolism is TNF- α . It inhibits the transcription of lipoprotein lipase (LPL), and this results in reduced transport of fatty acids from plasma lipoproteins to adipose tissue cells while causing the growth of lipid compounds in the peripheral blood. However, studies on human adipocytes have provided contradictory reports — no decreased LPL mRNA level or a decrease in enzyme activity has been observed [29]. Elevated levels of TNF- α occurring in patients treated with renal replacement therapy translate into a stronger lipolytic effect, the ERK kinase mediates the process and increases the intracellular level of cAMP [30]. In summary, there is a significant relationship between the cytokine system and malnutrition of chronic diseases including end-stage renal failure and fat metabolism.

Lipids metabolism and malnutrition

Progressive malnutrition is one of the main factors that shorten the lives of patients with end-stage disease significantly. In recent years, pathophysiological mechanisms that link to the metabolism of adipose tissue are sought. In the context of lipid metabolism in patients with end-stage renal disease there is a kind of paradox: on the one hand, low total cholesterol levels and LDL are a beneficial atheroprotective agent; on the other hand, they contribute to progressive malnutrition [31]. Adipose tissue stores fatty acids in the form of triacylglycerols, which is the vast majority of energy reserve in the human body. The lipoprotein lipase enzyme (LPL) is responsible for the release of fatty acids from plasma lipoproteins, and these are subsequently transported to fat cells where triacylglycerols are synthesised. Lipolysis, however, is induced in a process

dependent of cAMP and protein kinase A (PKA), which activates HSL by a number of factors including lipolytic hormones: adrenaline, glucagon, and adrenocorticotrophic hormone (ACTH). Triacylglycerols are converted into fatty acids and glycerol due to lipolysis [32]. Loss of fat tissue in cancer cachexia occurs primarily due to increased lipolysis because, in comparison with healthy people, there is an increased turnover of glycerol and free fatty acids. Plasma concentrations of glycerol, fatty acids, and triacylglycerols measured on an empty stomach are significantly higher in patients with cancer and cachexia than in patients who have maintained stable body mass; moreover, such persons show greater sensitivity to the lipolytic effect of adrenaline. As early as in 1987 Legaspi et al. indicated that the turnover of glycerol and fatty acid was increased by 25%, and it is similar to the rate found in patients with severe burns [33]. Cancer cachexia is characterised by gradual loss of adipose tissue, which may result in a reduction of up to 85% of fat mass, with a loss of approximately 30% of the total mass [34]. In another study by Thompson et al., the concentration of HSR mRNA and protein was measured both in patients with cancer wasting and in the control group. In the first group, observed levels were statistically higher by 50 and 100% in comparison to healthy people. It is also worth noting that the levels of mRNA and LPL protein were comparable, and the concentrations of triacylglycerols and fatty acids in serum were twice as high as in the control group [29]. Moreover, characteristic pathomorphological changes have been demonstrated on mouse models devastated by the malignancy process. Adipocyte shrinkage and anisocytosis is observed, as well as intensification of the process of fibrogenesis in white adipose tissue. Changes are also noticeable at the cellular level — there is a change in the conformation of their cell membrane, while in the mitochondria there appear a greater number of combs. Significant reduction of both mRNA and adipogenic transcription factors such as C/EBP α and β , PPAR and SREBP-1c was also observed, while the level of UCP2 was increased [35]. In the case of end-stage renal failure, the rate of progression and the degree of fat mass reduction is several times smaller, while the mechanisms leading to it are similar. In this context, recent research suggesting the potential role of ZAG adipocytokine as a factor enhancing lipolysis and thus enhancing the catabolic processes of the body in patients with end-stage renal failure are very promising.

ZAG and chronic kidney disease

After isolation of the zinc glycoprotein from the blood serum and finding its high concentration in the semen, its presence was also sought in other bodily fluids. The

presence of zinc glycoprotein in the urine was very quickly proven, and the study of Shibata et al. in the early 1980s indicated that it is excreted in the urine as a result of damage to the basal glomerulus membrane in the course of various glomerulopathies [36]. Current research focused on the search for early biomarkers of kidney damage and assessment of its progression, which is detected by the growing number of people with type 2 diabetes. In the Wang et al. study, people with long-lasting type 2 diabetes and healthy people were examined. In both groups, the estimated level of glomerular filtration, albumin/creatinine ratio, and ZAG by ELISA method were measured in both urine and peripheral blood. The results showed that people from the study group had statistically significantly higher concentrations of ZAG both in urine and peripheral blood in comparison with the control group (serum: 38.29 ± 22.72 mg/L vs. 21.61 ± 8.83 mg/L urine: 53.64 ± 29.48 mg/g vs. 28.17 ± 10.64 mg/g). In addition, a positive correlation was observed regarding serum ZAG concentration and creatinine and eGFR levels, while urinary ZAG levels correlated with the albumin/creatinine index. This gave hope that ZAG could be used as a new biomarker for kidney damage [37]. Lim et al. investigated three groups of men with type 2 diabetes: with normal renal function, with diabetic nephropathy with albuminuria (albumin/creatinine index > 1000 mg/g and GFR < 60 mL/min/1.73 m²) and with diabetic nephropathy without albuminuria (GFR < 60 mL/min/1.73 m² and albumin/creatinine index < 30 mg/g). Then, by means of electrophoresis and the western-blot method, the concentration of proteins in the urine of patients examined in individual groups was isolated. It transpired that in the group with diabetic nephropathy without albuminuria, the concentration of zinc α 2-glycoprotein was significantly higher than in the other groups. This suggests that ZAG may be a potential biomarker of kidney damage, especially for the group of patients with diabetic nephropathy [38]. Referring to an earlier discussion on the relationship between lipid metabolism and chronic kidney disease, the findings of Peletier et al. are very interesting. They showed a significantly increased synthesis of ZAG in white adipose tissue in people with chronic kidney disease. It was investigated whether the uraemic environment in chronic kidney disease can change the production of ZAG and contribute to metabolic disorders. When comparing healthy individuals and people with chronic kidney disease, a significant increase in ZAG synthesis was observed in the study group (124%). It was associated with a significant increase in basic lipolysis (31%) and significantly decreased lipogenesis (53%) in the 3T3-L1 model of adipocytes in vitro. Biopsies of subcutaneous white adipose tissue from patients

with end-stage renal disease showed a higher content of ZAG (573%) than in the case of healthy subjects. In the next stage, the concentration of ZAG in white adipose tissue in mice and rats after nephrectomy was tested in vivo. In 5/6 nephrectomised rats and mice in vivo there was a significant decrease in white adipose tissue (44% and 43%, respectively). However, concentrations of ZAG in these cases were significantly higher in comparison with control animals (498% and 106%, respectively) [39]. Once again, these studies suggested that overproduction of ZAG may be the main factor of metabolic disorders occurring in chronic kidney disease. Because of the important role of lipid metabolism in the induction of atherosclerotic complications, which are the main cause of cardiovascular events also in chronic kidney disease, the question arises: how can ZAG influence the regulation of these processes? In the Leal et al. study, a relationship was sought between ZAG and inflammatory and atherogenic factors including adiponectin, LDL, TNF- α , interleukin-6, and vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) in haemodialysis patients. The serum concentration of these proteins was determined by the ELISA method, and it was compared between haemodialysis and healthy subjects. The concentrations of inflammatory cytokines and ZAG (151.5 ± 50.1 mg/L vs. 54.6 ± 23.0 mg/L, $p < 0.0001$) were statistically significantly higher in haemodialysis patients, and a negative correlation was observed with TNF- α ($r = -0.39$; $p = 0.001$) and VCAM-1 ($r = -0.52$, $p < 0.0001$). A positive correlation was noted against the level of anti-LDL antibodies ($r = 0.38$, $p = 0.016$) [40].

Conclusion

The review of the latest literature allows us to conclude that ZAG is a promising indicator that may be included in the diagnostic methods of chronic kidney disease. However, despite the long history of protein the current data is insufficient to fully evaluate the usefulness of ZAG and the understanding of its pathophysiological mechanisms. Further studies are still needed concerning the relationship between ZAG and malnutrition, which is very common in end-stage renal disease. The aspect of the increased lipolytic effect and the increased risk of cardiovascular events in chronic kidney disease are undeniable.

References

- Manna P, Jain SK. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015; 13(10): 423–444, doi: [10.1089/met.2015.0095](https://doi.org/10.1089/met.2015.0095), indexed in Pubmed: [26569333](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26569333/).
- Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. 2004; 92(3): 347–355, doi: [10.1079/BJN.2004.1213](https://doi.org/10.1079/BJN.2004.1213), indexed in Pubmed: [15469638](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15469638/).
- Burgi W, Schmid K. Preparation and properties of Zn-alpha 2-glycoprotein of normal human plasma. *J Biol Chem*. 1961; 236: 1066–1074, indexed in Pubmed: [13689030](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13689030/).
- Kelleher SL, McCormick NH, Velasquez V, et al. Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate, and mammary gland. *Adv Nutr*. 2011; 2(2): 101–111, doi: [10.3945/an.110.000232](https://doi.org/10.3945/an.110.000232), indexed in Pubmed: [22332039](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22332039/).
- Mracek T, Ding Q, Tzanavari T, et al. The adipokine zinc-alpha2-glycoprotein (ZAG) is downregulated with fat mass expansion in obesity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010; 72(3): 334–341, doi: [10.1111/j.1365-2265.2009.03658.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2009.03658.x), indexed in Pubmed: [19549246](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19549246/).
- Hassan MdI, Waheed A, Yadav S, et al. Zinc alpha 2-glycoprotein: a multidisciplinary protein. *Mol Cancer Res*. 2008; 6(6): 892–906, doi: [10.1158/1541-7786.MCR-07-2195](https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-2195), indexed in Pubmed: [18567794](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18567794/).
- Fearon KCH, Glass DJ, Guttridge DC. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. *Cell Metab*. 2012; 16(2): 153–166, doi: [10.1016/j.cmet.2012.06.011](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.06.011), indexed in Pubmed: [22795476](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22795476/).
- Yip PY, Kench JG, Rasiah KK, et al. Low AZGP1 expression predicts for recurrence in margin-positive, localized prostate cancer. *Prostate*. 2011; 71(15): 1638–1645, doi: [10.1002/pros.21381](https://doi.org/10.1002/pros.21381), indexed in Pubmed: [21432866](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21432866/).
- Abdul-Rahman PS, Lim BK, Hashim OH. Expression of high-abundance proteins in sera of patients with endometrial and cervical cancers: analysis using 2-DE with silver staining and lectin detection methods. *Electrophoresis*. 2007; 28(12): 1989–1996, doi: [10.1002/elps.200600629](https://doi.org/10.1002/elps.200600629), indexed in Pubmed: [17503403](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17503403/).
- Wang Y, Li YM, Zhang S, et al. Adipokine zinc-alpha-2-glycoprotein as a novel urinary biomarker presents earlier than microalbuminuria in diabetic nephropathy. *J Int Med Res*. 2016; 44(2): 278–286, doi: [10.1177/0300060515601699](https://doi.org/10.1177/0300060515601699), indexed in Pubmed: [26857862](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26857862/).
- Kong B, Michalski CW, Hong X, et al. AZGP1 is a tumor suppressor in pancreatic cancer inducing mesenchymal-to-epithelial transdifferentiation by inhibiting TGF- β -mediated ERK signaling. *Oncogene*. 2010; 29(37): 5146–5158, doi: [10.1038/onc.2010.258](https://doi.org/10.1038/onc.2010.258), indexed in Pubmed: [20581862](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20581862/).
- Huang Cy, Zhao Jj, Lv L, et al. Decreased expression of AZGP1 is associated with poor prognosis in primary gastric cancer. *PLoS One*. 2013; 8(7): e69155, doi: [10.1371/journal.pone.0069155](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069155), indexed in Pubmed: [23935945](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23935945/).
- Russell ST, Tisdale MJ. The role of glucocorticoids in the induction of zinc-alpha2-glycoprotein expression in adipose tissue in cancer cachexia. *Br J Cancer*. 2005; 92(5): 876–881, doi: [10.1038/sj.bjc.6602404](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602404), indexed in Pubmed: [15714206](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15714206/).
- Parris TZ, Kovács A, Aziz L, et al. Additive effect of the AZGP1, PIP, S100A8 and UBE2C molecular biomarkers improves outcome prediction in breast carcinoma. *Int J Cancer*. 2014; 134(7): 1617–1629, doi: [10.1002/ijc.28497](https://doi.org/10.1002/ijc.28497), indexed in Pubmed: [24114735](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24114735/).
- Ding Z, Qu F, Guo W, et al. Identification of sperm forward motility-related proteins in human seminal plasma. *Mol Reprod Dev*. 2007; 74(9): 1124–1131, doi: [10.1002/mrd.20624](https://doi.org/10.1002/mrd.20624), indexed in Pubmed: [17393427](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17393427/).
- Tsukamoto K, Deakin JE, Graves JA, et al. Exceptionally high conservation of the MHC class I-related gene, MRI, among mammals. *Immunogenetics*. 2013; 65(2): 115–124, doi: [10.1007/s00251-012-0666-5](https://doi.org/10.1007/s00251-012-0666-5), indexed in Pubmed: [23229473](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23229473/).
- Bing C, Mracek T, Gao D, et al. Zinc-a2-glycoprotein: an adipokine modulator of body fat mass? *Int J Obes (Lond)*. 2010; 34(11): 1559–1565, doi: [10.1038/ijo.2010.105](https://doi.org/10.1038/ijo.2010.105), indexed in Pubmed: [20514048](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20514048/).
- Bing C, Bao Yi, Jenkins J, et al. Zinc-alpha2-glycoprotein, a lipid mobilizing factor, is expressed in adipocytes and is up-regulated in mice with cancer cachexia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(8): 2500–2505, doi: [10.1073/pnas.0308647100](https://doi.org/10.1073/pnas.0308647100), indexed in Pubmed: [14983038](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14983038/).
- Russell ST, Zimmerman TP, Domin BA, et al. Induction of lipolysis in vitro and loss of body fat in vivo by zinc-alpha2-glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1636(1): 59–68, doi: [10.1016/j.bbali.2003.12.004](https://doi.org/10.1016/j.bbali.2003.12.004), indexed in Pubmed: [14984739](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14984739/).
- KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. *Kidney Int*. 2012; 2(Suppl 2): 139–274.
- Mak RH, Ikizler AT, Kovesdy CP, et al. Wasting in chronic kidney disease. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2011; 2(1): 9–25, doi: [10.1007/s13539-011-0019-5](https://doi.org/10.1007/s13539-011-0019-5), indexed in Pubmed: [21475675](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21475675/).
- Sikorska D, Szkudlarek M, Kłysz P, et al. Przekrojowa ocena związku między stadium przewlekłej choroby nerek a wskaźnikami przewlekłego stanu zapalnego i wybranymi wskaźnikami zmian w układzie sercowo-naczyniowym. *Nowiny Lek*. 2013; 82(3): 197–203.
- Beberashvili I, Sinuani I, Azar A, et al. IL-6 levels, nutritional status, and mortality in prevalent hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011; 6(9): 2253–2263, doi: [10.2215/CJN.01770211](https://doi.org/10.2215/CJN.01770211), indexed in Pubmed: [21852667](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21852667/).
- Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, et al. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl*. 2002(80): 103–108, doi: [10.1046/j.1523-1755.61.s80.19.x](https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.61.s80.19.x), indexed in Pubmed: [11982823](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11982823/).
- Shafi T, Jaar BG, Plantinga LC, et al. Association of residual urine output with mortality, quality of life, and inflammation in incident hemodialysis

- patients: the Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am J Kidney Dis.* 2010; 56(2): 348–358, doi: [10.1053/j.ajkd.2010.03.020](https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2010.03.020), indexed in Pubmed: 20605303.
26. Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S. Plasma interleukin-6 is independently associated with mortality in both hemodialysis and pre-dialysis patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2010; 77(6): 550–556, doi: [10.1038/ki.2009.503](https://doi.org/10.1038/ki.2009.503), indexed in Pubmed: 20016471.
 27. Amabile N, Guérin AP, Tedgui A, et al. Predictive value of circulating endothelial microparticles for cardiovascular mortality in end-stage renal failure: a pilot study. *Nephrol Dial Transplant.* 2012; 27(5): 1873–1880, doi: [10.1093/ndt/gfr573](https://doi.org/10.1093/ndt/gfr573), indexed in Pubmed: 22036944.
 28. Mak RH, Cheung WW, Zhan JY, et al. Cachexia and protein-energy wasting in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2012; 27(2): 173–181, doi: [10.1007/s00467-011-1765-5](https://doi.org/10.1007/s00467-011-1765-5), indexed in Pubmed: 21298504.
 29. Mracek T, Stephens NA, Gao D, et al. Enhanced ZAG production by subcutaneous adipose tissue is linked to weight loss in gastrointestinal cancer patients. *Br J Cancer.* 2011; 104(3): 441–447, doi: [10.1038/sj.bjc.6606083](https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6606083), indexed in Pubmed: 21245862.
 30. Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab.* 2012; 15(5): 635–641, doi: [10.1016/j.cmet.2012.04.001](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.001), indexed in Pubmed: 22560216.
 31. Gołębiewska J, Lichodziejewska-Niemierko M, Rutkowski B. Miejsce octanu megestrolu w leczeniu niedożywienia u pacjentów dializowanych. *Nefrol Dial Pol.* 2007; 11: 66–69.
 32. Grabiec K, Burchert M, Milewska M, et al. Ogólnoustrojowe i miejscowe mechanizmy prowadzące do kacheksji w chorobach nowotworowych [Systemic and local mechanisms leading to cachexia in cancer]. *Postępy Hig Med Dośw.* 2013; 67: 1397–1409, doi: [10.5604/17322693.1085135](https://doi.org/10.5604/17322693.1085135).
 33. Legaspi A, Jeevanandam M, Starnes HF, et al. Whole body lipid and energy metabolism in the cancer patient. *Metabolism.* 1987; 36(10): 958–963, indexed in Pubmed: 3657515.
 34. Evans WJ. Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(4): 1123S–1127S, doi: [10.3945/ajcn.2010.28608A](https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.28608A), indexed in Pubmed: 20164314.
 35. Park J, Euhus DM, Scherer PE. Paracrine and endocrine effects of adipose tissue on cancer development and progression. *Endocr Rev.* 2011; 32(4): 550–570, doi: [10.1210/er.2010-0030](https://doi.org/10.1210/er.2010-0030), indexed in Pubmed: 21642230.
 36. Shibata S, Miura K. Nephritogenic glycoprotein. IX. Plasma Zn-alpha2-glycoprotein as a second source of nephritogenic glycoprotein in urine. *Nephron.* 1982; 31(2): 170–176, doi: [10.1159/000182638](https://doi.org/10.1159/000182638), indexed in Pubmed: 6896906.
 37. Wang Y, Li YM, Zhang S, et al. Adipokine zinc-alpha-2-glycoprotein as a novel urinary biomarker presents earlier than microalbuminuria in diabetic nephropathy. *J Int Med Res.* 2016; 44(2): 278–286, doi: [10.1177/0300060515601699](https://doi.org/10.1177/0300060515601699), indexed in Pubmed: 26857862.
 38. Lim SC, Liying DQ, Toy WC, et al. Adipocytokine zinc a2 glycoprotein (ZAG) as a novel urinary biomarker for normo-albuminuric diabetic nephropathy. *Diabet Med.* 2012; 29(7): 945–949, doi: [10.1111/j.1464-5491.2011.03564.x](https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2011.03564.x), indexed in Pubmed: 22211921.
 39. Pelletier CC, Koppe L, Croze ML, et al. White adipose tissue overproduces the lipid-mobilizing factor zinc a2-glycoprotein in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2013; 83(5): 878–886, doi: [10.1038/ki.2013.9](https://doi.org/10.1038/ki.2013.9), indexed in Pubmed: 23423258.
 40. Leal VO, Lobo JC, Stockler-Pinto MB, et al. Is zinc-a2-glycoprotein a cardiovascular protective factor for patients undergoing hemodialysis? *Clin Chim Acta.* 2012; 413(5–6): 616–619, doi: [10.1016/j.cca.2011.12.002](https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.12.002), indexed in Pubmed: 22178218.



Czy nowa adipocytokina cynkowa $\alpha 2$ -glikoproteina (ZAG) stanowi ogniwo między tkanką tłuszczową a nerkami?

Łukasz Woźny¹, Małgorzata Morawiecka-Pietrzak^{2, 3}, Majka Jaszczura², Katarzyna Ziara²,
Władysław Grzeszczak¹

¹Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

²Katedra i Klinika Pediatrii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

³Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Artykuł jest tłumaczeniem pracy: Łukasz Woźny, Małgorzata Morawiecka-Pietrzak, Majka Jaszczura, Katarzyna Ziara, Władysław Grzeszczak. *The new adipokine zinc- $\alpha 2$ -glycoprotein (ZAG) as a link between adipose tissue and kidney?* *Endokrynol Pol* 2019; 70 (2): 179–184.

Należy cytować wersję pierwotną.

Piśmiennictwo dostępne w wersji pierwotnej na stronach 183–184.

Streszczenie

Obecnie tkankę tłuszczową rozpatruje się nie tylko jako magazyn energii, ale jako narząd wydzielania wewnętrznego. Liczne adipocytokiny, regulując szereg procesów ustroju człowieka, mają znaczenie w wielu procesach chorobowych, w tym w przewlekłej chorobie nerek (PChN). Obecnie poszukuje się roli cynkowej $\alpha 2$ -glikoproteiny (ZAG) jako potencjalnego ogniwa pomiędzy tymi dwoma organami. Poprzez efekt lipolityczny ZAG przyczynia się do postępującego niedożywienia u chorych dializowanych, a to znacząco zwiększa śmiertelność w tej grupie pacjentów. Wydaje się, że ZAG może stanowić nowy potencjalny biomarker uszkodzenia nerek, a swoista farmakoterapia mogłaby w istotny sposób zredukować postępujący proces wyniszczenia. (*Endokrynol Pol* 2019; 70 (2): 185–189)

Słowa kluczowe: ZAG (cynkowa $\alpha 2$ -glikoproteina); niedożywienie; tkanka tłuszczowa; przewlekła choroba nerek

Wprowadzenie

Już od kilkunastu lat postrzeganie tkanki tłuszczowej jako wyłącznie magazynu energetycznego przestało być aktualne. Obecnie tkankę tłuszczową rozpatruje się jako wysoce aktywny narząd endokryny wydzielający hormonalnie czynne białka — adipocytokiny [1]. Hormony te odgrywają ważną rolę w licznych procesach fizjologicznych, działając zarówno lokalnie (autokrynnie/parakrynnie), jak i na narządy odległe (endokrynnie). Uczestniczą w homeostazie energetycznej, metabolizmie węglowodanowym i lipidowym, syntezie hormonów płciowych, czynnościach sercowo-naczyniowych, hematopoezie, angiogenezie i procesach immunologicznych [2]. Oprócz dobrze poznanych adipocytokin, takich jak adiponektyna, leptyna, wisfatyna, omentyna czy apelina, w centrum zainteresowania naukowców pojawiają się nowe cząsteczki. Jedną z nich jest białko ZAG (*zinc- $\alpha 2$ -glycoprotein*),

czyli cynkowa- $\alpha 2$ -glikoproteina. Po raz pierwszy glikoproteinę tę wyizolowano w 1961 roku [3]. W kolejnych badaniach potwierdzono jednak, że jest wydzielaną także inne narządy, takie jak: nerki, wątroba, gruczoły piersiowe, potowe, przewód pokarmowy [4]. Ostatnie doniesienia wskazują, że również tkanka tłuszczowa odpowiedzialna jest za sekrecję tej glikoproteiny [5]. Mimo pięćdziesięcioletniej historii nadal w pełni nie poznano tego białka, a liczne pełnione przez nie w organizmie funkcje wskazują na wielokierunkowość jego działania [6]. Ponadto potwierdzono nadekspresję ZAG w różnych typach nowotworów, m.in. raku piersi, prostaty, pęcherza moczowego i płuc [7–9]. Istotnie zwiększone stężenie ZAG wykazano w surowicy pacjentów nowotworowych, co daje nadzieję na wykorzystanie tej glikoproteiny jako potencjalnego biomarkera tych chorób. Ze względu na istotną rolę metabolizmu tkanki tłuszczowej w modelowaniu i progresji niedożywienia w kacheksji nowotworowej



Łukasz Woźny, Katedra Chorób Wewnętrznych, Diabetologii i Nefrologii, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, Polska, tel.: (+48) 32 370 44 88, e-mail: lukasz.wozny@med.sum.edu.pl

analogicznie poszukuje się podobnych mechanizmów przyczyniających się do niedożywienia w przewlekłych chorobach o różnej etiologii, m.in. u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek. Ponadto w celu zapobiegania wzrostowi liczby osób z przewlekłą chorobą nerek, której najczęstszą przyczyną pozostaje cukrzyca typu 2, poszukuje się innych, wczesnych biomarkerów ich uszkodzenia. Złotym standardem w monitorowaniu postępu nefropatii cukrzycowej nadal pozostaje ocena mikroalbuminurii. Kolejne publikacje jednak dowodzą, że ZAG może stać się potencjalnie nowym biomarkerem, pozwalając dzięki temu na wcześniejsze wdrożenie leczenia i zahamowanie postępu nefropatii [10].

Budowa i struktura ZAG

ZAG jest białkiem o masie 40 kDa składającym się z pojedynczego łańcucha złożonego z 278 aminokwasów. Białko to jest produkowane przez liczne narządy i wydzielane do różnych płynów ustrojowych. Po raz pierwszy tę glikoproteinę z krwi obwodowej wyizolowali Burgi i wsp. w 1961 roku [3], a w kolejnych badaniach potwierdzono jej obecność również w moczu, nasieniu, pocie, ślinie, płynie mózgowo-rdzeniowym, płynie owodniowym. W badaniu Ohkubo i wsp. [11] wykazano sześciokrotnie większe stężenie ZAG w nasieniu w porównaniu ze stężeniem tego białka w krwi obwodowej. W najnowszych badaniach wykazano, że również tkanka tłuszczowa uczestniczy w aktywnym wydzielaniu ZAG — potwierdzono bowiem obecność mRNA metodą RT-PCR w komórkach białej tkanki tłuszczowej oraz brązowej tkanki tłuszczowej u myszy. Gen dla ZAG jest zlokalizowany na długim ramieniu chromosomu 7, składa się 4 eksonów i 3 intronów [12]. Jego ekspresja jest regulowana za pomocą androgenów i progestagenów, natomiast za wzmożoną ekspresję w tkance tłuszczowej odpowiedzialne są glikokortykosteroidy. Russell i Tisdale w swojej pracy badawczej dowiedli, że 5'-flankujący region genu w istotny sposób reguluje proces transkrypcji, gdyż zawiera on kilka sekwencji, do których przyłączane są czynniki transkrypcyjne [13]. W badaniu Ueyamy i wsp. wykazano, że region 5'-flankujący ludzkiego genu ZAG zawiera kasetę TATA, pudełko CAT, sekwencję oktamerową i trzy możliwe miejsca wiązania Sp1, potencjalne czynniki regulujące transkrypcję tego białka [12]. Dokładną przestrzenną budowę ZAG poznano w 1999 roku, kiedy to Sanchez i wsp. wyizolowali krystaliczną strukturę białka za pomocą krytalografii rentgenowskiej. Okazało się, że cząsteczka w dużym stopniu wykazuje homologię z cząsteczkami głównego układu zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*) klasy I, sugerując istotną

rolę w modelowaniu mechanizmów immunologicznych organizmu. Łańcuch aminokwasowy składa się z trzech domen: $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, dwie pierwsze posiadają wiązania disiarczkowe homologicznie w tych samych pozycjach co cząsteczki należące do grupy MHC klasy I. Domeny $\alpha 1$ i $\alpha 2$ tworzą charakterystyczny rowek odpowiedzialny za połączenie z antygenem, dzięki czemu ZAG, podobnie jak cząsteczki MHC klasy I, uczestniczy w wiązaniu różnych białek, antygenów i ligandów. W odróżnieniu od nich ZAG natomiast nie posiada jednak $\beta 2$ -mikroglobuliny, która stanowi podstawę cząsteczek MHC klasy I [14].

Wielokierunkowe funkcje ZAG

ZAG w literaturze naukowej określana jest mianem białka wielofunkcjonalnego. Ponad pięćdziesięcioletnia historia badań dowiodła istotną rolę w wielu procesach zarówno na poziomie tkankowym, jak i komórkowym. Początkowo ze względu na duże stężenie w nasieniu uważano, że jest kluczowym czynnikiem regulującym proces zapłodnienia. Nadzieje rozbudziły współczesne prace dotyczące związku ZAG z metabolizmem lipidowym, gdyż rozkład fosfolipidów oraz stosunek cholesterolu do fosfolipidów odgrywają istotną rolę w dojrzewaniu plemników w najądrzach. Okazało się, że ZAG jest zdolna do wiązania z błoną komórkową plemników oraz regulowania ich ruchliwości w zależności od stężenia cyklicznego adenozy-3',5'-monofosforanu (cAMP, *cyclic adenosine monophosphate*) w nasieniu [15]. Wysoki stopień homologii sekwencji z białkami zgodności tkankowej MHC klasy I oraz podobna struktura przestrzenna pozwoliły zakwalifikować cynkową glikoproteinę do rodziny immunoglobulin MHC-I-podobnych [16].

Po zidentyfikowaniu ZAG przez długi okres nie potrafiono wykazać jej roli w kontekście gospodarki węglowodanowo-lipidowej, z biegiem czasu okazało się jednak, że białko to funkcjonuje analogicznie do później odkrytego czynnika mobilizującego lipidy (LMF, *lipid-mobilising factor*). ZAG, podobnie do LMF, wywołuje lipolizę za pośrednictwem cAMP przez stymulację cyklazy adenylanowej i ostatecznie, aktywację lipazy zależnej od hormonów (HSL, *hormone-dependent lipase*) [17]. Chociaż początkowo sądzono, że zarówno LMF, jak i ZAG są wytwarzane bezpośrednio przez komórki nowotworowe, a następnie transportowane do tkanki tłuszczowej, wyniki badania przeprowadzonego przez Bing i wsp. (2004) wskazują, że ZAG jest bezpośrednio syntetyzowany, a następnie wydzielany w białej (WAT, *white adipose tissue*) oraz brązowej (BAT, *brown adipose tissue*) tkance tłuszczowej [18]. W badaniach prowadzonych na mysich modelach wykazano, że myszy obciążone nowotworem MAC16 na skutek

indukowanej przez LMF lipolizy mają mniejszą masę ciała (typu dzikiego z 42-procentową redukcją tłuszczu ciała, myszy ob/ob z 19-procentową redukcją tłuszczu ciała) przy niezmiętej zawartości wody, masie beztłuszczowej i równoważnym przyjmowaniu jedzenia i wody [17]. ZAG, podobnie jak LMF, wywołuje lipolizę za pośrednictwem cAMP przez stymulację cykazy adenylanowej w mechanizmie GTP-zależnym, ostatecznie aktywując HSL. Potwierdziło to badanie Russella i Zimmermana, w którym to badacze porównali zdolności lipolityczne ZAG z LMF w dwóch próbach: *in vitro* i *in vivo*. Podczas pierwszej próby dowiedziono, że obecna w ludzkim osoczu ZAG uwalnia glicerol z komórek tkanki tłuszczowej najądrzy, a efekt ten ulega wzmocnieniu po implementacji inhibitora fosfodiesterazy cAMP Ro20-1724, natomiast jest znacznie mniejszy przy zastosowaniu antagonisty β 3-adrenoreceptora SR59230A. *In vivo* zaobserwowano znaczący spadek masy ciała przy niezmiętej podaży energetycznej i przyjmowaniu wody, który ściśle wiązał się z redukcją tkanki tłuszczowej. Powiązano to ze zwiększeniem wydatku energetycznego na skutek zwiększonej ekspresji białka mitochondrialnego — termogeniny (UCP-1, *uncoupling protein 1*) brązowej tkanki tłuszczowej. Badania te ostatecznie potwierdziły, że ZAG stymuluje cyklazę adenylanową w tkance tłuszczowej poprzez receptory β 3-adrenergiczne [19]. Odkrycie lipolitycznego efektu ZAG dało początek kolejnym badaniom dotyczącym związku glikoproteiny z postępującym procesem niedożywienia. Szczególnie dotyczy to kacheksji nowotworowej, ale również wielu chorób przewlekłych, z czego w przewlekłej chorobie nerek proces ten jest najbardziej zaznaczony.

Patofizjologia niedożywienia w schyłkowej niewydolności nerek

Przewlekła choroba nerek (PChN) to wielobjawowy zespół chorobowy powstały w wyniku trwałego uszkodzenia lub zmniejszenia liczby czynnych nefronów niszczonych przez różnorodne procesy chorobowe toczące się w mięszu nerek. Według definicji *Kidney Disease: Improving Global Outcomes* (KDIGO) zaproponowanej w 2012 roku PChN to utrzymujące się powyżej 3 miesięcy nieprawidłowości budowy lub czynności nerek mające znaczenie dla zdrowia. Przewlekłą chorobę nerek podzielono na 5 stadiów, w zależności od stopnia wydolności nerek mierzonego za pomocą stopnia przesączania kłębuszkowego (GFR, *glomerular filtration rate*) [20]. Piąte, ostatnie stadium, określane mianem schyłkowej niewydolności nerek, to etap, w którym dochodzi do krytycznej akumulacji toksyn mocznicowych, intensyfikacji niedożywienia i nasilonej reakcji zapalnej. Główną rolę w patogenezie procesów

zapalnych odgrywają cytokiny prozapalne oraz ich pochodne, czyli chemokiny. U pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek współwystępowanie niedożywienia, stanu zapalnego oraz miażdżycy określane jest mianem zespołu niedożywienie–zapalenie–miażdżycy (MIA, *malnutrition–inflammation–atherosclerosis*) [21]. Niestety każda ze składowych zespołu MIA jest niezależnym czynnikiem ryzyka zgonu. Kluczową rolę w rozwoju zespołu MIA odgrywają cytokiny prozapalne, interleukiny 6 (IL-6) i 1 (IL-1) i czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α , *tumor necrosis factor alpha*). Przyczyn utrzymującego się stanu zapalnego w końcowym etapie niewydolności nerek nadal nie do końca nie poznano. Prawdopodobnie odpowiedzialny za to jest sam fakt akumulacji toksyn mocznicowych i zmniejszony klirens cytokin. Nie bez znaczenia pozostają takie czynniki, jak stres oksydacyjny czy sama choroba podstawowa prowadząca do schyłkowej fazy choroby, np. glomerulopatia czy kolagenoza [22]. U chorych, ze względu na przewlekłą utratę białka wskutek zmniejszonej jego podaży, katabolizmu oraz utraty z moczem, bardzo często występuje niedobór globulin, co znacznie upośledza odpowiedź immunologiczną. To niestety prowadzi do nawracających zakażeń, które zwrótnie napędzają sieć cytokin prozapalnych, tworząc obraz „błędnego koła”. Najistotniejszą z cytokin w tym kontekście, ze względu na indukcję wielu innych czynników, pozostaje IL-6 [23, 24]. Jej działanie w obrębie komórek wątrobowych powoduje wzmożoną produkcję takich białek, jak białko C-reaktywne (CRP, *C-reactive protein*), ferrytyna, fibrynogen. Jednocześnie odpowiada za hamowanie syntezy albuminy czy transferyny. Hipoalbuminemia tym samym potęguje i tak już istniejące w schyłkowej niewydolności nerek obrzęki, a niskie stężenie transferyny przyczynia się do niedokrwistości, która na skutek obniżonej produkcji erytropetyny i tak jest zazwyczaj obecna. Wyniki licznych badań dowiodły, że podwyższone stężenia CRP i IL-6, świadczące o obecności subklinicznego stanu zapalnego, występują u osób ze schyłkową niewydolnością nerek zarówno przed rozpoczęciem leczenia nerkozastępczego, jak i w trakcie jego trwania bez względu na rodzaj leczenia [25]. Zarówno podwyższone stężenie CRP, jak i IL-6 stanowią czynniki ryzyka zgonu z przyczyn pozasercowych, jak i sercowo-naczyniowych, a te są główną przyczyną zgonu w tej grupie chorych [26, 27]. W badaniu Bologi i wsp. u osób hemodializowanych stwierdzono korelację między podwyższonym stężeniem IL-6 a obniżeniem stężenia albuminy oraz cholesterolu całkowitego. Analogiczną sytuację odnotowano w stosunku do TNF- α . Co więcej, statystycznie wyższe stężenia wymienionych cytokin prozapalnych przy niskich stężeniach albuminy, cholesterolu całkowitego oraz niskim wskaźniku

masy ciała (BMI, *body mass index*) wiązały się z większą śmiertelnością [28]. Cytokiną, która istotniej reguluje metabolizm tkanki tłuszczowej, jest TNF- α . Czynnikiem ten inhibuje transkrypcję lipazy lipoproteinowej (LPL, *lipoprotein lipase*), a to skutkuje mniejszym transportem kwasów tłuszczowych z lipoprotein osocza do komórek tkanki tłuszczowej, powodując jednocześnie wzrost związków lipidowych w krwi obwodowej. Sprzecznych doniesień dostarczyły jednak badania na ludzkich adipocytach, nie zaobserwowano bowiem zmniejszonego poziomu mRNA LPL ani spadku aktywności enzymu [29]. Zwiększone stężenie TNF- α występujące u osób leczonych nerkozastępczo przekłada się na silniejszy efekt lipolityczny, w procesie pośredniczy kinaza ERK i wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia cAMP [30]. Reasumując, stwierdza się znaczący związek pomiędzy układem cytokinowym a niedożywieniem związanym z chorobami przewlekłymi, w tym schyłkową niewydolnością nerek, a metabolizmem tłuszczowym.

Metabolizm tkanki tłuszczowej w kontekście niedożywienia

W ostatnich latach ze względu na kluczową rolę postępującego niedożywienia jako czynnika istotnie skracającego życie pacjentów ze schyłkową postacią tej choroby poszukuje się patofizjologicznych mechanizmów łączących z metabolizmem tkanki tłuszczowej. W kontekście gospodarki lipidowej u pacjentów ze schyłkową niewydolnością nerek dochodzi do pewnego rodzaju paradoksu — z jednej strony niskie stężenia cholesterolu całkowitego, a w tym cholesterolu frakcji LDL, stanowią korzystny czynnik ateroprotekcyjny, z drugiej przyczyniają się do postępującego niedożywienia [31]. Tkanka tłuszczowa magazynuje kwasy tłuszczowe pod postacią triacylogliceroli, co stanowi zdecydowaną większość zapasów energetycznych w ludzkim organizmie. Enzym LPL odpowiedzialny jest za uwalnianie kwasów tłuszczowych z lipoprotein osocza, a te kolejno transportowane są do komórek tłuszczowych, gdzie dochodzi do syntezy triacylogliceroli. Lipoliza natomiast jest indukowana przez wiele czynników, m.in. przez hormony lipolityczne: adrenalinę, glukagon i hormon adrenokortykotropowy (ACTH, *adrenocorticotropic hormone*), w procesie zależnym od cAMP i kinazy białkowej A (PKA, *protein kinase A*), która aktywuje HSL. To dzięki niej dochodzi do konwersji triacylogliceroli do kwasów tłuszczowych i glicerolu [32]. Utrata tkanki tłuszczowej w kacheksji nowotworowej następuje przede wszystkim z powodu zwiększonej lipolizy, ponieważ istnieje zwiększony obrót glicerolu i wolnych kwasów tłuszczowych w porównaniu z osobami zdrowymi. Stężenia glicerolu, kwasów tłuszczowych i triacylogliceroli w osoczu

mierzone na czczo są znacznie wyższe u pacjentów z chorobą nowotworową i kacheksją niż u pacjentów, którzy zachowali stabilną masę ciała, ponadto takie osoby wykazują większą wrażliwość na lipolityczne działanie adrenaliny. Już w 1987 roku Legaspi i wsp. wskazali, że obrót glicerolu i kwasu tłuszczowego jest podwyższony o 25% i jest podobny do odnotowanego u chorych z ciężkimi oparzeniami [33]. Kacheksja nowotworowa charakteryzuje się sukcesywną utratą tkanki tłuszczowej, mogącą skutkować zmniejszeniem nawet do 85% masy tkanki tłuszczowej, przy utracie masy całkowitej około 30% [34]. W innym badaniu, przeprowadzonym przez Thompsona i wsp., zmierzono stężenie mRNA i białka HSL u osób z wyniszczeniem nowotworowym oraz w grupie kontrolnej. W pierwszej z grup zaobserwowano statystycznie wyższe, odpowiednio o 50% i 100%, wartości w stosunku do osób zdrowych. Warty uwagi był również fakt, iż stężenia mRNA i białka LPL były porównywalne, a stężenia triacylogliceroli i kwasów tłuszczowych w surowicy dwukrotnie wyższe niż w grupie kontrolnej [29]. Co więcej, na modelach mysich wyniszczonych procesem nowotworowym wykazano charakterystyczne zmiany patomorfologiczne. Obserwowano obkurczenie i anizocytotę adipocytów, a także nasilony proces fibrogenyzy w białej tkance tłuszczowej. Zauważalne były również zmiany na poziomie komórkowym — odnotowano zmianę konformacji ich błony komórkowej, a w mitochondriach większą liczbę grzebieni. Zaobserwowano także znaczną redukcję stężenia zarówno mRNA, jak i adipogennych czynników transkrypcyjnych, takich jak C/EBP α i β , PPAR γ oraz SREBP-1c, oraz wzrost stężenia UCP2 [35]. W przypadku schyłkowej niewydolności nerek szybkość progresji oraz stopień redukcji masy tłuszczowej jest kilkakrotnie mniejszy, natomiast mechanizmy prowadzące do niej pozostają podobne. W tym kontekście nadzieję budzą ostatnie badania sugerujące potencjalną rolę również adipocytokiny ZAG jako czynnika nasilającego lipolizę, a tym samym potęgującego procesy kataboliczne ustroju u chorych ze schyłkową niewydolnością nerek.

ZAG a przewlekła choroba nerek

Po wyizolowaniu cynkowej glikoproteiny z surowicy krwi oraz stwierdzeniu jej wysokiego stężenia w nasieniu poszukiwano jej również w innych płynach ustrojowych organizmu. Bardzo szybko dowiedziono jej obecności w moczu, a w badaniu Shibaty i wsp. przeprowadzonym na początku lat 80. XX wieku wykazano, że białko to wydalane jest do moczu na skutek uszkodzenia błony podstawnej kłębuszków nerkowych w przebiegu różnych glomerulopatii [36]. Ze względu na rosnącą liczbę osób z cukrzycą

typu 2 współczesne prace badawcze skupiły się na poszukiwaniu wczesnych biomarkerów uszkodzenia nerek oraz oceny jego progresji. W badaniu Wanga i wsp. badano osoby z długotrwałą cukrzycą typu 2 oraz osoby zdrowe. W obu grupach oceniano wartość eGFR oraz wskaźnik albumina/kreatynina, oznaczono również metodą ELISA stężenia ZAG zarówno w moczu, jak i krwi obwodowej. Wyniki wskazują, że u osób z grupy badanej stężenia ZAG zarówno w moczu, jak i krwi obwodowej były znamienne statystycznie wyższe niż u osób z grupy kontrolnej (surowica: $38,29 \pm 22,72$ mg/l vs. $21,61 \pm 8,83$ mg/l; mocz: $53,64 \pm 29,48$ mg/g vs. $28,17 \pm 10,64$ mg/g). Dodatkowo zaobserwowano dodatnią korelację między stężeniem ZAG w surowicy a wartością kreatyniny i eGFR, natomiast stężenie ZAG w moczu korelowało z wartością wskaźnika albumina/kreatynina. Dało to nadzieję, że ZAG może być wykorzystana jako nowy biomarker uszkodzenia nerek [37]. W badaniu Lim i wsp. badano trzy grupy mężczyzn z cukrzycą typu 2: z prawidłową czynnością nerek, z nefropatią cukrzycową z albuminurią (wskaźnik albumina/kreatynina > 1000 mg/g i GFR < 60 ml/min/1,73 m²) oraz z nefropatią cukrzycową bez albuminurii (GFR < 60 ml/min/1,73 m² i wskaźnik albumina/kreatynina < 30 mg/g). Następnie za pomocą elektroforezy oraz metody *western-blot* izolowano stężenie białek w moczu badanych w poszczególnych grupach. Okazało się, że w grupie chorych z nefropatią cukrzycową bez albuminurii stężenie ZAG 4 było istotnie większe niż w pozostałych grupach. Sugeruje to, że ZAG może stanowić potencjalny biomarker uszkodzenia nerek szczególnie dla tej grupy chorych z nefropatią cukrzycową [38].

Odnosząc się do wcześniejszym rozważań dotyczących związku między metabolizmem lipidowym a PChN, interesujących wyników dostarcza badanie Peletier i wsp. Autorzy wykazali znacząco zwiększoną syntezę ZAG w WAT u osób z PChN. W pracy badano, czy środowisko mocznicowe w PChN może zmieniać produkcję ZAG i przyczyniać się do zaburzeń metabolicznych. Porównując osoby zdrowe oraz osoby z PChN, zaobserwowano znaczący wzrost syntezy ZAG w grupie badanej (124%). Wiązał się on ze znaczącym wzrostem podstawowej lipolizy (31%) oraz istotnie obniżoną lipogenezą (53%) w modelu 3T3-L1 adipocytów *in vitro*. Biopaty podskórnej WAT od pacjentów ze schyłkową

niewydolnością nerek wykazywały wyższą zawartość ZAG (573%) niż biopaty osób zdrowych. W kolejnym etapie badano *in vivo* stężenie ZAG w WAT u myszy i szczurów po nefrektomii. U 5/6 nefrektomizowanych szczurów i myszy *in vivo* wystąpił znaczący spadek WAT (odpowiednio o 44% i 43%), obserwowano natomiast znacznie wyższe stężenia ZAG niż u zwierząt z grupy kontrolnej (odpowiednio 498% i 106%) [39]. Po raz kolejny badania te zasugerowały, iż nadprodukcja ZAG może być głównym czynnikiem zaburzeń metabolicznych występujących w PChN. Ze względu na istotną rolę metabolizmu lipidów w indukowaniu powikłań miażdżycowych, które stanowią główną przyczynę zdarzeń sercowo-naczyniowych również w PChN, poszukuje się odpowiedzi na pytanie, w jaki sposób ZAG może wpływać na regulację tych procesów. W badaniu Leal i wsp. badano związek między ZAG a czynnikami zapalnymi i aterogennymi, m.in. adiponektyną, LDL, TNF- α , IL-6, cząsteczkami adhezji komórkowej naczyń 1 (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*) u pacjentów hemodializowanych. Metodą ELISA oznaczano stężenie tych białek w surowicy krwi oraz porównywano wartości w grupie osób hemodializowanych i zdrowych. Stężenia cytokin zapalnych oraz ZAG ($151,5 \pm 50,1$ mg/l vs. $54,6 \pm 23,0$ mg/l; $p < 0,0001$) były znamienne statystycznie wyższe u osób hemodializowanych, szczególnie negatywną korelację obserwowano odnośnie TNF- α ($r = -0,39$; $p = 0,001$) i VCAM-1 ($r = -0,52$; $p < 0,0001$). Pozytywną korelację odnotowano natomiast względem stężenia przeciwciał anty-LDL ($r = 0,38$; $p = 0,016$) [40].

Podsumowanie

Przegląd najnowszej literatury pozwala stwierdzić, że ZAG to obiecujący wskaźnik, mogący wchodzić w skład metod diagnostycznych PChN. Obecne dane są jednak niewystarczające do pełnej oceny przydatności ZAG, a poznanie mechanizmów patofizjologicznych — mimo długiej historii białka — wciąż niepełne. Konieczne są dalsze badania dotyczące związku między ZAG a niedożywieniem bardzo często występującym w schyłkowej niewydolności nerek. Aspekt nasilonego efektu lipolitycznego oraz zwiększone ryzyko zdarzeń sercowo-naczyniowych w przewlekłej chorobie nerek są niepodważalne.