

Univerzita Karlova v Praze
2. lékařská fakulta

Studijní program: Postgraduální doktorské studium v biomedicíně

Studijní obor: Experimentální chirurgie



MUDr. Matúš Chocholatý, FEBU, FECSM

Molekulární mechanismy karcinogeneze u karcinomu ledviny

Molecular mechanism of renal cell carcinogenesis

Dizertační práce

Školitel: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

Konzultant: prof. MUDr. Marta Kalousová, PhD.

Praha, 2016

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 14.06.2016

Matúš Chocholatý

Podpis

Identifikační záznam:

CHOCHOLATÝ, Matúš. Molekulární mechanismy karcinogeneze u karcinomu ledvin. [*Molecular mechanism of renal cell carcinogenesis*]. Praha, 2016. 80 s., Dizertační práce (Ph.D.). Univerzita Karlova v Praze, 2. Lékařská fakulta, Urologická klinika. Školitel: Babjuk, Marek. Školitel-konzultant: Kalousová, Marta.

SEZNAM ZKRATEK

AGE	advanced glycation end product
AOPPs	produkty pokročilé oxidace proteinů
AP-2	activator protein-2
ATP	adenozíntrifosfát
ccRCC	světlobuněčný karcinom ledviny
cdc42	cell division control protein 42
chRCC	chromofobní karcinom ledviny
COX-2	cyklooxygenáza-2
DAPK	death-associated protein kinázy
DNA	deoxyribonukleová kyselina
E2F4	early gene 2 factor isoform 4
EMT	epiteliálně-mesenchymální přechod
ER	endoplazmatické retikulum
Erg-1	early growth response protein-1
GLO I	glyoxaláza I
GSK3 β	glykogen syntáza kináza 3 β
HCC	hepatocelulární karcinom
HIF	hypoxia-inducible factor
HMGB-1	high mobility group box 1
hVps34	homologue of vacuolar protein sorting 34
IKK	I κ B kináza
IL-6	interleukin 6
I κ B	inhibitor κ B
JAK	Janus kináza
MAPK	mitogen-activated protein kinase
mDia1	mammalian Diaphanous related formin 1
MSR1	makrofágový skavengerový receptor 1
mTORC1	mammalian target of rapamycin complex 1
NEMO	NF- κ B essential modulator
NF- κ B	nukleární faktor κ B
NOS	syntáza oxidu dusného
Nrf2	nuclear factor erytroid 2-related factor
OST-48	oligosacharyl transferáza-48
PKB	proteinkináza B
pRCC	papilární karcinom ledviny
PRR	pattern-recognition receptor
RAGE	receptor for advanced glycation endproducts
RCC	karcinom ledviny
RNA	ribonukleová kyselina
sRAGE	solubilní RAGE

Src sarcoma family protein
STAT3 signal transducers and activators of transcription 3
TLR Toll like receptor
TLR2/4 adaptorové proteíny Toll-like receptoru-2 a -4
VEGF vascular endothelial growth factor
VHL gen von Hippel-Lindauov gen

OBSAH

	str.
1. ABSTRAKT.....	7
2. ÚVOD.....	9
2.1 Karcinom ledviny.....	9
2.1.1 Světlobuněčný karcinom ledviny (ccRCC).....	10
2.1.2 Markery karcinomu ledviny.....	12
2.2 RAGE a Glyoxaláza I.....	15
2.2.1 Lokalizace a fyziologická funkce RAGE.....	16
2.2.2 Struktura RAGE.....	16
2.2.3 sRAGE.....	17
2.2.4 Regulace exprese RAGE.....	17
2.2.5 Glyoxaláza I.....	17
2.2.6 RAGE ligandy.....	18
2.2.7 Signální dráhy.....	21
2.2.8 Role RAGE v karcinogenezi.....	24
2.2.9 Význam RAGE a Glyoxalázy I u různých typů karcinomů.....	27
2.2.10 Polymorfismus RAGE a GLO I.....	33
2.2.11 Vliv RAGE na HIF1 α	34
3. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE.....	35
3.1 Genetická analýza polymorfizmů RAGE a GLO I.....	35
3.2 sRAGE.....	35
3.3 Dynamika sRAGE.....	36

3.4	Vedlejší hypotéza a cíl.....	36
4.	PACIENTI A METODY.....	37
4.1	Soubor pacientů.....	37
4.2	Laboratorní analýzy.....	39
4.2.1	<i>Vzorky</i>	39
4.2.2	<i>Genetická analýza</i>	40
4.2.3	<i>sRAGE</i>	42
4.3	Statistická analýza.....	42
5.	VÝSLEDKY.....	43
5.1	Genetická analýza.....	43
5.2	<i>sRAGE</i>	46
5.2.1	<i>sRAGE a riziko světlobuněčného karcinomu</i>	47
5.2.2	<i>Dynamika sRAGE</i>	49
6.	DISKUSE.....	52
7.	ZÁVĚR.....	61
8.	PODĚKOVÁNÍ.....	62
9.	LITERATURA.....	63
10.	SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ.....	79

1. ABSTRAKT

Receptor pro produkty pokročilé glykace (RAGE), solubilní RAGE (sRAGE) a ich ligandy mají významné postavení v patogeneze karcinomu. Glyoxaláza I (GLO1) je enzym, který detoxifikuje prekuzory produktů pokročilé glykace (AGE). Použitím PCR-RFLP jsme analyzovali u 214 pacientů a 154 zdravých kontrol čtyři polymorfizmy RAGE (rs1800625 RAGE -429T/C, rs1800624 -374T/A, rs3134940 2184A/G, rs2070600 557G/A (G82S), a GLO1 rs4746 419A/C(E111A)). Zjistili jsme významnou diferenci ve frekvenci alel a genotypu GLO1 E111A (419A/C) SNP mezi nemocnými a kontrolní skupinou — vyšší frekvence alely C u ccRCC—58.6 vs. 44,5 % a než u kontrol, OR (95 % CI) 1.77 (1.32–2.38), $p=0.0002$ (corrected $p=0.001$); OR (95 % CI) CC vs. AA 2.76 (1.5–4.80), $p=0.0004$ (corrected $p=0.002$); a AC+CC vs. AA 2.03 (1.23–3.30), $p=0.0034$ (corrected $p=0.017$). Hodnoty sRAGE jsme hodnotili v podskupině 132 pacientů. sRAGE jsme stanovovali před operací a tři týdny, tři měsíce a 6 měsíců po operaci a v době relapsu. Podle relapsu jsme nemocné rozdělili do dvou skupin. Ve skupině bez relapsu došlo v průběhu sledování k elevaci sRAGE. Hodnota sRAGE u pacientů s relapsem byla stabilní. V naší práci jsme nezjistili rozdíl mezi kontrolou a skupinou ccRCC. Naše výsledky naznačují, že existuje spojení mezi E111A GLO I SNP a výskytem ccRCC a význam sRAGE ve follow-up nemocných s lokalizovaným ccRCC.

Klíčová slova: RAGE, sRAGE, glyoxaláza I, karcinom ledviny, polymorfismus

The receptor for advanced glycation end products (RAGE), soluble RAGE (sRAGE) and its ligands are involved in the pathogenesis of cancer. Glyoxalase I (GLO1) is an enzyme which detoxifies advanced glycation end product (AGE) precursors. Four polymorphisms of RAGE (rs1800625 RAGE -429T/C, rs1800624 -374T/A, rs3134940 2184A/G, rs2070600 557G/A (G82S), and GLO1 rs4746 419A/C(E111A)) were determined by PCR-RFLP in 214 patients with ccRCC. A group of 154 healthy subjects was used as control. We found significant differences in the allelic and genotype frequencies of GLO1 E111A (419A/C) SNP between patients and controls—higher frequency of the C allele in ccRCC—58.6 vs. 44.5 % in controls, OR (95 % CI) 1.77 (1.32–2.38), $p=0.0002$ (corrected $p=0.001$); OR (95 % CI) CC vs. AA 2.76 (1.5–4.80), $p=0.0004$ (corrected $p=0.002$); and AC+CC vs. AA 2.03 (1.23–3.30), $p=0.0034$ (corrected $p=0.017$). The values of sRAGE in a subgroup of 132 patients were evaluated before and three weeks, three and six months after surgery and in cancer relapse. According to relapse of the cancer the patients were divided into two groups. The postoperative elevation of sRAGE was seen in group of ccRCC without relapse. Stable postoperative sRAGE were in group with relapse. We have not detected the difference between sRAGE in ccRCC group and control group. Our results demonstrate the link of E111A GLO1 SNP to the presence of the tumor and the significance of sRAGE in follow-up of localised renal cancer after surgery.

Key words: RAGE, sRAGE, glyoxalase I, renal cell cancer, polymorphism

2. ÚVOD

2.1. Karcinom ledviny

Karcinom ledviny (RCC) představuje 2 až 3 % všech solidních nádorů dospělé populace. Nejvyšší výskyt tohoto karcinomu je v krajinách západního světa. Incidence v České republice patří mezi nejvyšší na světě, v roce 2013 byla incidence 15 : 100 000 obyvatel. I když ve většině krajin incidence karcinomu ledviny má stoupající trend, v České republice se za posledních 10 let téměř nemění. V krajinách Evropy mortalita od roku 1990 pozvolna klesá, také v České republice je zřetelný pokles, avšak v některých krajinách Evropy incidence dále stoupá, např. na Slovensku (Levi F. et al., 2008). Karcinom postihuje častěji muže v poměru 1,5 až 2 : 1. Nádor se diagnostikuje nejčastěji mezi 60 – 70 lety, ale vyskytuje se i v mladším věku. Mezi etiologické faktory patří kouření, obezita, hypertenze, acetaminophen, virová hepatitída. Výskyt karcinomu ledviny u prvostupňového příbuzného také představuje vyšší riziko (Clague J. et al., 2009). Protektivní efekt má konzumace zeleniny (Wood C. et al., 2008) a mírná konzumace alkoholu (Bellocco R. et al., 2012; Song D.Y. et al., 2012), též vyhýbání se hlavním rizikovým faktorům: kouření a obezitě.

V minulosti bylo obvyklé, že se nádory ledviny projevovali klasickou triádou: hmatná rezistence, bolest, makroskopická hematurie. V posledních pátнадцати až dvaceti letech se počet incidentálně diagnostikovaných nádorů ledvin prudce zvýšil z důvodu rozšířeného používání sonografie, výpočetní tomografie a magnetické rezonance. Dřívější diagnostika karcinomu ledviny zlepšila celkové přežití pacientů s tímto onemocněním. Pacienti se symptomatickým RCC mají méně příznivé 5-leté přežití v porovnání s incidentálně zjištěným RCC (59,4% vs. 88,1%), navíc pacienti s lokálními symptomy dosáhli 5-letého přežití v 75,4% v porovnání s nemocnými se systémovou symptomatologií 44% (Kawaciuk I et al., 2008). Kromě výše uvedených tří příznaků, se lokálně pokročilý nádor

může projevit varikokélou u mužů, příp. otokem dolních končetin při trombóze vena cava inferior. Mezi paraneoplastické projevy patří hypertenze (z důvodu nadprodukce renínu), hyperkalcémie (proukde parathormon like-peptidu), polycytémie (nadprodukce erythropoetínu), anémie, zřídka hepatopatie, amyloidóza, porucha metabolismu glukózy (Morávek P., 2005).

V současné době používáme histopatologickou WHO (World Health Organization) klasifikaci z roku 2004, která byla modifikována ve Vancouveru ISUP (International Society of Urological Pathology) v roce 2015. Mezi nejčastěji se vykytující histopatologické entity řadíme: světlobuněčný RCC (ccRCC), papilární RCC (pRCC – typ I a typ II) a chromofobní RCC (chRCC). Ostatní nádory tvoří přibližně 10-15 %. Mezi ostatní nádory ledvin řadíme onkocytom, angiomyolipom, hereditární nádory ledvin, papilární adenoma a další. Histopatologická klasifikace byla potvrzena také cytogenetickými a genetickými analýzami (Yang X.J. et al., 2005; Linehan W.M. et al., 2004; Furge K.A. et al., 2007).

Přibližně 30 % pacientů je diagnostikováno s lokálně pokročilým nebo metastatickým onemocněním, přitom u jedné třetiny nemocných s původně lokalizovaným karcinomem dojde v průběhu sledování k lokální nebo vzdálené recidivě (Janzen N.K. et al., 2003). Jedinou kurativní léčebnou metodou zůstává chirurgická léčba. Karcinom ledviny je chemo- i radiorezistentní. Výsledky terapie metastatického karcinomu ledviny jsou i přes biologickou terapii neuspokojivé. Pětileté přežití dosahuje ve IV. stadiu onemocnění jen 32 % nemocných (Janzen N.K. et al., 2003).

2.1.1. Světlobuněčný karcinom ledviny (ccRCC)

Světlobuněčný karcinom je nejčastějším nádorem ledvin. Představuje 70-80% všech karcinomů ledviny. Pětileté nádorovo specifické přežití je v I. II. III. a IV. TNM stadiu 91%, 74%, 67% a 32% (Janzen N.K. et al., 2003).

Hereditární světlobuněčný karcinom ledviny, představuje 4% všech karcinomů ledvin, rozvíjí se spolu s von Hippelovou-Lindauovou (VHL) chorobou. Je to autosomálně dominantní onemocnění s incidencí 1 : 36 000 (Vira M.A. et al., 2007) a je spojeno s mutací tumor supresorového VHL genu, který je lokalizován na 3p25 chromosomu 3. Při tomto onemocnění se v mnoha orgánech vyvíjí řada cyst a nádorů. Typické jsou: feochromocytom, angiom sítnice, hemangioblastom mozkového kmene, mozečku nebo míchy, příp. cysty ledviny, pankreatu, nádor vnitřního ucha nebo papilární cystadenom nadvarlete. Karcinom ledviny se vyvine u 35-50 %. Nemocný s VHL chorobou má již vrozenou mutaci jedné alely a druhá je později inaktivována mutací, hypermetylací nebo jiným procesem, který vede ke ztrátě heterozygosity. Naproti tomu u sporadického karcinomu musí dojít k náhodné mutaci jedné a pak také i druhé alely.

V patogenezi karcinomu ledviny se nejčastěji vykytuje ztráta chromosomu 3p a v 70 – 90 % mutace VHL (von Hippel-Lindau) genu na chromosomu 3p25, výsledkem je inaktivace tumor supresorového genu VHL a tím i protektivní efekt pVHL (protein VHL). pVHL je komponentou ubiquitin ligázového komplexu, který také obsahuje elongin B, elongin C, Cul2, and Rbx1 (Kaelin W.G. et al., 2007). Při dostatečné oxygenaci komplex váže přímo alfa podjednotku heterodimerního transkripčního faktoru HIF (hypoxia-inducible factor), která je směřována k proteasomální degradaci. Při hypoxii (nebo v buňkách s defektním pVHL) není HIF α rozpoznán a navázán na VHL protein, vytváří dimér s HIF β , který je translokován do jádra, kde aktivuje transkripci cílových 100-200 genů, včetně VEGF (vascular endothelial growth factor), EGFR (epidermal growth factor receptor), PDGF (platelet-derived growth faktor), GLUT-1 (transportér glukózy 1), TGF- α a erythropoetin, karobanhydrázy IX (Gallego G.A. et al., 2012). pVHL obsahuje dvě hot-spots pro missense mutace, zvané alfa a beta doména. Alfa doména je nevyhnutná k vazbě elonginu C a tím i zbytku ubiquitinového ligázového komplexu, zatím co beta doména váže přímo HIF α (Kaelin W.G. et al., 2002). Na to aby byl HIF- α rozpoznán pVHL, je ne-

vyhnutná jeho hydroxalce. HIF- α je také regulován i dalšími dráhami, zejména stimulací signální dráhy fosfatidylinositol 3-kinase (PI3K)/AKT/ mammalian target of rapamycin (mTOR) a RAS-RAF-MEK-ERK, které jsou aktivovány navázáním růstových faktorů na receptor tyrozínkinázy (Hay N. et al., 2005).

2.1.2 Markery karcinomu ledviny

Přesný mechanismus vzniku a progresu ccRCC zatím není zcela jasný. Byla zkoumána řada potencionálních biomarkerů, ale žádný marker není použitelný v diagnostice nebo predikci recidivy onemocnění, případně účinnosti biologické terapie. Proto žádný ze zkoumaných markerů nebyl doporučen do rutinní praxe. Nejčastěji zkoumané markery jsou uvedeny níže.

Karboanhydráza IX

Karboanhydráza IX (CA IX) je jedním ze čtyř transmembránových izoenzymů a podílí se na kontrole buněčné proliferace a transformace. Jeho zvýšená exprese byla zjištěna u ccRCC a absentovala u papilárního, chromofóbního karcinomu a onkocytomu. Exprese CA IX u ccRCC byla popsána jako nezávislý prediktor přežití. Nižší exprese Ca IX byla spojena vyšším nukleárním gradem, přítomností metastáz v lymfatických uzlinách a vzdálených metastázách. Stejně tak nízká exprese Ca IX byla spojena nepříznivým nádoro-specifickým a celkovým přežitím (Zhao Z. et al., 2014)

GLUT 1-5

Oxidace glukózy je největším zdrojem energie pro metabolické procesy v buňce. Avšak nádorové buňky mají redukovanou kapacitu oxidačního metabolismu a proto glukózu metabolizují glykolýzou. Tento proces je spojen se zvýšenou expresí GLUT (Gallego G.A., 2012). Vyšší exprese GLUT-5 byla prokázána i v buňkách ccRCC a korelovala Fuhrmanovým gradem, penetrací kapsuly nádoru a invazí do pánvičky (Medina-Vilaamil V., 2011).

p53

p53 je protein kódovaný genem TP53, je lokalizován v oblasti 17p13. Patří mezi tumor supresorové geny. K akumulaci p53 proteinu dochází v situaci buněčného stresu, kdy funguje jako primární transkripční faktor a podporuje zastavení buněčného cyklu a reparaci DNA a pokud není reparace možná, tak spustí apoptózu. Reguluje i expresi dalších genů podílejících se na růstu buňky a angiogenezi. Exprese p53 byla prokázána u 22 % lokalizovaného a 51,8 % generalizovaného světlobuněčného karcinomu ledviny a byla spojená s nepříznivou prognózou/rychlou progresí onemocnění ccRCC (Noon A.P. et al., 2010).

PTEN

PTEN (Homolog fosfatázy a tensinu) – je tumor supresorový gen. Nachází se na chromosomu 10q23.3. Kóduje protein s aktivitou fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát 3-fosfatázy, jehož aktivita vede k útlumu signalizace AKT/PKB signalizační kaskády. Dále inhibuje aktivitu FAK (fokální adhezivní kináza) a tím i migraci buňky a přes MAPK má vliv na buněčnou diferenciaci a apoptózu. Exprese PTEN koreluje s velikostí tumoru, Fuhrmanové gradem a pozitivními lymfatickými uzlinami. Negativní exprese PTEN byla spojená s významně nižším celkovým přežitím než při pozitivní expresi PTEN. PTEN je také nezávislým prognostickým faktorem (Zhu C. et al., 2015).

E-kadherin

Epiteliální kadherin (E-kadherin) je přítomen v epiteliálních buňkách, zprostředkovává spojení mezi kalcium dependentními adhezivními molekulami. E-kadherin je životně důležité pro udržení buněčné morfologie, buněčné polarity a spojení mezi buňkami. Navíc, E-kadherin se podílí na přenosu signálních molekul, která se podílí na přenosu informací mezi buňkami. Exprese E-kadherinu byla prokázána u 32 % v nádorové tkáni ccRCC a byla významně nižší než ve zdravé tkáni 91%. Nízka exprese E-kadherinu korelovala se

stupněm diferenciacie nádoru, klinickým stadiem a přítomnosti vzdálených metastáz (Cai J., 2013).

CD44

Antigen CD44 je povrchový glykoprotein buňky. Podílí se na mezibuněčné interakci, adhesivitě a migraci buňky. Je kódován CD44 genem na chromosomu 11. CD44 participuje na řadě buněčných funkcí, zejména aktivaci, recirkulaci a navádění lymfocytů, hematopoéze a metastatickém šíření tumoru. Meta-analýza z roku 2015 prokázala využití CD44 jako prognostického markeru u ccRCC. Vysoká exprese CD44 korelovala s vysokým Fuhrmanové gradem, relapsem onemocnění, mikrovaskulární invazivitou a nepříznivou prognózou (Li X. et al., 2015)

VEGF

VEGF (vascular endothelial growth factor) má klíčovou úlohu v procese angiogeneze. Má mitogenní účinky na endotelie, zvyšuje cévní permeabilitu a stimuluje produkci proteolytických enzymů. Vyšší hodnota VEGF je asociována s pokročilejším stadiem onemocnění, agresivnějším nádorem, horším celkovým stavem pacienta a nepříznivou prognózou (Pena C. et al., 2010; Jacobsen N. et al., 2000). Navíc bylo prokázáno, že pacienti s nejvyšší hodnotou VEGF v séru mají větší benefit z terapie sorafenibem než pacienti s nízkou koncentrací (Pena C. et al., 2010). Avšak studie hodnotící VEGF jako prediktivní marker k identifikaci RCC pacientů, kteří budou mít benefit z VEGF-cílené terapie přišla k nejednoznačným výsledkům (Escudier B. et al., 2009).

Běžně dostupné laboratorní parametre

Existuje celá řada publikací týkající se možného využití dostupných laboratorních parametrů jako diagnostické nebo prognostické markery. Obecně vysoká hodnota sedimentace, C-reaktivního proteinu, laktát dehydrogenázy trombocytóza,

hyperkalcémie, je spojena s nepříznivou prognózou. Na našem pracovišti jsme hodnocením všech běžně dostupných laboratorních parametrů zjistili korelaci mezi hladinou orosmukoidu a relapsem onemocnění do dvou let od operačního výkonu pro lokalizovaný karcinom ledviny (Koldová M. et al., 2015).

2.2. RAGE a Glyoxaláza I

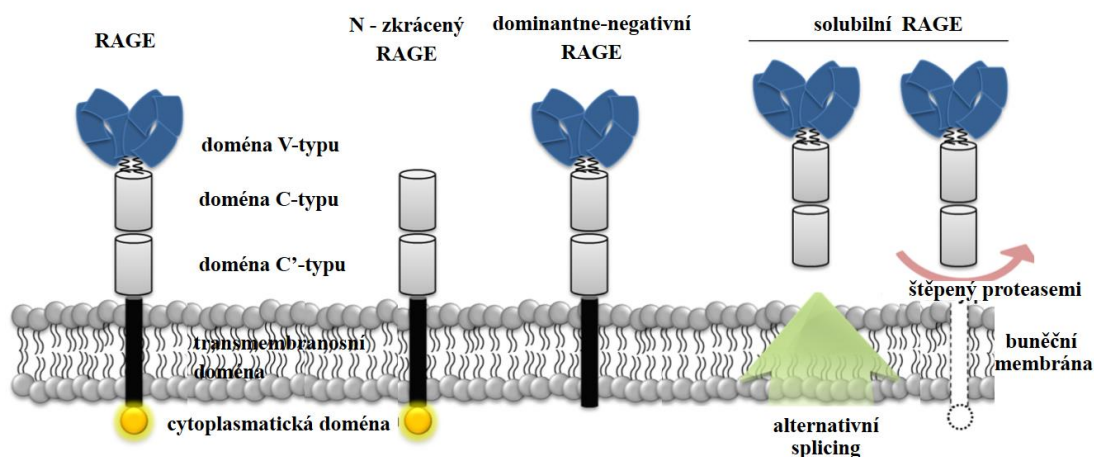
2.2.1. Lokalizace a fyziologická funkce RAGE

RAGE (receptor for advanced glycation endproducts) je 35 kDa transmembránový receptor, člen imunoglobulinové superrodiny (Schmidt A.M. et al., 1995) byl poprvé popsán v roce 1992 jako receptor pro produkty pokročilé glykace (Neeper M. et al., 1992). RAGE gen je lokalizovaný na chromozomu 6p21.3, blízko třídy III, hlavního histokompatibilního komplexu. Gen kódující RAGE pozůstává z 11 exonů a 10 intronů. Míra exprese RAGE je v buňkách relativně vysoká v embryonálním vývoji, zejména v centrálním nervovém systému (Alexiou P. et al., 2010). I přes rozšířenou distribuci, RAGE-deficientní myši netrpěli vývojovými nebo funkčními vadami (Liliensiek B. et al., 2004). V průběhu života ve zdravých tkáních se exprese RAGE snižuje, pouze v plicích, zejména v epiteliálních buňkách alveolárního typu I, je konstitutivně exprimován (Bierhaus A. et al., 2005). RAGE je exprimován také v buňkách imunitního systému: neutrofilů, monocytů-makrofágů, lymfocytů, antigen-presentující buněk a regulační T buněk a podílí se na tkáňové hemostáze, rozlišení zánětu, regeneraci tkáně po akutním zánětlivém poškození (Rojas A. et al., 2010). RAGE sa významne podílí na regeneraci a plasticitě buněk periferního nervového systému a myogenezi (Ramasamy R. et al., 2005; Sorci G. et al., 2013; Alexiou P. et al., 2010). Navíc byla zjištěná exprese RAGE u eozinofilů, které zároveň uvolňují také RAGE ligandy a tím dochází k vlastní aktivaci RAGE. Eozinofily se zúčastňují na chronických zánětlivých onemocněních, parazitárních infekcích, alergických onemocněních, poranění tkání a nádorové imunity (Curran C.S. a Bertics P.J.,

2011). RAGE působí v mnoha patologických procesech jako receptor pro širokou skupinu ligandů. Aktivace RAGE byla prokázána u diabetu, aterosklerózy, nefropatiích, neurodegenerativních onemocnění a malignity (Sorci G. et al., 2013; Raucci A. et al., 2008).

2.2.2. Struktura RAGE

RAGE se skládá z extracelulární, transmembranósní části a z koncové oblasti směřované do cytosolu. Extracelulární část pozůstává z jedné domény V-typu a dvou domén typu C. V-doména a C1 doména tvoří samostatnou funkční jednotku. Kromě ligandu S100A6, který reaguje s C2-doménou, všechny RAGE-ligandy interagují s VC1 doménou. Transmembranósní část ukotvuje RAGE k celulórní membráne. Cytoplasmatická koncová část hraje klíčovou roli v intracelulární signalizaci (Neeper M. et al., 1992; Gonzáles I. et al., 2013). Byly popsány tři izoformy RAGE: N-zkrácená, dominantně negativní a solubilní. N-zkrácená izoforma nemá V doménu, proto nemůže interagovat s ligandy, zatím co cytoplasmatická koncová část chybí u dominantně negativního RAGE, co má za následek, že po navázání ligandu nedojde k signální transdukci (Hudson B.I. et al., 2008). Struktura RAGE genu včetně izoforem je znázorněna na Obr. 1.



Obr. 1 Struktura RAGE genu, včetně izoforem

Zdroj: Modifikováno podle (Lee E.J. a Park J.H., 2013).

2.2.3. sRAGE

SRAGE vzniká alternativním sestřihem RNA nebo proteázovou aktivitou z RAGE. Nemá transmembránovou část, proto může cirkulovat mimo buňku a vázat RAGE ligandy a tak neutralizovat jejich efekt. SRAGE má větší afinitu vázat ligandy než kompletní RAGE. Tímto způsobem SRAGE neutralizuje efekt ligandů (Bierhaus A. et al., 2005). Taktéž bylo prokázáno, že SRAGE interaguje s RAGE a tím inhibuje homodimerizaci RAGE a signální transdukcii (Koch M. et al., 2010). SRAGE může sloužit i jako prevence v aktivaci post RAGE signální transdukce z důvodu negativní zpětné odpovědi (Yonekura H. et al., 2003). Několik studií poukázalo na inverzní souvislost mezi hladinou SRAGE a karcinomem pankreatu (Krechler T. et al., 2010), jater (Moy K.A. et al., 2013), prsu (Tesařová P. et al., 2007), plic (Jing R. et al., 2010), kolorektálního karcinomu (Jiao L. et al., 2012).

2.2.4. Regulace exprese RAGE

RAGE, na rozdíl od většiny receptorů, které při zvýšené koncentraci svých ligandů tlumí vlastní expresi, má jeho interakce s ligandem pozitivní vliv na expresi. Po stimulaci RAGE dochází k translokaci transkripčního faktoru NF- κ B (nukleární faktor κ B) do jádra a k jeho vazbě na promotor oblasti pro RAGE, tím se zvýší mRNA translace. Navíc NF- κ B se také váže na promoter oblasti pro glyoxalasu I (GLO I) a inhibuje její expresi. GLO I inaktivuje prekurzory AGE, metylglyoxal katalyzuje na laktát a tím dochází k redukcii AGE. Aktivace RAGE zvyšuje produkci AGE, potlačením degradace jejich prekurzorů (Yao D. a Brownlee M., 2010). Tímto mechanismem dochází k abnormální upregulaci a aktivaci RAGE a spuštění zánětlivých a imunitních odpovědí, které vedou ke vzniku již výše uvedených onemocnění.

2.2.5. Glyoxaláza I

Glyoxaláza I, je hlavním enzymem glyoxalázového komplexu. Gen kódující GLO I je lokalizován na chromozomu 6p21.2 mezi HLA a centromery a obsahuje 6 exonů. GLO I je odpovědná za konverzi reaktivních dikarboonylů na netoxické meziprodukty a tím

chrání živé buňky před produkcí a akumulací produktů pokročilé glykace (AGEs). Pokles aktivity GLO I vede ke zvýšené tvorbě AGEs a tím k poškození tkáně (Thornalley P.J., 2003 a Thornalley P.J., 2007). Glyoxaláza I reguluje také přežití a proliferaci nádorových buněk. Její exprese je stimulována aktivací AP-2 (activator protein-2), E2F4 (early gene 2 factor isoform 4) a Nrf2 (nuclear factor erythroid 2-related factor). Zvýšená exprese GLO I aktivuje NF- κ B a signální dráhu PI3K/Akt a tak podporuje přežití a proliferaci buňky. Zvýšená exprese GLO I redukuje tvorbu AGEs zvýšením metabolismu metylglyoxalu. Výsledkem je inaktivace p38/MAPK signální dráhy a snížení exprese p53 a Bax a tím i inhibice apoptózy (Geng X. et al., 2014). Upregulace GLO I byla prokázána u karcinomu žaludku (Cheng W.L. et al., 2012), prostaty (Baunacke M. et al., 2014), endometria (Wang Y. et al., 2012) a jater (Dong L. et al., 2012). U proliferujících buněk dochází ke zvýšení intracelulárního glyoxalu a metylglyoxalu, proto vyšší exprese GLO I má důležitou roli v přežití nádorových buněk (Geng X. et al., 2014).

2.2.6. RAGE ligandy

RAGE váže velké množství ligandů včetně AGEs (Advanced Glycation End Products, produkty pokročilé glykace) (Ramasamy R. et al., 2005), S100 proteiny/kalgranulin (Leclerc E. et al., 2009) a protein HMBG-1 (high mobility group box protein 1) (Wu X. et al., 2013), Mac-1, glykosaminoglykany či kyseliny lysofosfatidovou, fosfatidylserin (He M. et al., 2011), C3 (Ruan B.H. et al., 2010), AOPPs (produkty pokročilé oxidace proteinů) (Zhou L.L. et al., 2012) a další. I když jsou tyto ligandy strukturálně odlišné, receptor rozpozná ligandy přes specifické molekulární vzory a váže je nejčastěji prostřednictvím V-domény pomocí elektrostatických sil, které vznikají mezi kladně nabitou ektodoménou RAGE a negativně nabitým ligandem (Fritz G., 2011), proto RAGE patří mezi PRR (pattern-recognition receptor). Po interakci RAGE a ligandů dochází k aktivaci mnoha signálních drah, které v závislosti na typu ligandu, prostředí a stimulované buňky vedou k příslušné buněčné odpovědi. Výsledkem je zvýšení buněčné

proliferace, přežívání buněk, autofágie, angiogeneze i omezení apoptózy (Malik P. et al., 2015) a nekrózy (při depleci ATP) (Sparvero L.J. et al., 2009).

AGEs

AGEs tvoří heterogenní skupinu látek, vznikají neenzymatickou glykací a jejich tvorba je potencována vlivem karbonylového a oxidačního stresu. Kumulují se v organismu při stárnutí, při hyperglykemii, zánětlivých onemocněních a renálním sehlání. AGEs se váží s vysokou afinitou k RAGE. Kromě vazby na RAGE, také modifikují proteiny a mění jejich fyzikální a chemické vlastnosti (Kalousová M. et al., 2014). Vážou se i na jiné receptory např. MSR1 (makrofágový skavengerový receptor 1) (Araki N. et al., 1995), OST-48 (oligosacharyl transferáza-48, resp. AGE-R1), 80K-H fosfoprotein (AGE-R2), a galektin-3 (AGE-R3) (Thornalley P.J., 1998), LOX-1 (lecithin-like oxidized low density lipoprotein receptor) (Jono T. et al., 2002), CD36 (Ohgami N. et al., 2001) a další. Interakce těchto receptorů s AGE ovlivňuje regulaci endocytózy a degradaci AGEs. Avšak po vazbě na RAGE dochází ke spuštění signálních kaskád, které vedou k řadě diabetických komplikací, ateroskleróze, kardiovaskulárním onemocněním, nefropatii a chronickému zánětu (Fritz G., 2011). Předpokládá se zvýšená akumulace AGEs i v neoplastických buňkách, protože jsou tyto buňky charakteristické zvýšeným příjmem glukózy a vysokou glykolýzou (Logsdon C.D. et al., 2007).

HMGB-1

HMGB-1 (High mobility group box 1), nazývá se také amfoterin. Vyskytuje se v jádře i cytoplasmě buňky. V jádře se vyskytuje v neacetylované formě, po hyperacetylaci je translokován do cytoplasmy. V jádře interaguje s nukleozómy, transkripčními faktory a históny. Podporuje transkripci genů a reparaci DNA, remodelaci chromatinu a mění strukturu nukleozomů (Bianchi M.E. a Agresti A., 2005; Klune J.R. et al., 2008). Cytosolický HMGB-1 má pozitivní vliv na regulaci autofagie. Jeho exprese závisí na typu a stavu tkáňě (Sparvero L.J. et al., 2009). Může být také uvolněn do extracelulárního

prostoru při nekróze buňky permeabilizovanou membránou nebo je aktivně secernován makrofágy, NK buňkami a zralými dendritickými buňkami. Podnětem k aktivní secernaci je aktivace signální dráhy přes nukleární faktor κB (NF κB). HMGB-1 působí jako extracelulární cytokín (Sparvero L.J. et al., 2009), který je využíván imunitním systémem k rozpoznání poškození tkániva, iniciaci reparačních mechanismů a podpoře dozrávání lymfocytů (Ulloa L. a Messmer D., 2006). Také působí jako silný prozánětlivý aktivátor a tak přispívá k patogenezi různých zánětlivých onemocnění (Logsdon C.D. et al., 2007). Kromě RAGE interaguje s dalšími receptory TLR (Toll like receptor).

S100 proteiny/kalgranulin

Dosud bylo popsáno 21 různých lidských S100 proteinů. Většina jsou homodiméry, složené z dvou identických polypeptidů, které jsou spojené non-kovalentní vazbou. Jsou charakterizovány přítomností dvou EF-hand domén (závit-smýčka-závit). Obsahují dvě různá místa schopná vázat kalcium, některé typy mohou vázat i zinek a měď. S100 proteiny jsou lokalizovány především intracelulárně, kde se podílejí na řadě nitrobuněčných dějů, zejména na kontraktilitě, buněčném růstu, diferenciaci buněk, Ca^{2+} homeostáze, aktivitě enzymů, regulaci buněčného cyklu, transkripci a také sekreci. Některé typy jsou výhradně extracelulární, vykazující vlastnosti podobné cytokinům. Po navázání kalcia na S100 dochází ke konformační změně proteinu, změní se povrchový náboj a dostupnost hydrofóbních zbytků. Vazba kalcia na S100 je nezbytná pro interakci s RAGE (González I. et al., 2013; Logsdon C.D. et al., 2007). Předpokládá se role některých S100 proteinů v karcinogenezi. Například sekrece proteinu S100A4 výrazně zvyšuje potenciál nádoru zakládat vzdálené metastázy (Garrett S.C. et al., 2008). Zvýšená exprese heterokomplexu S100A8/A9 (kalprotektin) byla popsána u karcinomu žaludku, pankreatu (Gebhardt C. et al., 2008), kolon (Turovskaya O. et al., 2008) a renálního karcinomu (Zhang L. et al., 2015). S100A12 (EN-RAGE) byl popsán u karcinomu močového měchýře (Khorramdelazad H. et al., 2015), orofaryngeální oblasti (Funk S. et al., 2015). V naší preliminární studii jsme také prokázali význam proteinu S100A12 u

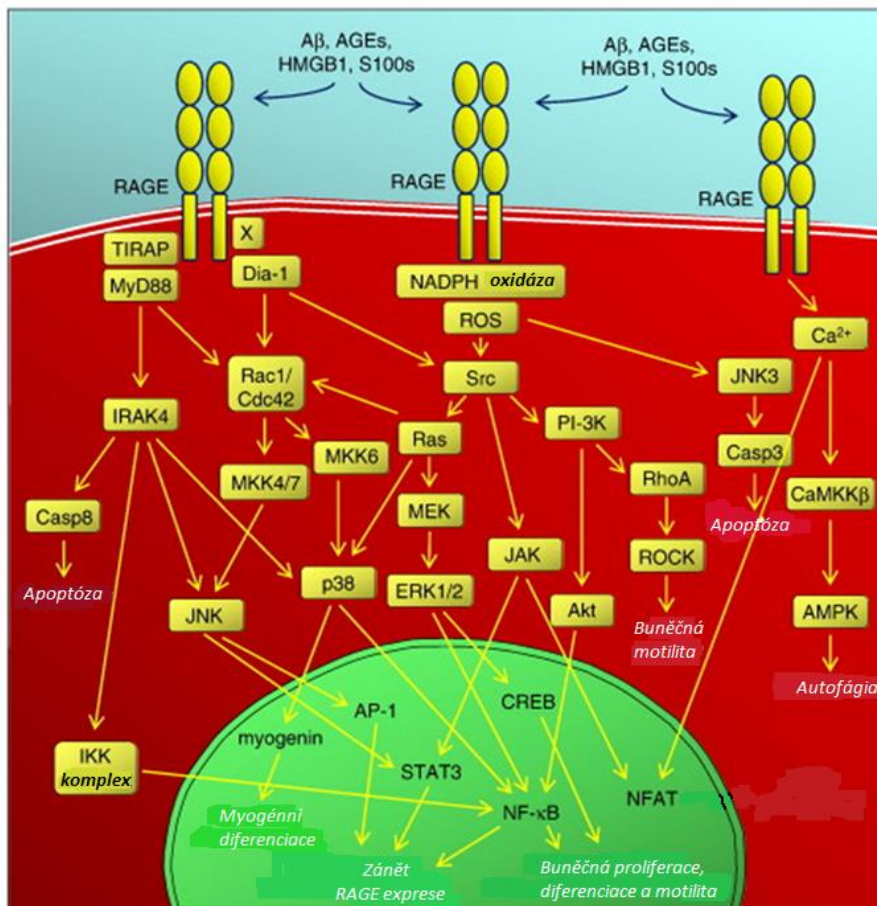
karcinomu ledviny. Zjistili jsme významně vyšší hladiny ve skupině pacientů s ccRCC v porovnání se zdravou skupinou (Chocholatý M. et al., 2015). Jeho zvýšená koncentrace je typická pro zánětlivé onemocnění. (van de Logt F. a Day A.S., 2013).

2.2.7. Signální dráhy

Signalizace RAGE je komplexní nejen proto, že je multigandový receptor a aktivuje celou řadu signálních drah ale také proto, že jeho ligandy se také vážou na další receptory, které také aktivují řadu signálních drah. Navíc aktivace/inhibice signální dráhy přes RAGE je závislá na koncentraci ligandu, prostředí a typu buňky (Xie J. et al., 2013). Signální dráhy aktivované navázáním RAGE-ligandů na RAGE jsou znázorněny na Obr. 2.

Aktivace RAGE na úrovni cytosolové domény

Cytosolové doméně chybí tyrozin kinázová aktivita. Klíčovým mediátorem ke spuštění intracelulárních signálních drah je protein mDia1 (mammalian Diaphanous related formin 1). Patří do skupiny proteinové rodiny formínů, které se podílí na kontrole migrace a dělení buněk. Je kódován genem Diaph1 lokalizovaném na chromozomu 5q31 (Hudson B.I. et al., 2008). Zvýšená exprese RAGE stimuluje tvorbu mDia1 proteinu, na druhé straně však deplece genu Diaph1 nemá vliv na hladinu RAGE proteinů (Toure F. et al., 2012). Signální dráhy kontrolované mDia1 proteinem stimulují cdc42/Rac-1 (cell division control protein 42/Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1), Erg-1 (early growth response protein-1, proteinkináza B (PKB, Akt), a glykogen syntáza kináza 3 β (GSK3 β) (Xie J. et al., 2013).



Obr. 2. Aktivace RAGE celou řadou ligand spouští specifické signální dráhy v buňce. Ligandová vazba způsobuje RAGE oligomerizaci (nebo stabilizaci RAGE oligomerů) a asociaci RAGE cytoplasmatické domény s adaptori Dia-1, TIRAP-MyD88 a/nebo dosud neidentifikovanými adaptori (X), které následně aktivují signální molekuly zasahující transkripční faktory NF-κB, AP-1, CREB, STAT3 a/nebo myogenin. Tím RAGE reguluje zánětlivou odpověď a/nebo buněčnou proliferaci, přežití, diferenciacie a motilitu buněk specifickým způsobem. Zdroj: Modifikováno podle (Sorci G. et al., 2013).

Dalším způsobem aktivace signální dráhy přes cytosolovou doménu je navázání tyrosin kinázy. Sarcoma family protein (Src) je typická tyrosin kináza, která se často asociuje s receptory bez tyrosin kinázové aktivity (Martin G.S., 2001). Toto potvrdili ve své práci Reddy et al., kteří prokázali aktivaci Src po navázání ligandu S100B na RAGE. Aktivace

Src má za následek spuštění signálních kaskád: fosorylace kaveolinu-1, ERK, p38MAPK, NF κ B, STAT3 (signal transducers and activators of transcription 3). Stimulace STAT3 může být přímo prostřednictvím Src nebo přes JAK (Janus kináza) (Reddy M.A. et al., 2006). Cytosolová doména RAGE také obsahuje putativní ERK vážící doménu a tímto způsobem podporuje jeho aktivaci (Ishihara K. et al., 2003). Sakaguchi et al. zjistili, že cytoplazmatická doména RAGE je po navázání ligandu fosorylovaná proteinkinázou C ζ (PKC ζ), následně TIRAP a MyD88, adaptorové proteiny Toll-like receptoru-2 a -4 (TLR2/4), interagují s fosorylovaným RAGE a aktivují signální dráhy. Autoři tímto prokázali existenci funkční interakce mezi RAGE a TLR. TLR se podílí na koordinaci regulace zánětlivé a imunitní odpovědi a dalších funkcí buňky (Sakaguchi M. et al., 2011).

RAGE a Nukleární protein κ B

NF- κ B je proteinový komplex, který kontroluje transkripci DNA, produkci cytokínů a přežití buňky. Má významnou roli v regulaci imunitní odpovědi na infekci. Nesprávná regulace NF- κ B je spojená se vznikem malignity, zánětlivých a autoimunitních onemocnění, septického šoku, virové infekce. NF- κ B patří do kategorie "rapid-acting" primárních transkripčních faktorů (tj. transkripční faktory, které jsou přítomné v buňce v inaktivním stavu a nevyžadují syntézu nových proteinů, aby došlo k jejich aktivaci, a tím NF- κ B patří mezi první respondéry na škodlivé stimuly buňky. U inaktivních buněk je NF- κ B sekvestrován v cytoplasmě inhibitorem κ B (I κ B). Aktivace NF- κ B je iniciována degradací I κ B proteinu a to aktivací IKK (I κ B kináza). IKK je složená s katalytických podjednotek IKK α , IKK β a IKK γ (NEMO = NF- κ B essential modulator). Po aktivaci signálem I κ B kináza fosoryluje I κ B, která je následně degradována a NF- κ B komplex je uvolněn. Stimulací RAGE dochází k aktivaci MAPK (mitogen-activated protein kinase) signální kaskádě, která konverguje do IKK a inhibuje I κ B a tím uvolňuje a aktivuje NF- κ B (Jacobs M.D. a Harrison S.C., 1998; Perkins N.D., 2007). Dalším procesem regulovaným signální drahou RAGE-NF- κ B je syntéza radikálu oxidu dusného, který je výsledkem reakce NOS (syntáza oxidu dusného) a

superoxidového aniónu, který je produkován NADPH-oxidázou. NADPH oxidáza může být také aktivována přes AGE-RAGE interakci. Reakcí superoxidového radikálu a radikálu oxidu dusného vzniká peroxyinitrit, který způsobuje peroxidaci lipidů, oxidaci a nitraci proteinů. Zvýšená hladina reaktantů oxidačního stresu vede k aktivaci NF- κ B. Dalším pravděpodobným mechanismem aktivace NF- κ B přes interakci RAGE ligand je PI3K-PKB dráha (Xie J. et al., 2013). Rasheed a Haqqi prokázali, že interakce AGE/RAGE způsobuje v chondrocytech stresovou reakci v endoplazmatickém retikulu (ER) s uvolněním ER stresových markerů a následně aktivací p38MAPK a NF- κ B a tím potencuje expresi COX-2 (Rasheed Z. a Haqqi T.M., 2012).

2.2.8. Role RAGE v karcinogenezi

Autofágie

Autofágie je intracelulární obranný mechanismus, při kterém jsou organely a proteiny sekvastrované do autofagických vezikul a následně, po spojení s lyzozómy degradovány. U maligních buněk tento mechanismus zvyšuje rezistenci buňky před apoptózou. RAGE pozitivně reguluje autofágii a tím podporuje přežívání nádorových buněk. Při nutričním hladovění se na indukci autofágie nejvíce podílí mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1), zatím co za fyziologických podmínek je autofágie řízená zejména přes homologue of vacuolar protein sorting 34 (hVps34), který vede k formaci hVps34/beclin1/autofagozomálního komplexu (Lipinski M.M. et al., 2010). Hu et al. prokázali, že AGE/RAGE upreguluje autofágii buněk hladkého svalstva cév a to aktivací ERK a inhibicí PKB (Hu P. et al., 2012). Jiná studie zjistila, že aktivace ERK přes RAGE vede k stimulaci DAPK (death-associated protein kinázy), která následně fosforyluje a aktivuje beclin 1 a tím podporuje autofágii (Kang R. et al., 2011). U karcinomu pankreatu RAGE má důležitou úlohu v karcinogenezi a to indukci a udržováním vyšší úrovně autofágie přes IL-6 a mitochondriální STAT3. Aktivací STAT3 dochází v mitochondriích

také ke zvýšené produkci ATP, která podporuje proliferaci nádorových buněk (Kang R. et al., 2012).

Apoptóza

Apoptóza (programovaná smrt buňky) je proces, u kterého dochází k eliminaci poškozených, zatoulaných, mutovaných, starých, či nepotřebných buněk. Jedním z mechanismů apoptózy je narušení rovnováhy faktorů proapoptotických (p53 a bax), a k protiapoptotických (bcl-2). Převaha proapoptotických signálů vede ke zvýšení propustnosti vnitřní mitochondriální membrány a k uvolnění cytochromu C do cytosolu, který aktivuje kaspázy a apoptózu. RAGE limituje apoptózu přes p53-dependentní mitochondriální dráhu. RAGE inhibuje translokaci p53 do mitochondrií a tím inhibuje apoptózu a podporuje přežití buňky (Chipuk J.E. et al., 2004). Navíc Lata a Mukherjee prokázali, že u buněk karcinomu prsu se RAGE podílí nejen na buněčné proliferaci, ale také podporuje přežití buňky a to stimulací fosforylace proteinu AKT a zvýšení exprese Bcl-2 proteinu (Lata K. a Mukherjee T.K., 2014).

Buněčná proliferace

Mezi signální dráhy aktivované přes RAGE vedoucí k proliferaci buňky patří zejména JAK/STAT, mTOR a MAPKs (Mitogen-activated protein kinases). MAPKs jsou enzymy ze skupiny kináz, které se účastní širokého spektra buněčných pochodů, jako je regulace exprese genů, mitóza, buněčná diferenciaci a proliferace, ale i programovaná buněčná smrt. Interakce RAGE/ligand může vést k stimulaci 3 MAPKs: (ERK, p38MAPK a JNK) a tím i k proliferaci nádorových buněk (Taguchi A. et al., 2000). JAK/STAT (Janus Kinase/Signal Transducers and Activator of Transcription) je signální dráha, která je kromě RAGE regulována také jinými receptory. K aktivaci JAK dochází následkem konformační změny receptoru po navázání příslušného ligandu, tímto způsobem se dostanou do těsné blízkosti dvě molekuly JAK asociované s tímto receptorem a navzájem se fosforylují. Následně JAK fosforyluje STAT v oblasti zbytku tyrosinu v

blízkosti C konce. Po fosforylaci STAT vstupuje ve formě diméru do jádra, kde reguluje transkripci cílových genů (Rawlings J.S. et al., 2005). Dráha RAGE-JAK2-STAT3 zvyšuje buněčnou proliferaci u renálních fibroblastů (Huang J.S. et al., 2001) a také buněk hladkého svalstva v aortě (Meloche J. et al., 2011).

Angiogeneze

U endoteliálních buněk při aktivaci RAGE dochází k upregulaci VEGF (vascular endothelial growth factor) a metalloproteinázy-2, a také k porušení E-kadherin-kateninového komplexu, a tímto mechanismem je podpořena formace kapilár. Navíc aktivace RAGE také zvyšuje permeabilitu endotelu pro makromolekuly, které se také podílejí na angiogenezi. Takino et al. prokázali významnou roli RAGE ve včasném stadiu tumorigeneze hepatocelulárního karcinomu jednak upregulací exprese VEGF proteinu a vyšší odolností nádorových hepatálních buněk v hypoxickém prostředí z důvodu vyšší exprese RAGE (Takino J. et al., 2012).

Lokální invaze a metastatické šíření

Shen et al. popsali důležitou roli RAGE v invazivite a metastatickém šíření buněk kolorektálního karcinomu. Ligand S100P aktivuje RAGE/ERK, která podporuje epiteliálně-mesenchymální přechod (EMT). Při EMT vznikají z epiteliálních buněk migrace schopné mesenchymální buňky. Tento proces je považován za důležitý ranný krok umožňující šíření nádorových buněk. Po potlačení RAGE došlo v nádorových buňkách střeva k supresi EMT procesu (Shen Z.Y. et al., 2016). Pro-migrační efekt S100A4 po spuštění RAGE/Dia-1 signální dráhy u nádorových buněk štítné žlázy publikovali Medapati et al. Blokáce signální dráhy RAGE/Dia-1 může vést k redukcii lokální invaze a metastického šíření (Medapati M.R. et al., 2015).

2.2.9. Význam RAGE a Glyoxalázy I u různých typů karcinomů

RAGE je exprimován v mnoha nádorových buňkách, např. karcinomu prsu, kolon, plic, prostaty, ovaria, melanomu, ledviny a jiných. V procesu karcinogeneze má RAGE významnou roli. Podporuje autofáгии, buněčnou proliferaci, angiogenezi, lokální invazivitu a metastatické šíření nádoru a tlumí apoptózu (Malik P. et al., 2015).

RAGE a karcinom pankreatu

Kang et al. prokázali klíčovou roli exprese RAGE v nádorových buňkách pankreatu v začátečných stádiích karcinogeneze (Kang R. et al., 2012). Navíc hladina exprese RAGE koresponduje s metastatickým potenciálem (Takada M. et al., 2001). Ligandy RAGE jsou také exprimovány ve vyšší míře u karcinomu pankreatu. Expresí S100P proteinu je specifická pro karcinom a nebyla detekována u chronické pankreatitidy (Ohuchida K. et al., 2006). Zdá se, že exprese tohoto proteinu se zvýší při progresi karcinomu, resp. při transformaci intraepiteliální neoplázie do invazivního adenokarcinomu (Dowen S.E. et al., 2005). Zvýšená exprese S100P podporuje lokální růst a metastatické šíření nádoru. Expresí S100A4 koreluje s vyšším patologickým stadiem a nepříznivou prognózou (Logsdon C.D. et al., 2007). Hypometilace genů pro oba proteiny má za následek vyšší expresi těchto proteinů (Sato N. et al., 2003; Sato N. et al., 2004). Navíc významná role AGEs/RAGE v karcinogenezi karcinomu pankreatu byla nepřímo potvrzena studií, která prokázala, že diabetici užívající Metformin mají nižší riziko vzniku karcinomu pankreatu (Li D. et al., 2009). Metformin je potentní inhibitor procesu glykace (Reddy V.P. a Beyaz A., 2006). Hladina sRAGE u pacientů s karcinomem je nižší v porovnání se zdravou populací (Jiao L. et al., 2010). Výsledky exprese glyoxalázy I v buňkách karcinomu pankreatu publikovala pouze jedna práce, která prokázala, že glyoxalasa I je exprimována ve vyšší míře v buňkách karcinomu pankreatu (Wang Y. et al., 2012).

Hepatocelulární karcinom

Hladina RAGE v tkáni primárního hepatocelulárního karcinomu byla vyšší v porovnání s paratumorózní tkáni jater (Yaser A.M. et al., 2012). Navíc interakce HMGB1 a RAGE může modulovat proliferaci buněk a buněčný cyklus buněk HCC a tím má významnou úlohu ve vzniku, migraci a invazivitě HCC. HMGB1 může také po interakci s RAGE indukovat angiogenezi (Chen X. et al., 2014). Inhibice RAGE potlačila růst buněk u HCC (Yaser A.M. et al., 2012). Koncentrace sRAGE negativně korelovala s metastatickým potenciálem buněk hepatocelulárního karcinomu (Koles N. et al., 2014). Tento závěr byl potvrzen i dalšími studiemi, ve kterých zjistili signifikantně vyšší hladinu sRAGE u skupiny pacientů bez progresu v porovnání se skupinou s progresí HCC (Chen X. et al., 2014). Hu et al. zjistili, že glyoxaláza I je nevyhnutná k progresi HCC. Expresí GLO I byla zvýšená v nádorové tkáni a zaměření exprese významně inhibovalo proliferaci HCC buněčných linií (Hu X. et al., 2014).

Kolorektální karcinom

Kuniyasu et al. jako první prokázali vyšší expresi RAGE u všech analyzovaných vzorků kolorektálního karcinomu (CRC), navíc jeho expresi byla spojená s migrací a invazivitou nádorových buněk (Kuniyasu H. et al., 2003) Na jeho práci navázali Sakellariou et al., kteří skoumali expresi AGE, RAGE a GLO1 v nádorové a nenádorové tkáni střeva. I když neprokázali rozdíl mezi rozsahem exprese AGE a RAGE mezi nádorovou a zdravou tkání, intenzita exprese AGE i RAGE byla vyšší v nádorové tkáni. Zvýšená expresi RAGE a AGE v nádoru byla u 99%, resp. 98,3% vzorků. Navíc expresi AGE korelovala s histologickým gradem onemocnění. V zdravé tkáni střeva neprokázali expresi GLO I u 78% vzorků a mírně pozitivní byla expresi u 22% vzorků, naproti tomu u buněk CRC byla prokázána vysoká expresi GLO1. Expresí GLO1 negativně korelovala s T kategorií, ale nekorelovala s histologickým gradem. Negativní vztah byl prokázán také mezi expresí GLO I a AGE ve zdravé tkáni střeva i nádorové tkáni, tento rozdíl však byl méně evidentní u nádorové tkáně. Vyšší expresi GLO1 predikovala kratší přežití (Sakellariou S. et al., 2016). Dalším

potenciálním prognostickým markerem, kterého účinnost RAGE-dependentní je protein S100P. Vyšší exprese tohoto proteinu byla spojena s invazivním a metastatickým CRC (Shen Z.Y. et al., 2016), navíc doxorubicin-rezistentní CRC vykazoval vyšší expresi S100P v porovnání se senzitivním CRC (Bertram J. et al., 1998). S100A4 je také exprimován u CRC a je spojen s invazivním potenciálem nádoru. Výše exprese korelovala s prognózou onemocnění (Gongoli S. et al., 2002). Exprese HMGB1 a RAGE má také spojitost s progresí CRC a současně je asociovaná s invazí a metastatickým šířením CRC (Kuniyasu H. et al., 2003). Jaio et al. prokázali ve dvou studiích inverzní souvislost mezi sérovou hodnotou sRAGE u pacientů s adenomem a karcinomem střeva (Jaio L. et al., 2011 a 2012).

Karcinom prsu

Vyšší exprese RAGE byla identifikována nejen u agresivního karcinomu prsu, ale také v lymfatických a vzdálených metastázách a byla spojená s nepříznivou prognózou. Na myších modelech blokováním RAGE signální dráhy došlo k inhibici růstu primárního nádoru, metastáz a angiogeneze (Nasser M.W. et al., 2015). Kromě toho, RAGE váže S100A8/A9, čím rekrutuje MDSCs (myeloid derived suppressor cells) a podporuje růst a metastatický potenciál karcinomu prsu (Nasser M.W. et al., 2016). Toto potvrdili ve své práci i Yin et al., kteří prokázali, že interakce RAGE-S100A8/A9 stimuluje migraci a invazivitu buněk karcinomu prsu přes polymerizaci aktínu a epiteliálního mesenchymálního přechodu (Yin, C. et al., 2013). Významnou roli v karcinogenezi má i interakce RAGE/S100A7 (Nasser M.W. et al., 2015). Tesařová et al. zjistili, že snížená sérová hodnota sRAGE může mít souvislost s progresí onemocnění a nepříznivou prognózou. Naopak vyšší hladina sRAGE byla detekována u pacientek s nižším gradem a pozitivními estrogenovými receptory (Tesarova P. et al., 2007). Stoetzer et al. rozšířili význam sRAGE jako prediktora odpovědi na neoadjuvantní chemoterapii u lokalizovaného karcinomu prsu. Objevili, že nízká hladina sRAGE koreluje s nulovou odpovědí na neoadjuvantní chemoterapii u lokalizovaného karcinomu prsu (Stoetzer O.J. et al, 2013). Vyšší exprese

GLO I byla zjištěna u 79 % karcinomů prsu. Up-regulace GLOI korelovala s nepříznivým gradem (Fonseca-Sánchez M.A. et al., 2012).

Karcinom žaludku

Wang et al. jako první analyzovali expresi RAGE v tkáni karcinomu žaludku (GC) a ve zdravé tkáni žaludku. Zjistili vyšší expresi RAGE u 63 % karcinomu v porovnání se zdravou tkání. Vyšší exprese RAGE korelovala s histologickým gradem, postižením lymfatických uzlin, přítomností metastáz a stadia onemocnění, ale nekorelovala s pohlavím, věkem velikostí tumoru. Skupina s vyšší expresí RAGE měla nepříznivější celkové přežití v porovnání se skupinou s nižší expresí (Wang D. et al., 2015). O významu RAGE v karcinogenezi GC svědčí i to, že inhibice RAGE redukovala proliferaci a invazivitu buněk GC (Xu X.C. et al., 2013). GLO I má významnou roli také u karcinomu žaludku. Byla detekována vyšší exprese GLO I v nádorové tkáni v porovnání se zdravým tkanivem. Vyšší exprese byla spojena s lokální invazí karcinomu, postižením mízních uzlin, patologickým stadiem onemocnění. Skupina pacientů s nižší expresí GLO I měla příznivější prognózu. Na druhé straně inhibice GLO I vedla k poklesu migrace a invazivity buněk (Cheng W.L. et al., 2012).

Karcinom plic

U karcinomu plic je na rozdíl od jiných nádorů, hladina exprese RAGE nízká. Nízká exprese koreluje se zvýšeným lokálním rastem a invazivitou nádoru (Bartling B. et al., 2005). Vyšetřením exprese RAGE v normální tkáni a v tkáni nemalobuněčného karcinomu plic se zjistilo, že v nádorové tkáni je významně redukována nebo zcela chybí exprese RAGE na transkripční i proteinové úrovni. Stejná redukce byla detekována i u dlažďovobuněčného karcinomu a adenokarcinomu (Bartling B. et al., 2005), proto může mít RAGE gen významnou úlohu v diagnostice karcinomu plic, resp. v diskriminaci mezi maligní a normální tkáni (Hofmann H.S. et al., 2004). Potencionálním diagnostickým a

prognostickým biomarkerem se jeví i sRAGE. Sérové hodnoty sRAGE jsou sniženy v porovnání se zdravou kontrolní skupinou (Jing R. et al., 2010). Navíc plicní metastázy karcinomu ledviny a kolon vykazují stejnou redukci exprese RAGE jako je v primárním plicním nádoru. RAGE ligandy jsou u karcinomu plic vysoce exprimovány. Vysoká exprese S100 proteinů je spojena s nepříznivou prognózou a přežitím u pacientů s karcinomem plic (Diederich S. et al., 2004). Rovnaké výsledky byly popsány i u HMGB1 (Liu P.L. et al., 2010).

Karcinom prostaty

V několika studiích byla popsána vyšší exprese RAGE a HMGB1 u karcinomu prostaty. Ishiguro et al. zjistili, že pacienti s neléčeným nebo hormonálně refrakterním karcinomem prostaty vykazují signifikantně vyšší expresi RAGE a HMGB1 (Ishiguro H. et al., 2005). Navíc Kuniyasu et al. zjistili vyšší expresi RAGE a HMGB1 jak v nádorových, tak i stromálních buňkách metastatického karcinomu prostaty v porovnání s lokalizovaným karcinomem (Kuniyasu H. et al., 2003). Další práce také potvrdila vyšší expresi RNA i proteinu RAGE u pacientů ve tkáni karcinomu prostaty v porovnání s nenádorovou tkání prostaty u toho samého pacienta (Lu B. et al., 2010). Zhao et al. poukázali, na možný prognostický význam RAGE a HMGB1, vyšší exprese byla diagnostikována u pacientů v III. a IV. stadiu onemocnění a spojena s nepříznivou prognózou (Zhao C.B. et al., 2014). Kromě HMGB1, byly v nádorových prostatických buňkách identifikovány i další ligandy S100A8, S100A9, S100A4 (Hermani A. et al., 2006; Gupta S. et al., 2003). Hermani et al. zjistili, že ligandy S100A8, S100A9 jsou produkovány nádorovými buňkami prostaty společně s RAGE a také prokázali i jejich vyšší expresi v těchto buňkách (Hermani A. et al., 2006). Navíc vyšší exprese těchto ligandů byla spojena s agresivnějším průběhem onemocnění a také kratší dobou do lokální recidivy u pacientů po radikální prostatektomii (Yun S.J. et al., 2015). Antognelli et al. prokázali vyšší aktivitu v buňkách karcinomu prostaty, navíc aktivita korelovala s nepříznivou prognózou (Antognelli C. et al., 2013).

Ostatní urologické malignity

Role RAGE v patogeneze testikulárních nádorů a karcinomu penisu zatím nebyla zkoumána. U karcinomu močového měchýře Khorramdelazad et al. prokázali, že interakce RAGE a S100A12 má významnou úlohu v patogenezi a progresi karcinomu močového měchýře (Khorramdelazad H. et al., 2015). Mearini et al. zkoumali expresi glyoxalásového systému ve vzorcích superficiálního a invazivního karcinomu močového měchýře. Aktivita glyoxalasy I byla signifikantně vyšší u superficiálního karcinomu močového měchýře než u invazivního karcinomu. Glyoxaláza II vykazovala vyšší aktivitu v obou skupinách v porovnání se zdravou tkání (Mearini E. et al., 2002).

RAGE a karcinom ledviny

Qie et al. publikovali výsledky své studie, ve které porovnávali expresi HMGB1 a RAGE v nádorové tkáni v porovnání se zdravou tkání ledviny. Pozitivní exprese HMGB1 zjistili v 71% v nádorové tkáni a v 25 % ve zdravé tkáni, u RAGE byli výsledky obdobné, v nádorové tkáni 72% a ve zdravé tkáni 25 %. Pozitivní míra exprese byla nezávislá od věku, pohlaví a velikosti tumoru, avšak míra exprese korelovala s diferenciací tumoru, klinickým stadiem a metastatickým postižením lymfatických uzlin. Exprese HMGB1 pozitivně korelovala s mírou exprese RAGE. Míra Exprese RAGE/HMGB1 negativně korelovala s prognózou pacientů a pěti-leté přežití nemocných s pozitivní expresí bylo významně nižší v porovnání se skupinou nemocných s negativní expresí (Qie G.Q. et al., 2015). Guo et al. zkoumali potenciální vztah mezi RAGE, VEGFR-2 a angiogenezí. Zjistili, že pacienti s vyšší úrovní exprese VEGFR-2 mají současně i vyšší expresi RAGE, a také i vyšší mikrovaskulární denzitu. Navíc zjistili negativní korelaci mezi úrovní expresí RAGE a celkovým přežitím (Guo Y. et al., 2015). V další práci autoři prokázali vyšší ko-expresi RAGE a HMGB1 u pacientů s světlobuněčným karcinomem ledviny. Výška exprese korelovala s klinicko-patologickými charakteristikami, včetně velikosti nádoru, nukleárního Fuhrmanové gradu a klinického stadia. Navíc zjistili, že inaktivace RAGE vede k částečné inhibici HMGB1 stimulované buněčné proliferaci, migraci a invazi (Lin L. et al., 2012). Eckel-

Passow et al. ve své studii poukázali na význam proteinu S100A12 v patogenezi karcinomu ledviny. Zjistili, že sice S100A12 je podobně exprimován v normální tkáni u obézních i neobézních subjektů, avšak je upregulován ve tkáni světlobuněčného karcinomu ledviny u obézních pacientů. Předpokládají, že upregulace S100A12 může vést k lokální, autokrinní stimulaci RAGE a tak podporovat progresi nádorového onemocnění. O tom svědčí i nepříznivé celkové přežití pacientů s vyšší expresí S100A12. Vyšší exprese byla také zjištěná u nádorů, které mají divokou alelu pro VHL gen (Eckel-Passow J.E. et al., 2014). Některé práce naznačili význam glyoxalázy I u karcinomu ledviny. Byla zjištěna vyšší úroveň transkripce a aktivity tohoto enzymu (Antognelli C. et al., 2006; Tanaka T. et al., 2013).

2.2.10. Polymorfismus RAGE a GLO I

Nejčastěji studovaný je polymorfismus GLO I SNP rs4746 (A419C), výsledkem je záměna alanin za glutamin. Barua et al. prokázali, že přítomnost alely A je spojena se sníženou aktivitou enzymu GLO I (Barua M. et al., 2011). Také další polymorfizmy SNP GLO I rs2736654 (A111E), rs1130534 (G124G) ovlivňují aktivitu enzymu glyoxalázy I. Peculis et al. porovnali polymorfismus GLO I SNP, rs2736654 (A111E), rs1130534 (G124G) a aktivitu enzymu GLO I, zjistili asociaci mezi mutovanými alelami a poklesem aktivity enzymu (Peculis R. et al., 2013).

Varianty genu RAGE také můžou ovlivňovat jeho expresi a funkci. Polymorfismus G82S je lokalizován na kodonu 82 v exonu 3 RAGE genu a vede ke změně z glycínu na serin. Tento polymorfismus ovlivňuje jak navázání ligandu (AGE) ale také i signalizaci RAGE. Genetická varianta 82Ser koreluje se sníženou koncentrací sRAGE (Huang Q et al., 2016).

RAGE -374 T/A polymorfismus je lokalizován v oblasti promotoru a má efekt na transkripční aktivitu. Mechanismus ale zůstává nejasný, předpokládá se, že konverze T na A vede k potlačení exprese a funkce receptoru RAGE (Falcone C. et al., 2008).

Polymorfismus RAGE -429T/C je lokalizován proximálně k – 374T/A polymorfizmu a substituuje T za C a zvyšuje expresi RAGE (Tripathi A.K. et al., 2014).

2.2.11. Vliv RAGE na HIF1 α

Kang et al. demonstrovali, že navázání RAGE k onkogennímu KRAS podporuje aktivaci HIF1 α a stimuluje růst karcinomu pankreatu za hypoxických podmínek. Hypoxia indukovala NF- κ B-závisle a HIF1 α -nezávisle od exprese RAGE v buňkách karcinomu pankreatu. Interakce mezi RAGE a mutantním KRAS se zvýšila za hypoxických podmínek, které pak udržovali KRAS signální dráhy (RAF-MEK-ERK and PI3K-AKT), a tím podpořili stabilizaci a transkripční aktivitu HIF1 α . Delece RAGE in vitro inhibovala KRAS signální dráhu a podněcovala degradaci HIF1 α a zvýšila hypoxií indukovanou buněčnou smrt nádorových buněk (Kang R. et al., 2014). Význam NF κ B v upregulaci HIF-1 α přes Akt byla zjištěna i u buněk karcinomu prostaty (Sun H.L. et al., 2007). U buněk karcinomu ledviny zatím přímá souvislost mezi RAGE a HIF nebyla zkoumána (Pichiule P. et al., 2007).

3. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

3.1. Genetická analýza polymorfizmů RAGE a GLO I

Hypotéza:

Glyoxaláza I a RAGE mají významnou roli v patogeneze karcinomů, včetně světlobuněčného karcinomu ledviny. Polymorfizmy genů glyoxalázy I a RAGE mají vliv na funkci receptoru. Proto vyslovujeme hypotézu, že existuje souvislost mezi GLO I a RAGE polymorfismus a světlobuněčným karcinomem.

Cílem práce:

Zhodnotit nejčastěji studované polymorfizmy (RAGE -429T/C, -374T/A, 2184A/G, G82S a GLO1 E111A) ve vztahu k ccRCC.

3.2. sRAGE

Hypotéza:

Po interakci RAGE-ligand dochází ke spuštění signálních drah vedoucích ke zvýšenému oxidačnímu stresu a zápalové odpovědi, co může v konečném důsledku vést až ke vzniku karcinomu. sRAGE má cytoprotektivní účinek, váže ligandy RAGE a tím zabraňuje aktivaci RAGE. Nižší hladina je v některých studiích spojená s rizikem karcinomu a také s nepříznivou prognózou.

Vyslovujeme hypotézu, že hodnota sRAGE bude ve skupině s ccRCC významně nižší a bude inverzně korelovat se stadiem onemocnění a gradem.

Cíl práce:

Stanovit souvislost mezi hladinou sRAGE a karcinomem ledviny a korelovat hodnoty sRAGE s klinicko-patologickými charakteristikami.

3.3. Dynamika sRAGE

Hypotéza:

Dynamiku sRAGE po operačním výkonu pro karcinom zatím nikdo nestanovoval. sRAGE je protektivní faktor, je vyšší v případě pooperačních komplikací a v jedné studii elevace sRAGE v průběhu chemoterapie korelovala s odpovědí na terapii. Proto vyslovujeme hypotézu, že elevace hodnoty sRAGE v průběhu sledování je prediktorem remise onemocnění a obráceně, stacionární hladina nebo její pokles by měl korelovat s nepříznivou prognózou, resp. s relapsem onemocnění.

Cíl práce:

stanovit hladinu sRAGE ve 3. týdnech, 3. měsících a 6. měsících po operačním období a při relapsu onemocnění a zjistit zda-li je rozdíl v pooperační hladině sRAGE u pacientů s lokalizovaným karcinomem s relapsem onemocnění a remisi onemocnění.

3.4. Vedlejší hypotéza a cíl

Hypotéza:

sRAGE vzniká alternativním sestřihem nebo odštěpením s RAGE účinkem proteáz. Aktivita proteáz závisí na polymorfizmu RAGE G82S.

Vyslovujeme hypotézu, že hodnota sRAGE bude závislá na polymorfizmu genu RAGE G82S.

Cíl práce:

Zjistit souvislost mezi hladinou sRAGE a polymorfizmem genu RAGE

4. PACIENTI A METODY

4.1. Soubor pacientů

Do studie bylo zařazeno celkem 214 pacientů s ccRCC (132 mužů a 82 žen, průměrný věk 63 ± 11 let), kteří podstoupili radikální nefrektomii nebo resekci nádoru ledviny mezi 1. lednem 2007 a 30. prosincem 2012. Tabulka 1 ukazuje charakteristiky pacientů s ccRCC.

Tabulka 1. Charakteristika skupiny pacientů s ccRCC

	ccRCC
Počet nemocných (muži/ženy)	214 (132/82)
Věk (roky)	63±11
BMI (kg/m ²)	28.2±4.82
Hypertenze	152 (71%)
Obezita	68 (31%)
Kouření	96 (45%)
Výskyt malignity v rodině	80 (37%)
Diabetes mellitus	40 (19%)
Stadium I	136 (63.6 %)
Stadium II	23 (10.8 %)
Stadium III	34 (15.9 %)
Stadium IV	21 (9.8 %)
Grade G1	62 (28.9 %)
Grade G2	108 (50.5 %)
Grade G3	31 (14.5 %)
Grade G4	13 (6.1 %)

Data jsou vyjádřena jako průměr \pm SD (směrodajná odchylka), BMI = body mass index

U této skupiny pacientů jsme analyzovali polymorfizmy RAGE a GLO I. Výsledky jsme porovnali s kontrolní skupinou tvořenou 154 zdravými dobrovolníky (57 mužů a 97 žen, průměrný věk 57 ± 10 let). Při follow-up 1-6 let (medián 3 roky) byla zjištěna lokální recidiva nebo vzdálené metastázy u 20 (9,3%) pacientů s původně lokalizovaným ccRCC.

Od 6/2011 jsme studii rozšířili i o analýzu SRAGE. Do této podskupiny bylo zařazeno 132 pacientů s ccRCC (86 mužů a 46 žen, průměrný věk $62,8 \pm 10,9$ let), z toho 104 pacientů mělo lokalizované onemocnění bez relapsu v průběhu onemocnění, 16 mělo onemocnění ve stadiu generalizace a 12 lokalizované onemocnění s pozdější generalizací. Vytvořili jsme novou kontrolní skupinu, kterou tvořilo 100 dobrovolníků bez anamnézy maligního onemocnění (55 mužů a 45 žen, průměrný věk $61,2 \pm 9,5$ let). Tabulka 2 ukazuje charakteristiky kontrol u podskupiny pacientů s ccRCC. Kromě výskytu hypertenze nebyl významný rozdíl v klinických charakteristikách mezi kontrolní skupinou a pacienty s ccRCC.

Pro sledování dynamiky sRAGE po operačním výkonu byli analyzovány vzorky od 59 nemocných s lokalizovaným ccRCC, z toho u 11 nemocných byli zjištěny vzdálené metastázy za 6-12 měsíců (medián 9 měsíců) od operačního výkonu. Doba sledování byla 1-3 roky (medián 2 roky).

Účastníci studie s akutním nebo chronickým zánětlivým onemocněním, systémovým onemocněním, na hemodialýze, hormonální substituční terapii, dalším maligním onemocněním nebo s akutní kardiovaskulární příhodou 6 měsíců před chirurgickým výkonem nebo v průběhu sledování byli ze studie vyloučeni.

Staging onemocnění byl proveden v souladu se TNM klasifikací z roku 2009. WHO klasifikace z roku 2004, resp. její modifikace z roku 2015 a klasifikace podle Fuhrmanové byla použita ke zhodnocení histologického typu a nukleárního gradu. Žádný z pacientů nebyl léčen imunoterapií nebo cílenou biologickou terapií. Metastatické šíření ccRCC bylo diagnostikováno na základě klinického vyšetření a radiologického nálezu.

Studie byla provedena v souladu s Helsinskou deklarácí a schválena etickou komisí FN Motol. Před vstupem do studie podepsal každý účastník informovaný souhlas.

Tabulka 2. Klinické charakteristiky a výsledky laboratorních analýz v podskupině pacientů s ccRCC a v kontrolní skupině

	ccRCC	Kontrolní skupina	p value
Počet pacientů (muži/ženy)	132 (86/46)	100 (55/45)	0.12
Věk (roky)	62.8±10.9	61.2±9.5	0.24
BMI (kg/m ²)	28.1±4.9	28.1±4,4	0.92
Hypertenze	98 (74.2%)	42 (42%)	<0.001
Obezita	40 (30.3%)	32 (32%)	0.78
Kouření	58 (43.9%)	45 (45%)	0.87
Výskyt malignity v rodině	55 (41.7%)	41 (41%)	0.92
Diabetes mellitus	24 (18.2%)	14 (14%)	0.4
SRAGE pg/ml	1120.8±675.6	992.6±370.6	0.09
Kreatinin (umol/l)	84.6±38.3	72.6±18.3	0.02
CRP (mg/l)	13.7±29.2	2.5±3.7	<0.001
Albumin (g/l)	44.4±3.2	44.3±2.5	0.88
Trombocyty x 10 ⁹ /l	249.9±75.6	237.1±51.9	0.24

Data jsou vyjádřena jako průměr ± SD (směrodajná odchylka)

BMI = body mass index, CRP = C reaktivní protein, sRAGE = solubilní receptor pro produkty koněčné glykace

4.2. Laboratorní analýzy

4.2.1. Vzorky

Krev byla odebrána po nočním lačnění punkcí loketní žíly, současně s odběrem krve při rutinním vyšetření. Pro analýzu DNA byla krev odebrána před operačním výkonem do

zkumavek s EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina). Zkumavky byly skladovány při teplotě 4 ° C a izolace DNA byla provedena do 1 týdne po odběru a uchována ve zmrazeném stavu při teplotě -80°C. Genomová DNA byla extrahována z EDTA antikoagulované krve AutoGen FLEX STAR v souladu s pokyny výrobce.

Pro speciální biochemickou analýzu jsme krev odebíraly do zkumavky bez antikoagulační látky, centrifugovali po dobu 10 minut při 1.450g a ihned rozdělili do zkumavek. Sérum bylo zmrazeno a skladováno při teplotě -80 ° C až do analýzy. Všechna séra byla analyzována do tří let. Krev k biochemickým analýzám jsme odebírali před operací, a potom 3 týdny, 3 měsíce, 6 měsíců po operaci a při relapsu onemocnění. Krevní obraz a rutinní biochemické parametre byly stanovené ihned po odběru.

4.2.2. Genetická analýza

RAGE polymorfismy

Gen kódující RAGE (AGER) je lokalizován na chromozómu 6p21.3 a zahrnuje 11 exonů (velikosti 3,27 kb). Čtyři single nukleotidové polymorfismy (SNP) z RAGE genu -429T/C (Rs1800625), -374T/A (rs1800624), Gly82Ser (557G/A, rs2070600) a 2184A/G (rs13209119) byly stanoveny z DNA extrahované ze vzorku periferní krve. Pro amplifikaci oblasti obsahující -374T/A a -429T/C polymorfismy, byly použity následující primery: přímý primer 5'GGG GCA GTT CTC TCC TCA CT3' a reverzní primer 5'GGT TCA GGC CAG ACT GTT GT3'. Polymerázová řetězová reakce (PCR) byla prováděna z objemu 25 ul obsahující 100 ng genomové DNA a 12,5 pmol každého primeru. Nasedací teplota byla 59,5 ° C a závěrečná elongace probíhala při teplotě 72° po dobu 7 minut. Restrikční analýza byla provedena se všemi produkty PCR s použitím 3 jednotek restrikčních nukleáz, AluI pro -429T/C a MfeI pro polymorfismy -374T/A, přes noc při 37°C. Restrikční produkty byly přímo separovány elektroforézou na 3% agarózovém gelu a vizualizovány UV světlem po nabarvení ethidium bromid. Štěpení MfeI odhalilo fragmenty 215 bp a 35

pro divoký typ alely -374T a 250 bp pro mutované alely -374A. Po štěpení AluI byly detekovány fragmenty 250 bp pro -429T alely (divoký typ) a 88 + 162 bp pro alelu -429C.

Gly82Ser (557G/A) polymorfismus v exonu 3 genu RAGE byl amplifikován pomocí PCR s použitím primerů 5'GTA AGC GGG GCT CCT GTT GCA'3 a 5'GGC CAA GGC TGG GMT TGA AGG 3'. Po štěpení PCR fragmentu (397 bp) s AluI jsme získali fragmenty o velikosti 149 a 248 bp pro GG homozygoty, a fragmenty o velikosti 149, 181 a 67 bp pro AA homozygoty. Naše výsledky byly potvrzeny sekvenační analýzou.

2184A/G polymorfismus je lokalizován v intronu 8 RAGE genu. Byl amplifikován pomocí PCR s použitím primerů 5'-TAA TTT CCT GCC CCA TTC TG3' and Primer-R: 5'CAT CGC AAT CTA TGC CTC CT3'. Po štěpení PCR fragmentu BsmF1 jsme získali fragmenty o velikosti 160 a 236 bp pro mutované alely 2184G a fragment o velikosti 396 bp pro divokou alelu. Naše výsledky byly potvrzeny sekvenační analýzou.

Glyoxaláza I polymorfismus

Oblast o velikosti 203 bp s Glu111Ala polymorfismem byla amplifikována pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) s primery: přímý primer 5'GCA GGG GTT AGG CCA ATT AT3' a reverzní primer 5'CAG GCA AAC CCG AAT TTA CC3'. PCR probíhala s počáteční denaturací při 92 ° C po dobu 5 minut, následovalo 30 cyklů při teplotě 94 ° C po dobu 30 s, 60 ° C po dobu 30 s a 72 ° C po dobu 1 minuty, a dále 68 ° C po dobu 5 min. Primery byly navrženy pomocí webové aplikace Primer 3 Input (<http://frodo.wi.mit.edu/>). Restrikční analýza byla provedena s restrikční endonukleázou BsmAI přes noc při teplotě 37 °C. Velikost fragmentů byla hodnocena pomocí NebCutter V2.0 (<http://tools.neb.com/NEBcutter2>) následujícím způsobem: 143 a 60 bp pro alelu divokého typu 419A a 203 bp pro mutovanou alelu 419C. Následně byly produkty odděleny elektroforézou na 3% agarosovém gelu a vizualizovány UV světlem po obarvení ethidium bromidem.

4.2.3. sRAGE

sRAGE bylo měřeno pomocí metody ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Standardní kit (Quantikine, RD Systems, Minneapolis, MN) byl použit podle protokolu výrobce. V tomto testu je destička potažená monoklonální protilátkou proti RAGE a polyklonální protilátka je použita pro detekci. Průměrná minimální detekční hodnota sRAGE je 4,12 pg/ml. Výsledky jsou uvedeny v pikogramů na mililitr.

4.3. Statistická analýza

Data jsou uvedena jako průměr \pm SD (standardní odchylka) pro spojité proměnné a v procentuálním vyjádření pro kategoriální proměnné. Korelační analýzy byly vykonány s využitím parametrického Pearsonovho testu. Pro spojité proměnné byly rozdíly mezi dvěma skupinami hodnoceny pomocí nepárového oboustranného Mannovho-Whitneyovho U testu nebo jednofaktorového ANOVA testu. Pro analýzu spojitých proměnných v čase byla použita ANOVA s opakovaným měřeními. χ^2 test byl použit k porovnání proporcí, kategoriálních proměnných a pro testování Hardyho-Weinbergové rovnováhy. Byly vypočteny poměry šancí (OR) a 95% intervaly spolehlivosti (CI). Jako reference byly použity alely divokého typu a genotypy. Také byla provedena Bonferonniho korekce p hodnot. Všechny výsledky byly považovány za významné při $p < 0,05$. Statistické analýzy byli vykonané s použitím statistického softvérového programu MedCalc (verze 13, Ostend, Belgie). Síla studie byla vypočtená pomocí G power softvéru (Faul F. et al. 2007).

5. VÝSLEDKY

5.1. Genetická analýza

Frekvence výskytu alel jsou uvedené v Tabulce 3. Frekvence genotypů polymorfizmu *GLO 1 /A419C/*, *RAGE – 374 T/A*, *G82S (557G/A)*, *2184A/G* u pacientů s ccRCC koresponduje s očekávanými frekvencemi podle Hardyho-Weinbergova equilibria. Avšak genetický polymorfismus *RAGE – 429 T/C* nebyl v shodě s Hardyho-Weinbergovým equilibriem ($p = 0,009$). Zjistili jsme statisticky významný rozdíl ve frekvenci výskytu alel a genotypů polymorfizmu genu *GLO 1 A419C* SNP mezi nemocnými a kontrolní skupinou, vyšší frekvence mutované alely C byla detekována u pacientů – 58,6% vs. 44,5% v kontrolní skupině, OR (95% CI) 1,77 (1,32-2,38), $p = 0,0002$ (korigované $p = 0,001$), OR (95% CI) CC vs. AA 2,76 (1,5-4,80), $p = 0,0004$ (korigované $p = 0,002$), AC+CC vs. AA 2,03 (1,23-3,30), $p = 0,0034$ (korigované $p = 0,017$). Síla testu byla 87%. Riziko karcinomu ledviny ve vztahu ke všem studovaným polymorfismům je znázorněn v Tabulce 3. Vysoká agresivita nádoru (grade 4) byla spojena s přítomností C alely *RAGE –429T/C* SNP ($p = 0,001$, korigované $p = 0,005$) a G alely *RAGE 2184A/G* SNP ($p < 0,001$, korigované $p < 0,005$) a pro genotypy *RAGE -429CC* SNP ($p = 0,008$, korigované $p = 0,04$) a *RAGE 21484GG* SNP ($p = 0,005$, korigované $p = 0,025$). Nejistili jsme žádné rozdíly ve frekvenci alel a genotypů u ccRCC pacientů rozdělených podle stadia onemocnění a relapsu onemocnění. Ve skupině pacientů s ccRCC jsme ne zjistili žádnou korelaci mezi polymorfismy a klinickými údaji např. diabetes, BMI, hypertenze, obezita. Neprokázali jsme také žádný vztah mezi polymorfismem *GLO 1* a *RAGE* a hladinou s*RAGE* ($p > 0,05$).

Tabulka 3. Frekvence alel a genotypů u polymorfizmu GLO I and RAGE u pacientů s ccRCC a kontrolní skupiny

		Case N= 214		Controls N= 154		p original (corrected) (1)	OR	95% CI	p original (corrected) (2)
		N	%	N	%				
GLO1 E111A (419A/C) (%)	A	177	41.4	171	55.5		1		
	C	251	58.6	137	44.5	0.0001 (0.0005)	1.77	1.32 – 2.38	0.0002 (0.001)
	AA	43	20.1	52	33.8		1		
	AC	91	42.5	67	43.5	0.0762	1.64	0.98 – 2.74	0.057
	CC	80	37.4	35	22.7	0.0006 (0.003)	2.76	1.50 – 4.80	0.0004 (0.002)
	AC+CC	171	79.9	102	66.2	0.0046 (0.023)	2.03	1.26 – 3.30	0.0034 (0.017)
RAGE – 429 T/C (%)	T	341	79.6	257	83.5		1		
	C	87	20.4	51	16.6	0.23	1.29	0.88 – 1.88	0.20
	TT	142	66.4	109	70.8		1		
	TC	57	26.6	39	25.3	0.73	1.12	0.69 – 1.80	0.64
	CC	15	7.0	6	3.9	0.27	1.92	0.72 – 5.11	0.19
	TC+CC	72	35.6	45	29.2	0.43	1.22	0.78 – 1.92	0.37
RAGE – 374 T/A (%)	T	285	64.3	198	66.6		1		
	A	143	35.7	110	33.5	0.57	0.90	0.66 – 1.23	0.52

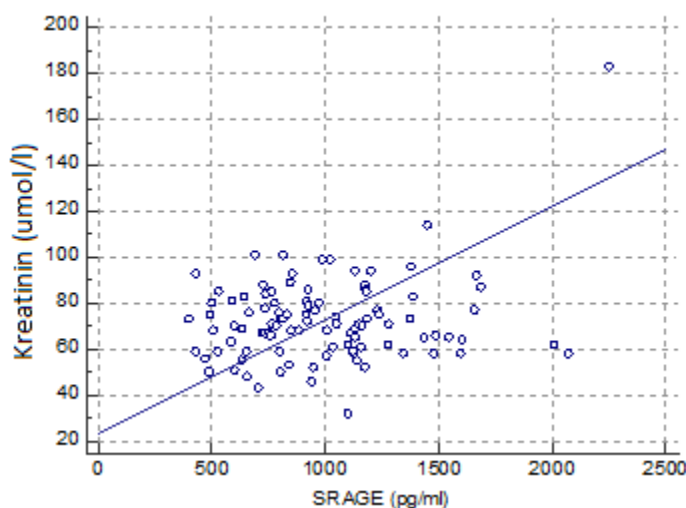
	TT	94	44.8	69	43.5		1		
	TA	97	39.0	60	44.9	0.52	1.18	0.76 – 1.86	0.45
	AA	23	16.2	25	11.6	0.30	0.67	0.35 – 1.13	0.23
	TA+AA	120	55.2	85	44.9	0.95	1.04	0.68 – 1.57	0.87
RAGE G82S (557G/A) %	G	413	96.5	297	96.4		1		
	A	15	3.5	11	3.6	0.87	0.98	0.44 – 2.17	0.96
	GG	200	93.5	144	93.5		1		
	GA	13	6.1	9	5.8	0.89	1.04	0.43 – 2.50	0.93
	AA	1	0.4	1	0.7	0.62	0.72	0.05 – 11.6	0.82
	GA+AA	14	6.5	10	6.5	0.85	1.00	0.44 – 2.33	0.99
RAGE 2184A/G (%)	A	351	82.0	259	84.1		1		
	G	77	18.0	49	15.9	0.52	1.16	0.78 – 1.72	0.46
	AA	146	68.2	110	71.4		1		
	AG	59	27.6	39	25.3	0.67	1.14	0.71 – 0.83	0.58
	GG	9	4.2	5	3.3	0.79	1.36	0.44 – 4.10	0.59
	AG+GG	68	31.8	44	28.6	0.59	1.16	0.74 – 1.83	0.51

p (1) – hladina významnosti mezi počtem frekvencí alel a genotypů ve skupině nemocných a kontrolní skupinou.

p (2) – hladina významnosti v rozdílu OR. Alely a genotypy divokého typu byly použity jako referenční hodnota. Zkratky: GLO1 - glyoxaláza I, RAGE – receptor pro produkty pokročilé glykace), OR – odds ratio, 95% CI – interval spolehlivosti, N - počet

5.2 sRAGE

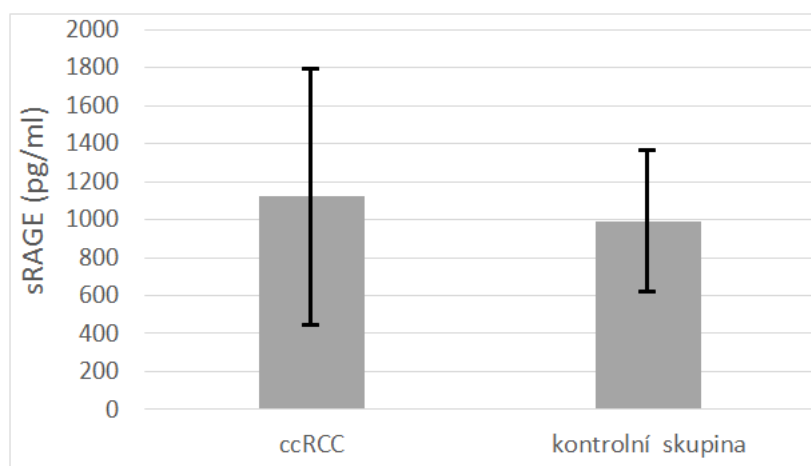
Hodnoty sRAGE, CRP, kreatininu, korigovaného kalcia, albuminu, hemoglobinu, trombocytů u pacientů s ccRCC a kontrolní skupiny jsou uvedené v Tabulce 2. U pacientů s ccRCC i u kontrolní skupiny jsme zjistili silnou pozitivní korelaci mezi sRAGE a kreatininem ($r = 0,412$, $p < 0,0001$, resp. $r = 0,238$, $p < 0,0001$) (obr. 3). Ve skupině pacientů jsme prokázali negativní korelaci sRAGE s albuminem ($r = -0,310$, $p = 0,0003$) a hemoglobinem ($r = -0,186$, $p = 0,032$) a pozitivní korelaci s korigovanou hodnotou kalcia ($r = 0,257$, $p = 0,003$) u pacientů. Hodnota sRAGE nekorelovala s hodnotami zánětlivých markerů C-reaktivním proteinem a leukocyty. U obou skupin jsme nezjistili žádnou souvislost sRAGE s věkem, body mass indexem a dalšími klinickými charakteristikami (hypertenze, diabetes, kouření).



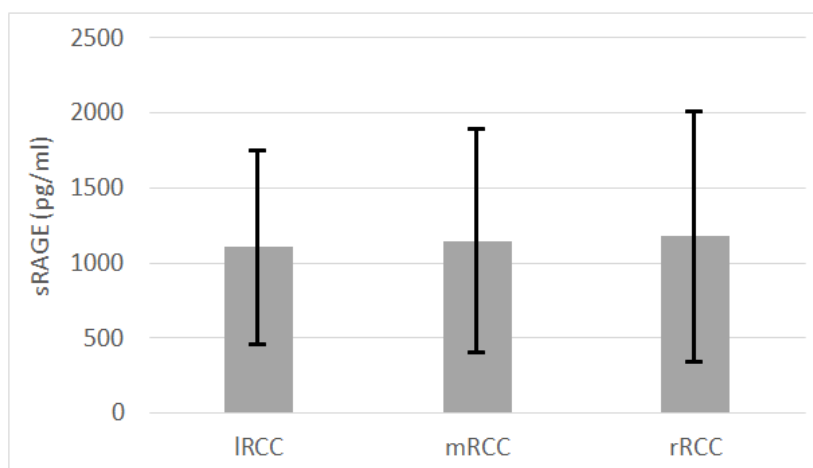
Obr. 3 Korelace mezi sRAGE a kreatininem u pacientů se světlobuněčným karcinomem ledviny. $r = 0,412$, $p < 0,0001$.

5.2.1 sRAGE a riziko světlobuněčného karcinomu

Hodnota sRAGE byla u pacientů s ccRCC ($1120,8 \pm 675,6$ pg/ml) vyšší v porovnání s kontrolní skupinou ($992,6 \pm 370,6$ pg/ml). Tento rozdíl nebyl významný ($p = 0,09$) (Obr. 4). Při porovnání předoperačních hodnot sRAGE mezi nemocnými s lokalizovaným ccRCC bez relapsu ($1107,6 \pm 645,1$ pg/ml), s metastatickým RCC ($1147,9 \pm 746,8$ pg/ml) a lokalizovaným ccRCC s relapsem ($1189,4 \pm 878,3$ pg/ml) jsme nezjistili signifikantní rozdíl ($p = 0,914$). (Obr. 5)

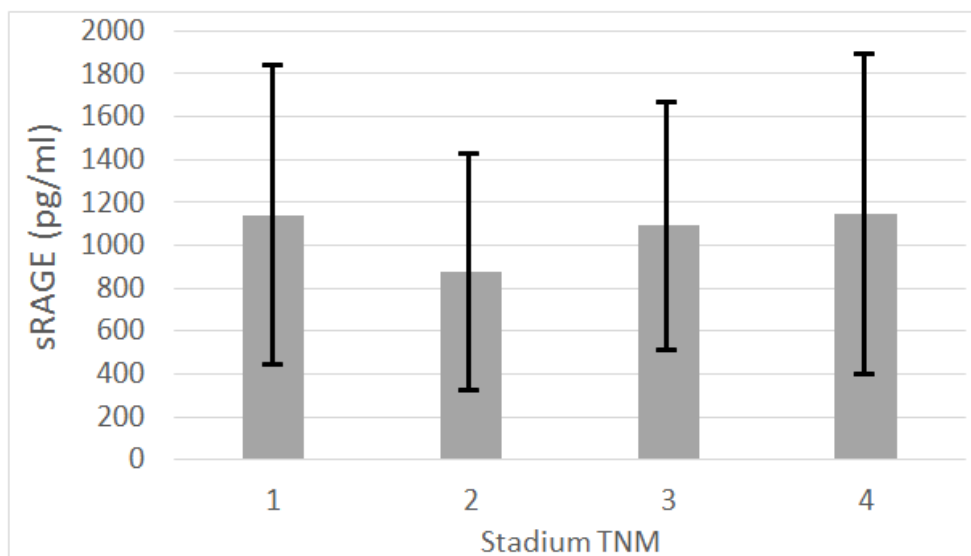


Obr. 4 sRAGE v podskupině pacientů s ccRCC a v kontrolní skupině. Data jsou znázorněna jako průměr \pm standardní odchylka.



Obr. 5 sRAGE u pacientů s lokalizovaným ccRCC bez relapsu (IRCC), s metastatickým RCC (mRCC) a lokalizovaným ccRCC s relapsem (rRCC). Data jsou znázorněna jako průměr \pm standardní odchylka.

Hladina sRAGE byla nezávislá také od stadia onemocnění ($p = 0,820$) (Obr. 6), nukleárního gradu ($p = 0,723$) (Tab. 4, Obr. 7).

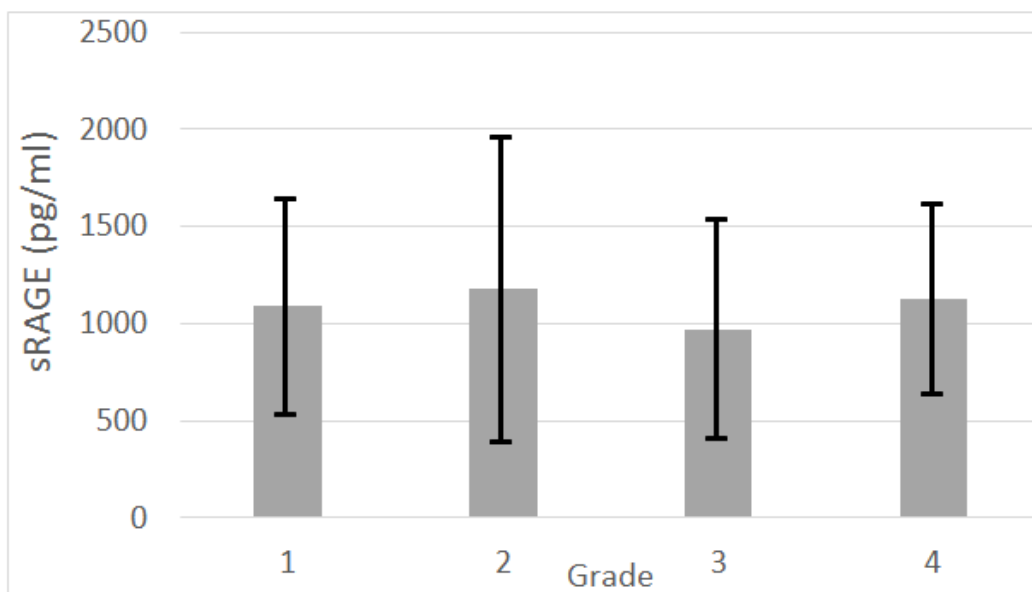


Obr. 6 sRAGE u pacientů podle stadií klasifikace TNM. Data jsou znázorněna jako průměr ± standardní odchylka.

Tabulka 4. Hodnoty sRAGE u jednotlivých stadií ccRCC a patologického gradu a u pacientů s generalizací původně lokalizovaného onemocnění.

ccRCC	Počet pacientů (%)	sRAGE (Průměr±SD)
Stadium I	89 (67.4 %)	1139.8±697.9
Stadium II	6 (4.6 %)	874.3±553.8
Stadium III	21 (15.9 %)	1089.8±574.9
Stadium IV	16 (12.1 %)	1147.9±746.8
Grade G1	40 (30.3 %)	1090.7±554.3
Grade G2	66 (50 %)	1176.0±786
Grade G3	17 (12.9 %)	972±565.4
Grade G4	9 (6.8 %)	1130±490.7
Relaps ccRCC	12 (9.1 %)	1189.4±878.3

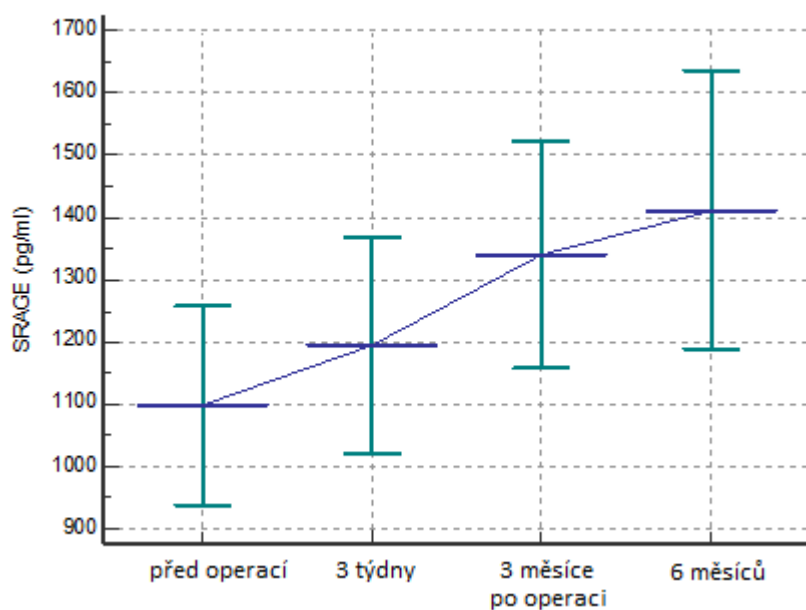
Data jsou znázorněna jako průměr ± standardní odchylka (SD).



Obr. 7 sRAGE u pacientů podle Fuhrmanové gradu. Data jsou znázorněny jako průměr ± standardní odchylka.

5.2.2. Dynamika sRAGE

Předoperačně, jsme v podskupině 59 pacientů také nezjistili rozdíl ($p = 0,891$) v hodnotách sRAGE mezi pacienty s lokalizovaným ccRCC bez relapsu ($1098,4 \pm 79,8$ pg/ml) a s relapsem ($1119,7 \pm 239,4$). Tři týdny po operačním výkonu jsme prokázali nárůst hladiny sRAGE v obou skupinách, významný byl pouze ve skupině s lokalizovaným ccRCC bez relapsu ($p < 0,0001$). Tento nárůst nejspíše odpovídá pooperačnímu zvýšení hladiny sérového kreatininu ($p = 0,0001$). Hodnoty kreatininu a sRAGE před výkonem a v jednotlivých časových odstupech po výkonu jsou uvedené v Tabulce 5. V dalším sledování již hladina kreatininu zůstala v obou skupinách stabilní. Avšak ve skupině s lokalizovaným ccRCC bez relapsu došlo tři a šest měsíců po operaci k elevaci sRAGE ($1340,5 \pm 90,9$ pg/ml resp. $1411,7 \pm 111,1$ pg/ml). Hodnoty sRAGE byly v 3. a 6. měsících signifikantně vyšší v porovnání s předoperačním obdobím s hodnotou sRAGE 3 týdny po operaci ($p < 0,015$) (Obr. 8). Mezi hodnotami sRAGE ve 3. a 6. měsíci jsme již neprokázali signifikantní rozdíl ($p = 0,692$). U pacientů s relapsem onemocnění se hodnota sRAGE po 3 týdnech dále nezvyšovala a zůstala i v době relapsu stabilní (Tabulka 5, Obr. 9).

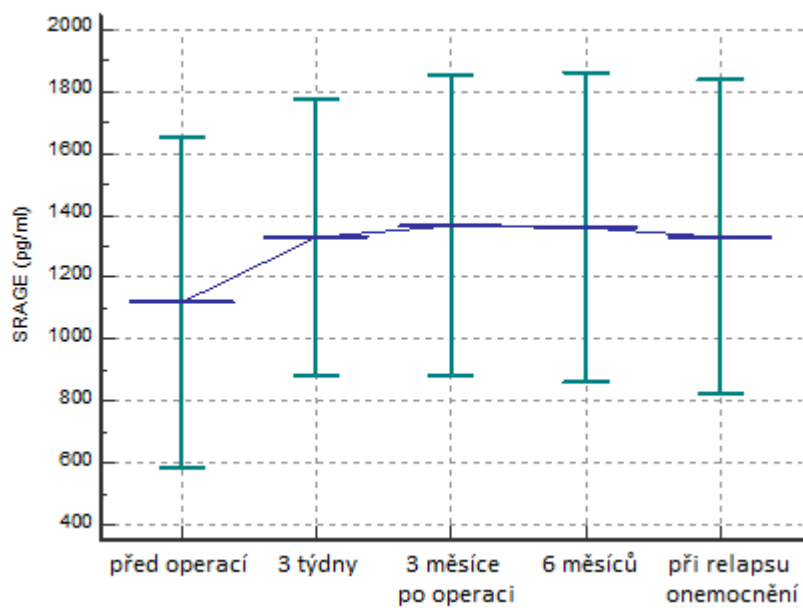


Obr. 8 Dynamika hladin sRAGE u pacientů s lokalizovaným ccRCC bez relapsu onemocnění

Tabulka 5. Dynamika hladiny sRAGE a kreatininu u pacientů s lokalizovaným karcinomem bez relapsu a s relapsem.

Doba odběru		Lokalizovaný RCC bez relapsu		Lokalizovaný RCC s relapsem	
		sRAGE pg/ml	Kreatinin umol/l	sRAGE pg/ml	Kreatinin umol/l
		Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD	Průměr ± SD
Před operací		1098,4 ± 79,8	75,5 ± 26,1	1119,7 ± 239,4	106,5 ± 40,8
Po operaci	3 týdny	1195,3 ± 86,4	109,7 ± 39,6	1328,2 ± 200,1	124,8 ± 48,7
	3 měsíce	1340,5 ± 90,9	108,5 ± 36,8	1366,4 ± 217,0	127,4 ± 58,1
	6 měsíců	1411,7 ± 111,1	107,3 ± 36,2	1359,5 ± 224,1	121,6 ± 42,7
Při relapsu onemocnění		x	x	1329,7 ± 227,1	118,9 ± 39,7

Hodnoty jsou prezentovány jako průměr ± SD



Obr. 9 Dynamika hladin sRAGE u pacientů s lokalizovaným ccRCC s relapsem onemocnění

6. DISKUSE

V této studii jsme jako první demonstrovali význam genetických polymorfizmů genů RAGE a GLO I a předoperační hodnoty sRAGE ve vztahu k riziku ccRCC a význam dynamiky sRAGE ve sledování nemocných po radikální nefrektomii nebo resekci nádoru ledviny u lokalizovaného ccRCC. Zjistili jsme, že polymorfismus GLO I A419C je spojený s rizikem vzniku ccRCC a dva polymorfizmy genu RAGE SNPs (429 T/C and 2184 A/G) mají vztah k agresivitě nádoru. Hladina sRAGE před operačním výkonem nebyla spojená s rizikem karcinomu ledviny, avšak ve skupině pacientů s generalizací původně lokalizovaného onemocnění nedošlo k elevaci sRAGE, jak to bylo zřetelné ve skupině bez recidivy onemocnění.

Typickou známkou nádorových buněk je upregulace glykolýzy. Metylglyoxal, metabolit glykolýzy je vysoce cytotoxický a je prekurzorem AGEs. AGEs může poškozovat buňky nepřímo interakcí s RAGE. Interakce RAGE ligand pravděpodobně potencuje růst, invazivitu a tvorbu metastáz. Přímé změny jsou způsobené narušením struktury a funkce proteinů. Některé AGEs mohou způsobit i změny DNA a tak indukovat formaci charakteristických nukleotidových aduktů, které jsou spojené s karcinogenezí a mutagenezí. Metabolizováním metyglyoxalu, glyoxylasa I chrání nádorové buňky před jeho toxickými účinky a také před toxicitou AGEs (Kalousová M. et al., 2005; Thornalley P.J. et al., 2011).

Několik studií prokázalo vyšší aktivitu a expresi GLO I v různých nádorových tkáních (Wang Y. et al., 2012; Fonseca-Sánchez et al., 2012; Cheng W.L. et al., 2012; Bair W.B. et al., 2010; Antognelli C. et al., 2006). GLO I byl také nejvíce amplifikovaný gen u nádorových buněčných linií (Santarius T. et al., 2010). Vyšší exprese GLO I je asociovaná s mnohočetnou lékovou rezistencí (Thornalley P.J. et al., 2011). Antognelli et al. zjistili signifikantně vyšší úroveň transkripce GLO I v ccRCC v porovnání se zdravou tkání

ledviny (Antognelli C. et al., 2006). Aktivita GLO I byla přibližně 2,5 násobně vyšší v patologických vzorcích v porovnání s kontrolou. Navíc, GLO I byla spojena s metastatickým potenciálem SN12C lidských RCC klonů (Tanaka T. et al., 2013).

Aktivita GLO I je ovlivněná polymorfizmy genu GLO I. Barua et al. prokázali, že přítomnost alely A je spojená se sníženou aktivitou enzymu GLO I (Barua M. et al., 2011). V naší studii jsme odhalili vyšší zastoupení mutované alely C a genotypu CC v porovnání s kontrolní skupinou. Tento výsledek je v souladu se zjištěním, že mutovaná alela C je spojená s vyšší aktivitou GLO I, která je typická pro malignitu. Vyšší frekvence mutované alely C byla detekována také u pacientek s karcinomem prsu a negativními estrogenovými receptory nebo v klinickém stadiu III v porovnání s kontrolní skupinou (Germanová A. et al., 2009). Genotyp CC je rizikový faktor i pro nemaligní onemocnění. Je spojen s vyšší prevalencí kardiovaskulárních onemocnění a periferních vaskulárních onemocnění u chronicky dialyzovaných pacientů (Kalousová M. et al., 2008) a také zvyšuje riziko vzniku roztroušené sklerózy (Sidoti A. et al., 2007). Na druhé straně přítomnost A alely korespondovala s mírným rizikem karcinomu prostaty a výrazným rizikem progresu karcinomu a kratší dobou přežití (Antognelli C. et al., 2013). Krechler et al. nezjistili žádný rozdíl mezi výskytem alel a genotypů mezi kontrolní skupinou a nemocnými s karcinomem pankreatu (Krechler T. et al., 2010).

RAGE patří mezi klíčové faktory v akceleraci progresu nádoru a metastatického šíření u různých typů karcinomů, včetně ccRCC. DiNorcia et al. prokázali, že delece genu RAGE inhibuje karcinogenezi a progresi karcinomu pankreatu (DiNorcia J. et al., 2012).

Miki et al. ukázali, že RAGE po interakci s RAGE ligandem AGE-BSA (bovine serum albumin) indukuje in vitro růst buněk RCC a podporuje produkci interleukinu 6 (IL-6), který je v in vitro podmínkách růstovým faktorem (Miki S. et al., 1993). Jiná studie prokázala vyšší ko-expresi HMBG1 v nádorové tkáni ccRCC. Interakce HMBG1/RAGE iniciuje intracelulární signální dráhu a přes aktivaci ERKs (extracellular signal-regulated

kinases) zvýší genovou expresi, syntézu proteinů, růst, migraci a invazivitu RCC (Lin L. et al., 2012). Navíc bylo zjištěno že upregulace ENRAGE, jednoho s primárních ligandů RAGE, může vést k lokální a autokrinní stimulaci RAGE a tak podporovat progresi karcinomu. Vyšší úroveň exprese ENRAGE byla detekována u pacientů s RCC s divokou alelou VHL genu a u pacientů s nepříznivou prognózou (Eckel-Passow J.E. et al., 2014).

Několik genetických variant genu RAGE může ovlivňovat expresi a funkci RAGE a tak mít vliv na vznik onemocnění (Gaens K.H. et al., 2009). Jedním z nejčastěji studovaných je G82S polymorfismus. Je to kodon 82 v exonu 3 RAGE genu a vede ke změně z glycinu na serin v oblasti domény proteinu, kde se předpokládá navázání ligandu. Předpokládá se, že se jedná o funkční polymorfismus a je spojen s možností ovlivnění signalizace RAGE (Hofmann M.A. et al., 2002). RAGE G82S polymorfismus ovlivňuje doménu N-glykosylační oblasti, ke které se váže AGE. G82S varianta zvyšuje afinitu pro AGE ligandy (Osawa M. et al., 2007). Navíc výsledky funkčních studií naznačují, že tato varianta může ovlivnit i aktivitu proteáz, které odštěpují RAGE a varianta 82Ser je spojená se snížením proteolýzy (Gaens K.H. et al., 2009). Toto zjištění může vysvětlovat, proč nositelé této alely mají nižší koncentraci cirkulujícího sRAGE. Meta-analýza 15 studií také potvrdila, že genetická varianta 82Ser je spojená se změnou koncentrace cirkulujícího sRAGE, což má za následek změněnou náchylnost ke vzniku maligního onemocnění (Huang Q et al., 2016). Tyto výsledky potvrzují i nedávné studie, které odhalili asociaci G82S polymorfismu s různými onemocněními, včetně onemocnění koronárních artérií (Gao J. et al., 2010), kožních komplikací u diabetu II. typu (Kaňková K. et al., 2001), diabetické retinopatie a nefropatie (Kaňková K. et al. 1999, 2005 a 2007). Předcházející studie demonstrovali asociaci mezi zvýšeným rizikem karcinomu žaludku v čínské populaci a polymorfismem G82S (Gu H. et al., 2008). V jiné studii, genotyp S82S a distribuce alely 82S byla spojena nejen se zvýšením rizika nemalobuněčného karcinomu plic, ale také spojena s nepříznivou prognózou a nízkou odpovědí na chemoterapii (Wang X. et al., 2012). Další studie odhalily, že 82SS frekvence je asociovaná s vyšším rizikem karcinomu děložního

čípku a epiteliálním ovariálním karcinomem v čínské populaci (Xu Q. et al., 2012; Zhang S. et al., 2013). V naší studii jsme nenašli spojení mezi polymorfismem *RAGE* G82S a rizikem ccRCC. Toto může být vysvětleno nižší frekvencí S alely a genotypu SS v naší populaci v porovnání s čínskou skupinou: 3.5% vs. 46.19% a 0.7% vs. 23.33% (Zhang S. et al., 2013). Nižší frekvence S alely a genotypu SS v naší studii pravděpodobně také vysvětluje, proč jsme nezjistili spojitost mezi variantou 82Ser a hladinou sRAGE.

RAGE -374 T/A polymorfismus je lokalizován v oblasti promotoru a má efekt na transkripční aktivitu. Meta-analýza prokázala, že alela -374A může být protektivním faktorem vaskulárních komplikací u diabetes mellitus 2. typu (Lu W. et al., 2010). Falcone et al. zjistili vyšší prevalenci genotypu AA u dlouhověkých mužů (≥ 90 let), ale ne žen (Falcone C. et al., 2013). Mechanismus potencionálně protektivního efektu AA genotypu polymorfizmu -374T/A zůstává nejasný. Falcone et al. se domnívají, že konverze T na A vede k potlačení exprese a funkce receptoru *RAGE* (Falcone C. et al., 2008). Na druhou stranu TT genotyp představuje signifikantně nižší riziko nemalobuněčného karcinomu plic (Wang X. et al., 2012), pravděpodobně z důvodu vlivu na snížení regulace *RAGE*, která je považována za kritický krok v karcinogenezi plicního nádoru (Bartling B. et al., 2005; Marinakis E. et al., 2014).

Další polymorfismus *RAGE* -429T/C je lokalizován proximálně k -374T/A polymorfismu a ovlivňuje transkripci *RAGE* (Hudson B.I. et al., 2001). Zvýšená exprese C alely u -429T/C *RAGE* je spojena s vyšším rizikem inzulínové rezistence (Sullivan C.M. et al., 2005), infarktem myokardu (Zee R.Y. et al., 2006) a prevalence retinopatie u diabetiků 2. typu (Hudson B.I. et al., 2001). V naší studii jsme nezjistili žádný rozdíl mezi alelickými a genotypovými frekvencemi u polymorfismu *RAGE* genu 429 T/C, -374 T/A a 2184 A/G mezi nemocnými s ccRCC a kontrolní skupinou. Ke stejnému závěru přišli ve svých pracích také Krechler a Tesařová, kteří také nezjistili spojitost mezi polymorfizmy těchto genů a rizikem vzniku karcinomu pankreatu a prsu (Krechler T. et al., 2010; Tesařová P. et al., 2007). Avšak v naší práci jsme zjistili, že frekvence C alely byla signifikantně vyšší

ve skupině pacientů ccRCC s Fuhrmanové grade 4 v porovnání s kontrolní skupinou (42.3% vs. 16.6%). Stejný rozdíl jsme pozorovali u genotypů TC a CC (53.8% vs. 25.3%, 15.4% vs. 3.9%). Také jsme prokázali asociaci mezi skupinou ccRCC a Fuhrmanové gradem 4 a vyšší frekvencí alely G RAGE 2184A/G polymorfizmu lokalizovaném na introně 8. sRAGE produkován alternativním sestřihem RAGE mRNA zahrnuje oblasti mezi introny 7 a 9, z toho vyplývá oblast polymorfizmu RAGE 2184A/G je hypoteticky lokalizovaná do regulačního vazebního místa a má vliv na produkci sRAGE. V předchozí studii bylo potvrzeno, že 2184 GG genotyp a -429 CC genotyp je spojen s vyššími sérovými hodnotami sRAGE u dialyzovaných pacientů se selháním ledvin (Kalousová M. et al., 2007) a také s vyšší mortalitou hemodialyzovaných pacientů (Kalousová M. et al., 2010). Alela 2184G je rizikový faktor psoriázy (Vašků V. et al., 2002). Polymorfismus RAGE -429T/C, -374T/A a 2184A/G je také spojen ze systémovým lupus erythematosus a lupusovou nefritidou. C alela polymorfizmu -429T/C, T alela -374T/A a G alela 2184A/G byly detekovány v signifikantně vyšší frekvenci u pacientů se systémovým lupusem a lupusovou nefritidou než v kontrolní skupině. Navíc u lupusové nefritidy frekvence C alely RAGE -429T/C, A alely -374T/A a G alely 2184A/G polymorfismů byli signifikantně vyšší a spojeny se závažnější proteinúrií a horšími funkcemi ledvin (Martens M.A. et al., 2012).

sRAGE bylo zkoumáno u celé řady nenádorových onemocnění. Elevace sRAGE byla prokázána u pacientů s diabetes mellitus 1. a 2. typu. Vyšší hodnoty sRAGE také byli spojeny s fatálními i nefatálními kardiovaskulárními údalostmi u pacientů s diabetes 1. typu (Nin J.W. et al., 2010) a také u pacientů s diabetem 2. typu byla hodnota sRAGE vyšší ve skupině pacientů s ischemickou chorobou srdeční (Colhoun H.M. et al., 2002). Tyto výsledky jsou však v rozporu ze závěry jiných studií, ve kterých autoři naopak prokázali nižší hodnotou sRAGE u pacientů s diabetem než v kontrolní skupině (Koyama H. et al., 2005; Krechler T. et al., 2010). Známa je souvislost mezi selháním ledvin a hladinou sRAGE. U hemodialyzovaných pacientů navíc byla hladina sRAGE prediktorem

mortality (Kalousová M. et al., 2010). V souhrnném článku Prasad poukázal na spojitost nižší hodnoty sRAGE s aterosklerózou, hypertenzí, chronickou obstrukční plicní nemocí, ischemickou chorobou srdce, srdečním selháním a hypercholesterolémií (Prasad K, 2014). Naproti tomu Cai et al. ve své práci uvádějí, že hodnoty krevního tlaku nekorelovali s hodnotou sRAGE (Cai W. et al., 2015). Nejednoznačné jsou také výsledky studií týkající se vlivu kouření na hladinu sRAGE. Biswas et al. zjistili, že skupina kuřáků měla významně vyšší hodnotu sRAGE v porovnání s nekuřáky, navíc byla prokázána i silná korelace mezi počtem vykouřených cigaret denně a hladinou sRAGE (Biswas S.K. et al., 2013). Naproti tomu, další práce tyto výsledky nepotvrdili (Yokota C. et al., 2009; Gopal P. et al., 2014). I když většina studií naznačuje souvislost mezi interními komorbiditami a sRAGE, některé studie tuto souvislost nepotvrzují. My jsme v naší práci také neprokázali souvislost mezi sRAGE a hypertenzí, body mass indexem, věkem, diabetem a kouřením.

Poslední meta-analýza z roku 2016 naznačila potencionální kauzální vztah mezi cirkulujícím sRAGE a všemi typy karcinomů a vyslovila domněnku, že cirkulující sRAGE může být prediktivním biomarkerem v diagnostice a progresi onemocnění (Huang Q. et al. 2016). Na druhé straně, některé níže uvedené studie neprokazují jednoznačný význam sRAGE v diagnostice karcinomů. Moy et al. ve své epidemiologické studii, ve které zjišťovali souvislost mezi hladinou sRAGE a AGEs v séru a rizikem hepatocelulárního karcinomu u finských kuřáků, sice prokázali mírnou závislost mezi sRAGE a redukcí rizika hepatocelulárního karcinomu, ale pouze při porovnání kontinuálních hodnot ($p = 0,09$), avšak po rozdělení sRAGE do skupin podle tercilů, již nezjistili rozdíl při porovnání nejvyššího tercilu s nejnižším. Výsledky této studie mohou být ovlivněny tím, že sérová hodnota sRAGE a AGEs byla stanovena nejméně 5 let před vznikem hepatocelulárního karcinomu. I když v této studii vycházeli z jedné skupiny kuřáků, ze které pak vytvořili dvě skupiny – jednu skupinu tvořili kuřáci, u kterých se v průběhu sledování vyvinul hepatocelulární karcinom a druhou skupinu tvořili kuřáci bez

rozvoje maligního onemocnění. Rozdíl mezi skupinami byl minimální ve věku a výskytu diabetu, avšak kardiovaskulární onemocnění, která mohou mít také vliv na sRAGE nebyla zaznamenána (Moy K.A. et al., 2013). Jiao et al. publikovali výsledky stejné epidemiologické studie, ale zaměřené na riziko kolorektálního karcinomu. Po rozdělení hodnot sérového sRAGE na kvintily, zjistili významně nižší riziko vzniku kolorektálního karcinomu ve kvintilu pacientů s nejvyšším sRAGE v porovnání s nejnižším kvintilem. Tento výsledek byl nezávislý od věku, kouření a body mass indexu. Také nebyl rozdíl v lokalizaci karcinomu (Jiao L. et al., 2011). Inverzní asociace mezi rizikem kolorektálního karcinomu a hladinou sRAGE u postmenopauzálních žen byla prokázána v další studii. Avšak pouze v podskupině obézních žen. V práci bylo sRAGE rozdělené na kvartily a rozdíl byl pozorován mezi nejvyšším a nejnižším kvartilem, u neobézních žen tento rozdíl nebyl významný (Chen L. et al., 2016). V další práci Jiao prokázal inverzní asociaci mezi sRAGE a rizikem vzniku kolorektálního adenomu, ale pouze ve skupině s hypertenzí (Jiao L et al., 2012).

Krechler et al. zjistili významně sníženou hodnotu sRAGE u pacientů s karcinomem pankreatu v porovnání se skupinou zdravých dobrovolníků a skupiny diabetiků. U diabetiků nebyli případné kardiovaskulární komorbidity analyzovány (Krechler T. et al., 2010). Další studie potvrzují výsledky předchozí studie a byla zjištěná inverzní souvislost mezi hodnotou sRAGE a rizikem karcinomu pankreatu a prsu (Duan Z. et al., 2014; Tesařová P. et al., 2007). Tesařová et al. navíc prokázali vyšší hodnotu u pacientek s nízkým gradem a pozitivními estrogenovými receptory a paradoxně také ve vyšším stadiu onemocnění. Také u pacientů s pokročilým melanomem bylo nepříznivé celkové přežití při nízké hodnotě sRAGE (Wagner N.B. et al., 2015). V naší práci jsme nepotvrdili sRAGE jako biomarker v detekci karcinomu ledviny. Hodnota sRAGE u pacientů s ccRCC byla mírně vyšší než u kontrolní skupiny, tento rozdíl však nebyl významný. Příčinou je zřejmě vyšší hodnota kreatininu u pacientů s karcinomem ledviny. Výsledky naší práce jsou v souladu s literárními daty, kde nízká hodnota sRAGE není spojená jednoznačně s výskytem karcinomu.

Pouze několik studií analyzovalo souvislost mezi sRAGE a stadiem onemocnění. Krechler et al. nezjistili rozdíl v hodnotách sRAGE mezi jednotlivými stadii onemocnění (Krechler T. et al., 2010), Tesařová et al. prokázali paradoxně vyšší hodnotu sRAGE ve III. stadiu onemocnění (Tesařová P. et al., 2007). V našem souboru také nebyl rozdíl mezi lokalizovaným a generalizovaným onemocněním před operačním výkonem.

Dynamika sRAGE byla analyzována pouze v několika studiích. Simm et al. zjistili, že zvýšená intraoperační hodnota sRAGE může být novým prediktorem výsledku kardiokirurgického výkonu. Dále zjistili více než třínásobnou elevaci sRAGE 10 minut po sternotomii v porovnání s předoperační hladinou. Sérová hodnota sRAGE postupně klesala k předoperačním hodnotám v průběhu dvou dnů po operačním výkonu. Hodnota sRAGE ve skupině s komplikovaným pooperačním průběhem byla vyšší a kinetika, resp. pokles sRAGE byl pomalejší v porovnání se skupinou bez pooperačních komplikací. Předoperační hodnota sRAGE byla v obou skupinách podobná (Simm A. et al., 2013).

V dalších pracích byla zkoumána dynamika sRAGE ve vztahu k účinnosti chemoterapie. Wittwer et al. ve své studii sledovali význam sRAGE u pacientů s pokročilým karcinomem pankreatu. I když nezjistili rozdíl v hodnotách sRAGE před zahájením chemoterapie mezi skupinou pacientů se stabilním onemocněním nebo parciální remisí a skupinou pacientů s progresí onemocnění, tak 42. den po zahájení chemoterapie měla skupina pacientů se stabilním onemocněním nebo parciální odpovědí významně vyšší hodnotu sRAGE v porovnání se skupinou s progresí onemocnění. Tento rozdíl nebyl ještě zřetelný 21. den po zahájení terapie (Wittwer C. et al., 2013). Další práce analyzovala dynamiku sRAGE před a 24 hodin po transarteriální chemoembolizaci karcinomu jater. sRAGE byl potvrzen jako prediktor úspěšnosti chemoembolizace. Hodnota sRAGE byla vyšší ve skupině bez progresí onemocnění v porovnání se skupinou s progresí. Tento rozdíl byl významný před i 24 hodin po terapii. Hodnota sRAGE po chemoembolizaci klesla v obou skupinách pacientů (Kohles N. et al., 2012).

V naší práci jsme potvrdili význam sRAGE ve sledování pacientů s lokalizovaným karcinomem ledviny. Ve skupině pacientů, kteří neměli relaps onemocnění v průběhu sledování, došlo k postupné elevaci sRAGE tři a šest měsíců po výkonu v porovnání s předoperační hodnotou a hodnotou po 3 týdnech. Na druhé straně, ve skupině pacientů s relapsem onemocnění zůstala hodnota sRAGE v séru v průběhu sledování stabilní. Naše výsledky poukazují na potenciální využití dynamiky sRAGE v dispenzarizaci karcinomu ledviny.

7. ZÁVĚR

V naší práci jsme jako první demonstrovali souvislosti mezi E111A (419A/C) GLO1 SNP a rizikem světlobuněčného karcinomu a spojitost mezi polymorfizmem RAGE -429T/C a 2184A/G SNP a agresivitou ccRCC. Souvislost mezi ostatními polymorfismy a rizikem ccRCC jsme v naší studii nepotvrdili. Limitací studie byla relativně krátká dispenzarizace, a proto nebylo možné zhodnotit vztah polymorfizmů k dlouhodobé prognóze onemocnění. V naší práci jsme se zaměřili pouze na genetický podklad genů GLO I, nehodnotili jsme aktivitu enzymu ve vztahu k polymorfizmu. Další studie jsou proto potřebné ke zhodnocení aktivity glyoxalázy I a polymorfizmu GLO I, zejména s ohledem na potencionální terapii.

V naší práci jsme nepotvrdili hypotézu, že hladina sRAGE závisí od polymorfizmu genu RAGE G82S. Předoperační sRAGE se nejvíce jeví jako potenciální diagnostický marker u karcinomu ledviny ani jako prediktor prognózy. Hodnota sRAGE nezávisí od stadia onemocnění, nukleárního gradu u karcinomu ledviny. Avšak jsme prokázali význam sRAGE v dispenzarizaci nemocných s lokalizovaným onemocněním po chirurgickém výkonu. Hodnota po radikálním chirurgickém výkonu se ve skupině pacientů bez relapsu zvyšuje, zatímco při relapsu onemocnění hodnota sRAGE je stabilní. Predikce dalšího průběhu onemocnění je důležitá pro správné načasování kontrolní laboratorních a radiologických vyšetření k restagingu onemocnění. Intervaly restagingu se mohou zredukovat u pacientů s dobrou prognózou nebo nízkým stupněm progresse onemocnění a u pacientů s vysokým rizikem progresse a nepříznivou prognózou může být včas zahájena adjuvantní terapie. sRAGE se jeví jako potencionální biomarker v predikci relapsu lokalizovaného karcinomu ledviny. Jsou potřebné další studie k potvrzení našich výsledků a také k prozkoumání jiných RAGE-ligandů jako potencionálních markerů v diagnostice a sledování karcinomu ledviny.

8. PODĚKOVÁNÍ

Nejdříve, bych rád poděkoval Doc. MUDr. Ivanu Kawaciukovi, CSc., že mně přijal na Urologickou kliniku 2. LF UK a FN Motol, kde jsem pracoval 12 let a získal jsem zde cenné medicínské, vědecké i životní zkušenosti. Děkuju mu také za možnost a podporu v začátcích mého postgraduálního studia, a že byl mým školitelem.

Neméně, bych chtěl poděkovat prof. MUDr. Marekovi Babjukovi, CSc., který se mně ujal po odchodu doc. Kawaciuka. V postgraduálním studiu mne podporoval a zejména vlastním příkladem mi ukazoval jak vědeckou tak i medicínskou cestu.

Paní prof. MUDr. Martě Kalousové, PhD., mé školitelce-konzultantce patří také velké poděkování nejenom za pomoc s realizací laboratorních prací, ale také za velkou podporu, trpělivost a ochotu pomáhat při studiu, psaní publikací a budování biologické baňky.

Dále bych chtěl poděkovat také svým nyní již bývalým kolegům, zejména as. MUDr. Štěpánovi Veselému za pomoc a podporu při vybudování biologické baňky a při vědecké práci, MUDr. Marcele Čechové za pomoc a cenné rady při psaní publikací a všem ostatním, kteří mi byli při vědecké práci nápomocní.

Manželce, dětem, rodičům a sestře také velmi děkuji za podporu při vědecké činnosti a psaní práce.

9. LITERATURA

Alexiou P, Chatzopoulou M, Pegklidou K, Demopoulos VJ. RAGE: A MultiLigand Receptor Unveiling Novel Insights in Health and Disease. *Curr Med Chem* 2010;21: 2232-52.

Antognelli C, Mezzasoma L, Mearini E, Talesa VN. Glyoxalase 1-419C>A Variant Is Associated with Oxidative Stress: Implications in Prostate Cancer Progression. *PLOS ONE* 2013;8(9):e74014.

Antognelli C, Baldracchini F, Talesa VN, Constantini E, Zucchi A Mearini E. Overexpression of glyoxalase system enzymes in human kidney tumor. *Cancer J* 2006;12:222-228.

Araki N, Higashi T, Mori T, Shibayama R, Kawabe Y, Kodama T, Takahashi K, Shichiri M, Horiuchi S. Macrophage scavenger receptor mediates the endocytic uptake and degradation of advanced glycation end products of the Maillard reaction. *Eur J Biochem.* 1995 Jun 1;230(2):408-15.

Ather MH, Masood N, Siddiqui. Current management of advanced and metastatic renal cell carcinoma. *Urol J* 2010;7:1-9

Bair WB 3rd, Cabello CM, Uchida K, Bause AS, Wondrak GT. GLO1 overexpression in human malignant melanoma. *Melanoma Res.* 2010 Apr;20(2):85-96

Bartling B, Hofmann HS, Weigle B, Silber RE, Simm A. Down-regulation of the receptor for advanced glycation end-products (RAGE) supports non-small cell lung carcinoma. *Carcinogenesis* 2005;26:293-301.

Barua M, Jenkins EC, Chen W, Kuizon S, Pullarkat RK, Junaid MA. Glyoxalase I polymorphism rs2736654 causing the Ala111Glu substitution modulates enzyme activity—implications for autism. *Autism* 2011;4:262–70

Baunacke M, Horn LC, Trettner S, et al.: Exploring glyoxalase 1 expression in prostate cancer tissues: Targeting the enzyme by ethyl pyruvate defangs some malignancy-associated properties. *Prostate* 2014;74:48–60.

Bellocco R et al. Alcohol drinking and risk of renal cell carcinoma: results of a meta-analysis. *Ann Oncol*, 2012. 23: 2235.

Bertram J, Palfner K, Hiddemann W, Kneba M. Elevated expression of S100P, CAPL and MAGE 3 in doxorubicin-resistant cell lines: comparison of mRNA differential display reverse transcription-polymerase chain reaction and subtractive suppressive hybridization for the analysis of differential gene expression. *Anticancer Drugs.* 1998 Apr;9(4):311-7.

Bianchi ME, Agresti A. HMG proteins: dynamic players in gene regulation and differentiation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2005;15 (5): 496–506.

Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth PP. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med (Berl).* 2005 Nov;83(11):876-86

- Biswas SK, Mudi SR, Mollah FH, Bierhaus A, Arslan MI. Serum soluble receptor for advanced glycation end products (sRAGE) is independently associated with cigarette smoking in non-diabetic healthy subjects. *Diab Vasc Dis Res*. 2013 Jul;10(4):380-2.
- Cai J. Roles of transcriptional factor Snail and adhesion factor E-cadherin in clear cell renal cell carcinoma. *Exp Ther Med*. 2013 Dec;6(6):1489-1493.
- Cai W, Sun JF, Liu Y, Xu JX, Xiao JR, Duan XM, Liu JY, Zhang W. Relationship between serum levels of endogenous secretory RAGE and blood pressure in male nondiabetic patients with obstructive sleep apnea. *J Hum Hypertens*. 2015 Dec;29(12):713-8
- Clague J et al. Family history and risk of renal cell carcinoma: results from a case-control study and systematic meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2009. 18: 801.
- Colhoun HM, Betteridge DJ, Durrington P, Hitman G, Neil A, Livingstone S, Charlton-Menys V, Bao W, Demicco DA, Preston GM, Deshmukh H, Tan K, Fuller JH. Total soluble and endogenous secretory receptor for advanced glycation end products as predictive biomarkers of coronary heart disease risk in patients with type 2 diabetes: an analysis from the CARDS trial. *Diabetes*. 2011 Sep;60(9):2379-85.
- Curran CS, Bertics PJ. Human eosinophils express RAGE, produce RAGE ligands, exhibit PKC-delta phosphorylation and enhanced viability in response to the RAGE ligand, S100B. *Int Immunol*. 2011 Dec;23(12):713-28.
- Diederichs S, Bulk E, Steffen B, Ji P, Tickenbrock L, Lang K, et al. S100 family members and try-psiinogens are predictors of distant metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2004;64:5564–9.
- DiNorcia J, Lee MK, Moroziewicz DN, Winner M, Suman P, Bao F, et al. RAGE gene deletion inhibits the development and progression of ductal neoplasia and prolongs survival in a murine model of pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg*. 2012;16(1):104-12.
- Dong L, Zhou Q, Zhang Z, et al.: Metformin sensitizes endometrial cancer cells to chemotherapy by repressing glyoxalase I ex-pression. *J Obstet Gynaecol Res* 2012;38:1077–1085.
- Downen SE, Crnogorac-Jurcevic T, Gangeswaran R, Hansen M, Eloranta JJ, Bhakta V, Brentnall TA, Lüttges J, Klöppel G, Lemoine NR. Expression of S100P and its novel binding partner S100PBPR in early pancreatic cancer. *Am J Pathol*. 2005 Jan;166(1):81-92.
- Duan Z, Chen G, Chen L, Stolzenberg-Solomon R, Weinstein SJ, Mannisto S, White DL, Albanes D, Jiao L. Determinants of concentrations of N(ε)-carboxymethyl-lysine and soluble receptor for advanced glycation end products and their associations with risk of pancreatic cancer. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2014 Oct 22;5(3):152-63.
- Eckel-Passow JE, Serie DJ, Bot BM, Joseph RW, Hart SN, Cheville JC, Parker AS. Somatic expression of ENRAGE is associated with obesity status among patients with clear cell renal cell carcinoma. *Carcinogenesis*. 2014 Apr;35(4):822-827.
- Erdogan F, Demirel A, Polat O. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Int J Clin Pract*. 2004;58:333-336

Escudier B, et al. Sorafenib for treatment of renal cell carcinoma: Final efficacy and safety results of the phase III treatment approaches in renal cancer global evaluation trial. *J Clin Oncol*. 2009;27(20):3312–3318.

Falcone C, Emanuele E, D'Angelo A, Buzzi MP, Belvito C, Cuccia M, et al. Plasma levels of soluble receptor for advanced glycation end products and coronary artery disease in nondiabetic men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1032–7.

Falcone C et al. The -374T/A RAGE polymorphism protects against future cardiac events in non-diabetic patients with coronary artery disease. *Arch Med. Res*. 2008;39:320-325.

Falcone C, Bozzini S, Colonna A, Matrone B, Paganini EM, Falcone R, Pelissero G. Possible Role of -374T/A Polymorphism of RAGE Gene in Longevity *Int J Mol. Sci* 2013;14:23203-11.

Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. 2007;39:175–91.

Fonseca-Sánchez MA, Rodríguez Cuevas S, Mendoza-Hernández G, Bautista-Piña V, Arechaga Ocampo E, Hidalgo Miranda A, Quintanar Jurado V, Marchat LA, Alvarez-Sánchez E, Pérez Plasencia C, López-Camarillo C. Breast cancer proteomics reveals a positive correlation between glyoxalase 1 expression and high tumor grade. *Int J Oncol*. 2012 Aug;41(2):670-80.

Fritz G. RAGE: a single receptor fits multiple ligands. *Trends Biochem Sci* 2011;36: 625-632.

Funk S, Mark R, Bayo P, Flechtenmacher C, Grabe N, Angel P, Plinkert PK, Hess J. High S100A8 and S100A12 protein expression is a favorable prognostic factor for survival of oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2015 May 1;136(9):2037-46.

Furge KA et al. Identification of deregulated oncogenic pathways in renal cell carcinoma: an integrated oncogenomic approach based on gene expression profiling. *Oncogene*, 2007. 26: 1346.

Gaens KH, Ferreira I, van der Kallen CJ, van Greevenbroek MM, Blaak EE, Feskens EJ, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, 't Hart LM, de Groot PG, Stehouwer CD, Schalkwijk CG. Association of polymorphism in the receptor for advanced glycation end products (rage) with circulating rage levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:5174-5180.

Gao J, Shao Y, Lai W, Ren H, Xu D, Association of polymorphisms in the RAGE gene with serum CRP Levels and coronary artery disease in the Chinese Han Population. *J Hum Genet* 2010;55,668-675.

Garrett SC, Hodgson L, Rybin A, Toutchkine A, Hahn KM, Lawrence DS, Bresnick AR. A biosensor of S100A4 metastasis factor activation: inhibitor screening and cellular activation dynamics. *Biochemistry*. 2008 Jan 22;47(3):986-96

Gebhardt C, Riehl A, Durchdewald M, Németh J, Fürstenberger G, Müller-Decker K, Enk A, Arnold B, Bierhaus A, Nawroth PP, Hess J, Angel P. RAGE signaling sustains inflammation and promotes tumor development. *J Exp Med*. 2008 Feb 18;205(2):275-85.

- Geng X, Ma J, Zhang F, Xu C. Glyoxalase I in tumor cell proliferation and survival and as a potential target for anticancer therapy. *Oncol Res Treat*. 2014;37(10):570-4.
- Germanová A, Tesarová P, Jáchymová M, Zvára K, Zima T, Kalousová M. Glyoxalase I Glu111Ala polymorphism in patients with breast cancer. *Cancer Invest* 2009;27: 655–60.
- Germanová A, Muravská A, Jáchymová M, Hájek Z, Koucký M, Mestek O, Zima T, Kalousová M. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and glyoxalase I gene polymorphisms in pathological pregnancy. *Clinical Biochemistry* 2012;1409-1414.
- Gongoll S, Peters G, Mengel M, Piso P, Klempnauer J, Kreipe H, von Wasielewski R. Prognostic significance of calcium-binding protein S100A4 in colorectal cancer. *Gastroenterology*. 2002 Nov;123(5):1478-84.
- González I, Romero J, Rodríguez BL, Pérez-Castro R, Rojas A The immunobiology of the receptor of advanced glycation end-products: trends and challenges. *Immunobiology* 2013;218:790-797.
- Gopal P, Reynaert N L, Scheijen J L. et al. Association of plasma sRAGE, but not esRAGE with lung function impairment in COPD. *Respir Res*. 2014;15:24.
- Gu H, Yang L, Sun Q, Zhou B, Tang N et al. Gly82Ser polymorphism of the receptor for advanced glycation end products is associated with an increased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Clin Cancer Res* 2008;14:3627-3632.
- Guo Y, Xia P, Zheng JJ, Sun XB, Pan XD, Zhang X, Wu CZ. Receptors for advanced glycation end products (RAGE) is associated with microvessel density and is a prognostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma. *Biomed Pharmacother*. 2015 Jul;73:147-53.
- Gupta S, Hussain T, MacLennan GT, Fu P, Patel J, Mukhtar H. Differential expression of S100A2 and S100A4 during progression of human prostate adenocarcinoma. *J Clin Oncol*. 2003 Jan 1;21(1):106-12
- Hay N . The Akt-mTOR tango and its relevance to cancer . *Cancer Cell* 2005;8:179 – 83.
- He M, Kubo H, Morimoto K, Fujino N, Suzuki T, Takahashi T, Yamada M, Yamaya M, Maekawa T, Yamamoto Y, Yamamoto H. Receptor for advanced glycation end products binds to phosphatidylserine and assists in the clearance of apoptotic cells. *EMBO Rep*. 2011 Apr;12(4):358-64.
- Hermani A, De Servi B, Medunjanin S, Tessier PA, Mayer D. S100A8 and S100A9 activate MAP kinase and NF-kappaB signaling pathways and trigger translocation of RAGE in human prostate cancer cells. *Exp Cell Res*. 2006 Jan 15;312(2):184-97
- Hofmann MA, Drury S, Hudson BI, Gleason MR, Qu W, Lu Y, et al. RAGE and arthritis: the G82S polymorphism amplifies the inflammatory response. *Genes Immun* 2002;3:123–35.
- Hofmann HS, Hansen G, Burdach S, Bartling B, Silber RE, Simm A. Discrimination of human lung neoplasm from normal lung by two target genes. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:516–9.

- Hu P, Lai D, Lu P, Gao J, He H. ERK and Akt signaling pathways are involved in advanced glycation end product-induced autophagy in rat vascular smooth muscle cells. *Int J Mol Med*. 2012 Apr;29(4):613-8.
- Hu X, Yang X, He Q, Chen Q, Yu L. Glyoxalase 1 is up-regulated in hepatocellular carcinoma and is essential for HCC cell proliferation. *Biotechnol Lett*. 2014 Feb;36(2):257-63
- Huang JS, Guh JY, Chen HC, Hung WC, Lai YH, Chuang LY. Role of receptor for advanced glycation end-product (RAGE) and the JAK/STAT-signaling pathway in AGE-induced collagen production in NRK-49F cells. *J Cell Biochem*. 2001;81(1):102-13.
- Huang Q, Mi J, Wang X, Liu F, Wang D, Yan D, Wang B, Zhang S, Tian G. Genetically lowered concentrations of circulating sRAGE might cause an increased risk of cancer: Meta-analysis using Mendelian randomization. *J Int Med Res*. 2016 Apr;44(2):179-91.
- Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with gdiabetic retinopathy. *Diabetes* 2001;50:1505-1511.
- Hudson BI, Schmidt AM. RAGE: a novel target for drug intervention in diabetic vacular disease. *Pharm Res* 2004;21:1079-1086.
- Hudson BI, Kalea AZ, Del Mar Arriero M, Harja E, Boulanger E, D'Agati V, Schmidt AM. Interaction of the RAGE cytoplasmic domain with diaphanous-1 is required for ligand-stimulated cellular migration through activation of Rac1 and Cdc42. *J Biol Chem*. 2008 Dec 5;283(49):34457-68.
- Hudson BI, Carter AM, Harja E, Kalea AZ, Arriero M, Yang H, et al. Identification, classification, and expression of RAGE gene splice variants. *FASEB J* 2008;22:1572-1580.
- Chen L, Duan Z, Tinker L, Sangi-Haghpeykar H, Strickler H, Ho GY, Gunter MJ, Rohan T, Logsdon C, White DL, Royse K, El-Serag HB, Jiao L. A prospective study of soluble receptor for advanced glycation end-products and colorectal cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol*. 2016 Jun;42:115-23.
- Chen X, Zhang L, Zhang IY, Liang J, Wang H, Ouyang M, Wu S, da Fonseca AC, Weng L, Yamamoto Y, Yamamoto H, Natarajan R, Badie B. RAGE expression in tumor-associated macrophages promotes angiogenesis in glioma. *Cancer Res*. 2014 Dec 15;74(24):7285-97.
- Cheng WL, Tsai MM, Tsai CY, Huang YH, Chen CY, Chi HC, Tseng YH, Chao IW, Lin WC, Wu SM, Liang Y, Liao CJ, Lin YH, Chung IH, Chen WJ, Lin PY, Wang CS, Lin KH. Glyoxalase-I is a novel prognosis factor associated with gastric cancer progression. *PLoS One*. 2012;7(3):e34352.
- Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M, Green DR. Direct activation of Bax by p53 mediates mitochondrial membrane permeabilization and apoptosis. *Science*. 2004 Feb 13;303(5660):1010-4.
- Chocholatý M, Čechová M, Schmidt M, Havlová K, Koldová M, Jarolím L, Zima T, Kalousová M. EN-RAGE – potencionální marker světlobuněčného karcinomu ledviny – pilotní studie. *Ces Urol* 2015; 19(Suppl. B):55.

- Ishiguro H, Nakaigawa N, Miyoshi Y, Fujinami K, Kubota Y, Uemura H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and its ligand, amphoterin are overexpressed and associated with prostate cancer development. *Prostate*. 2005;64:92–100.
- Ishihara K, Tsutsumi K, Kawane S, Nakajima M, Kasaoka T. The receptor for advanced glycation end-products (RAGE) directly binds to ERK by a D-domain-like docking site. *FEBS Lett*. 2003 Aug 28;550(1-3):107-13.
- Jacobs MD, Harrison SC. Structure of an I κ B α /NF- κ B complex. *Cell* 1998;95 (6): 749–58.
- Jacobsen J, et al. Vascular endothelial growth factor as prognostic factor in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2000; 163(1):343–347.
- Janzen NK, Kim HL, Figlin RA, Belldegrun AS. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease. *Urol Clin North Am*. 2003 Nov;30(4):843-52.
- Jiao L, Weinstein SJ, Albanes D, Taylor PR, Graubard BI, Virtamo J, Stolzenberg-Solomon RZ. Evidence that serum levels of the soluble receptor for advanced glycation end products are inversely associated with pancreatic cancer risk: a prospective study. *Cancer Res*. 2011 May 15;71(10):3582-9.
- Jiao L, Chen L, Alsarraj A, Ramsey D, Duan Z, El-Serag HB. Plasma soluble receptor for advanced glycation end-products and risk of colorectal adenoma. *Int J Mol Epidemiol Genet*. 2012;3(4):294-304.
- Jiao L, Taylor PR, Weinstein SJ, Graubard BI, Virtamo J, Albanes D, Stolzenberg-Solomon RZ. Advanced glycation end products, soluble receptor for advanced glycation end products, and risk of colorectal cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2011 Jul;20(7):1430-8.
- Jing R, Cui M, Wang J, Wang H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) soluble form (sRAGE): a new biomarker for lung cancer. *Neoplasma*. 2010;57(1):55-61.
- Jono T, Miyazaki A, Nagai R, Sawamura T, Kitamura T, Horiuchi S. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor-1 (LOX-1) serves as an endothelial receptor for advanced glycation end products (AGE). *FEBS Lett*. 2002 Jan 30;511(1-3):170-4.
- Kaelin WG. von Hippel-Lindau Disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2007;2:145–173.
- Kaelin WG. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:673–682.
- Kalousová M, Jáchymová M, Mestek O, Hodková M, Kazderová M, Tesar V, Zima T. Receptor for advanced glycation end products – soluble form and gene polymorphisms in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:2020-2026.
- Kalousová M, Germanová A, Jáchymová M, Mestek O, Tesar V, Zima T A419C (E111A) polymorphism of the glyoxalase I gene and vascular complications in chronic hemodialysis patients. *Ann N Y Acad Sci*. 2008;(Apr)1126:268-71.

- Kalousová M, Jáchymová M, Germanová A, Kuběna AA, Tesař V, Zima T. Genetic Predisposition to Advanced Glycation End Products Toxicity Is Related to Prognosis of Chronic Hemodialysis Patients. *Kidney Blood Press Res* 2010;33:30-36.
- Kalousová M, Zima T. AGEs a RAGE – konečné produkty pokročilé glykace a jejich receptor v otázkách a odpovědích. *Vnitr Lek.* 2014 Sep;60(9):720-4.
- Kang P, Tian C, Jia C. Association of RAGE gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus, diabetic retinopathy and diabetic nephropathy. *Gene.* 2012 May 25;500(1):1-9.
- Kang R, Tang D, Loze MT, Zeh HJ. Apoptosis to autophagy switch triggered by the MHC class III-encoded receptor for advanced glycation endproducts (RAGE). *Autophagy.* 2011 Jan;7(1):91-3.
- Kang R, Loux T, Tang D, Schapiro NE, Vernon P, Livesey KM, Krasinskas A, Lotze MT, Zeh HJ 3rd. The expression of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is permissive for early pancreatic neoplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 May 1;109(18):7031-6.
- Kang R, Hou W, Zhang Q, Chen R, Lee YJ, Bartlett DL, et al. RAGE Is Essential for Oncogenic KRAS-Mediated Hypoxic Signaling in Pancreatic Cancer. *Cell Death & Disease.* 2014;5:e1480.
- Kaňková K, Vašku A, Hájek D, Záhejský J, Vasku V. Association of G82S polymorphism in the RAGE gene with complications in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1745
- Kanková K, Záhejský J, Márová I, Mužík J, Kuhrová V, Blažková M, et al. Polymorphisms in the RAGE gene influence susceptibility to diabetes-associated microvascular dermatoses in NIDDM. *J Diabetes Complications* 2001;15:185–92.
- Kanková K, Stejskalová A, Hertlová M, Znojil V: Haplotype analysis of the RAGE gene: identification of a haplotype marker for diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 1093–1102.
- Kanková K, Stejskalová A, Pácal L, Tschoplová S, Hertlová M, Krusová D, Izakovičová-Hollá L, Beránek M, Vašku A, Baral S, Ott J, Genetic risk factors for diabetic nephropathy on chromosomes 6p and 7q identified by the set-association approach. *Diabetologia* 2007;50:990-999.
- Kawaciuk I, Hyrsi L, Dusek P, Jarolim L, Schmidt M, Kaliska V, Chocholaty M, Vesely S. Influence of tumour-associated symptoms on the prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Scand J Urol Nephrol.* 2008;42(5):406-11.
- Khorrandelazad H, Bagheri V, Hassanshahi G, Karami H, Moogooei M, Zeinali M, Abedinzadeh M. S100A12 and RAGE expression in human bladder transitional cell carcinoma: a role for the ligand/RAGE axis in tumor progression? *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(7):2725-9.
- Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, Billiar TR, Tsung A. HMGB1: endogenous danger signaling. *Mol. Med.* 2008; 14 (7-8): 476–84.
- Koch M, Chitayat S, Dattilo BM, Schiefner A, Diez J, Chazin WJ, Fritz G. Structural basis for ligand recognition and activation of RAGE. *Structure.* 2010 Oct 13;18(10):1342-52.

- Kohles N., Nagel D., Jungst D., Stieber P., Holdenrieder S. Predictive value of immunogenic cell death biomarkers hmgb1, sRAGE, and dnase in liver cancer patients receiving transarterial chemoembolization therapy. *Tumour Biol.* 2012;33:2401–2409.
- Koldová M, Kalousová M, Čapek V, Schmidt M, Havlová K, Jarolím L, Chocholatý M. Oros mukoid – nejlepší marker z běžně dostupných laboratorních vyšetření k predikci relapsu onemocnění u pacientů s lokalizovaným světlobuněčným karcinomem ledviny. *Ces Urol* 2015; 19(Suppl. B):56.
- Koyama H, Shoji T, Yokoyama H, et al. Plasma level of endogenous secretory RAGE is associated with components of the metabolic syndrome and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(12):2587–2593.
- Krechler T, Jáchymová M, Mestek O, Žák A, Zima T, Kalousová M. Soluble receptor for advanced glycation end-products (sRAGE and polymorphisms of RAGE and glyoxalase I genes in patients with pancreas cancer. *Clinical Biochemistry.* 2010;43:882-886.
- Kuniyasu H, Chihara Y, Kondo H, Ohmori H, Ukai R. Amphoterin induction in prostatic stromal cells by androgen deprivation is associated with metastatic prostate cancer. *Oncol Rep.* 2003;10:1863–1868.
- Lata K, Mukherjee TK. Knockdown of receptor for advanced glycation end products attenuate 17 α -ethinyl-estradiol dependent proliferation and survival of MCF-7 breast cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2014 Mar;1840(3):1083-91.
- Leclerc E, Fritz G, Vetter SW, Heizmann CW. Binding of S100 proteins to RAGE: an update, *Biochim. Biophys. Acta* 1793 (2009) 993–1007.
- Lee EJ, Park, JH. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE), Its Ligands and Soluble RAGE: Potential Biomarkers for Diagnosis and Therapeutic Targets for Human Renal Diseases. *Genomics Inform.* 2013;11(4):224-229.
- Levi F et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int*, 2008. 101: 949.
- Li K, Dai S, Zhao B, Yao L, Yao S, Wang B, Yang Z. Association between the RAGE G82S polymorphism and Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2010;117:97-104.
- Li D, Yeung SC, Hassan MM, Konopleva M, Abbruzzese JL. Antidiabetic therapies affect risk of pancreatic cancer. *Gastroenterology.* 2009 Aug;137(2):482-8.
- Li X, Ma X, Chen L, Gu L, Zhang Y, Zhang F, Ouyang Y, Gao Y, Huang Q, Zhang X. Prognostic value of CD44 expression in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2015 Aug 19;5:13157.
- Liliensiek B, Weigand MA, Bierhaus A, Nicklas W, Kasper M, Hofer S, Plachky J, Gröne HJ, Kurschus FC, Schmidt AM, Yan SD, Martin E, Schleicher E, Stern DM, Hämmerling G, Nawroth PP, Arnold B. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) regulates sepsis but not the adaptive immune response. *J Clin Invest.* 2004 Jun;113(11):1641-50.
- Lin L, Zhong K, Sun Z, Wu G, Ding G. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) partially mediates HMGB1-ERKs activation in clear cell renal cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2012;138:11-22.

Linehan WM et al. Genetic basis of cancer of the kidney: disease-specific approaches to therapy. *Clin Cancer Res*, 2004. 10: 6282S.

Lipinski MM¹, Hoffman G, Ng A, Zhou W, Py BF, Hsu E, Liu X, Eisenberg J, Liu J, Blenis J, Xavier RJ, Yuan J. A genome-wide siRNA screen reveals multiple mTORC1 independent signaling pathways regulating autophagy under normal nutritional conditions. *Dev Cell*. 2010 Jun 15;18(6):1041-52.

Liu L, Qiu XB. Association between the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and coronary artery disease. *Mol Biol Rep*. 2013 Nov;40(11):6097-105.

Logsdon CD, Fuentes MK, Huang EH, Arumugam T. RAGE and RAGE Ligands in Cancer. *Curr Mol Med*. 2007;8: 777-89.

van de Logt F, Day AS. S100A12: a noninvasive marker of inflammation in inflammatory bowel disease. *J Dig Dis*. 2013 Feb;14(2):62-7.

Lu B, Song XL, Jia LY, Song FL, Zhao SC, Jiang Y. Differential expressions of the receptor for advanced glycation end products in prostate cancer and normal prostate. *Zhonghua Nan Ke Xue*.2010;16:405–409.

Malik P, Chaudhry N, Mittal R, Mukherjee TK. Role of receptor for advanced glycation end products in the complication and progression of various types of cancers. *Biochim Biophys Acta*. 2015 Sep;1850(9):1898-904.

Marinakis E, Bagkos G, Piperi C, Roussou P, Diamanti-Kandarakis E. Critical role of RAGE in lung physiology and tumorigenesis: a potential target of therapeutic intervention? *Clin Chem Lab Med*. 2014 Feb;52(2):189-200.

Martens HA, Nienhuis HL, Gross S, van der Steege G, Brouwer E, Berden JH, de Sévaux RG, Derksen RH, Voskuyl AE, Berger SP, Navis GJ, Nolte IM, Kallenberg CG, Bijl M. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus and disease severity in lupus nephritis. *Lupus*. 2012 Aug;21(9):959-68

Martin GS. The hunting of the Src. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001 Jun;2(6):467-75.

Mearini E, Romani R, Mearini L, Antognelli C, Zucchi A, Baroni T, Porena M, Talesa VN. Differing expression of enzymes of the glyoxalase system in superficial and invasive bladder carcinomas. *Eur J Cancer*. 2002 Sep;38(14):1946-50.

Medapati MR, Dahlmann M, Ghavami S, Pathak KA, Lucman L, Klonisch T, Hoang-Vu C, Stein U, Hombach-Klonisch S. RAGE Mediates the Pro-Migratory Response of Extracellular S100A4 in Human Thyroid Cancer Cells. *Thyroid*. 2015 May;25(5):514-27.

Medina Villaamil V, Aparicio Gallego G, Valbuena Rubira L, García Campelo R, Valadares-Ayerbes M, Grande Pulido E, Victoria Bolós M, Santamarina Caínzos I, Antón Aparicio LM. Fructose transporter GLUT5 expression in clear renal cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2011 Feb;25(2):315-23.

Meloche J, Paulin R, Courboulain A, Lambert C, Barrier M, Bonnet P, Bissierier M, Roy M, Sussman MA, Agharazii M, Bonnet S. RAGE-dependent activation of the oncoprotein

- Pim1 plays a critical role in systemic vascular remodeling processes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2011 Sep;31(9):2114-24.
- Mikami S, Mizuno R, Kosaka T, Saya H, Oya M, Okada Y. Expression of TNF- α and CD44 is implicated in poor prognosis, cancer cell invasion, metastasis and resistance to the sunitinib treatment in clear cell renal cell carcinomas. *Int J Cancer.* 2015 Apr 1;136(7):1504-14.
- Miki S, Kasayama S, Miki Y et al. Expression of receptor for advanced glycosylation end products on renal cell carcinoma cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;196:984-9.
- Miller DC, Ruterbusch J, Colt JS, Davis FG, Linehan WM, Chow WH, Schwartz K Contemporary clinical epidemiology of renal cell carcinoma: insight from a population based case-control study. *J Urol.* 2010;184:2254-2258.
- Mohamed A, Shrgill I, Little B. Management of metastatic renal cell carcinoma: current trends. *Expert Rev Mol Diagn.* 2009;9:75-83.
- Morávek P. Symptomatology, diagnostics and classification. In: Dvořáček J, Babjuk M et al. *Onkourologie.* Praha:Galen 2005;38-41.
- Moy KA, Jiao L, Freedman ND, Weinstein SJ, Sinha R, Virtamo J, Albanes D, Stolzenberg-Solomon RZ. Soluble receptor for advanced glycation end products and risk of liver cancer. *Hepatology.* 2013 Jun;57(6):2338-45.
- Nasser MW, Wani NA, Ahirwar DK, Powell CA, Ravi J, Elbaz M, Zhao H, Padilla L, Zhang X, Shilo K, Ostrowski M, Shapiro C, Carson WE 3rd, Ganju RK. RAGE mediates S100A7-induced breast cancer growth and metastasis by modulating the tumor microenvironment. *Cancer Res.* 2015 Mar 15;75(6):974-85.
- Nasser MW, Ahirwar DK, Ganju RK. RAGE: A novel target for breast cancer growth and metastasis. *Oncoscience.* 2016 Mar 3;3(2):52-3.
- Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, et al. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem* 1992;267:14998–5004.
- Nin JW, Jorsal A, Ferreira I, et al. Higher plasma soluble Receptor for Advanced Glycation End Products (sRAGE) levels are associated with incident cardiovascular disease and all-cause mortality in type 1 diabetes: a 12-year follow-up study. *Diabetes* 2010;59(8): 2027–2032.
- Noon AP, Vlatković N, Polański R, Maguire M, Shawki H, Parsons K, Boyd MT. p53 and MDM2 in renal cell carcinoma: biomarkers for disease progression and future therapeutic targets? *Cancer.* 2010 Feb 15;116(4):780-90
- Ohgami N, Nagai R, Ikemoto M, Arai H, Kuniyasu A, Horiuchi S, Nakayama H. Cd36, a member of the class b scavenger receptor family, as a receptor for advanced glycation end products. *J Biol Chem.* 2001 Feb 2;276(5):3195-202.
- Ohuchida K, Mizumoto K, Ohhashi S, Yamaguchi H, Konomi H, Nagai E, Yamaguchi K, Tsuneyoshi M, Tanaka M. S100A11, a putative tumor suppressor gene, is overexpressed in pancreatic carcinogenesis. *Clin Cancer Res.* 2006 Sep 15;12(18):5417-22.

- Osawa M, Yamamoto Y, Munesue S, Murakami N, Sakurai S, Watanabe T, et al. De-N-glycosylation or G82S mutation of RAGE sensitizes its interaction with advanced glycation endproducts. *Biochem Biophys Acta* 2007;1770:1468–74
- Pearson G, Robinson F, Beers Gibson T, Xu BE, Karandikar M, Berman K, Cobb MH. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocr. Rev.* 2001, roč. 22, čís. 2, s. 153–83.
- Peculis R, Konrade I, Skapare E, Fridmanis D, Nikitina-Zake L, Lejniaks A, Pirags V, Dambrova M, Klovins J. Identification of glyoxalase 1 polymorphisms associated with enzyme activity. *Gene.* 2013 Feb 15;515(1):140-3
- Pena C, et al. Biomarkers predicting outcome in patients with advanced renal cell carcinoma: Results from sorafenib phase III Treatment Approaches in Renal Cancer Global Evaluation Trial. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2010; 16(19):4853–4863.
- Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007 Jan;8(1):49-62.
- Pettersson-Fernholm K, Forsblom C, Hudson BI, Perola M, Grant PJ, Groop PH, Finn-Diane Study Group: The functional –374 T/A RAGE gene polymorphism is associated with proteinuria and cardiovascular disease in type 1 diabetic patients. *Diabetes* 2003; 52: 891–894.
- Prasad K, Dhar I, Caspar-Bell G. Role of Advanced Glycation End Products and Its Receptors in the Pathogenesis of Cigarette Smoke-Induced Cardiovascular Disease. *Int J Angiol.* 2015 Jun;24(2):75-80.
- Prasad K. Low levels of serum soluble receptors for advanced glycation end products, biomarkers for disease state: myth or reality. *Int J Angiol.* 2014 Mar;23(1):11-6.
- Qie GQ, Wang CT, Chu YF, Wang R Expression of HMGB1/RAGE protein in renal carcinoma and its clinical significance. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Jun 1;8(6):6262-8.
- Ramasamy R, Vannucci SJ, Yan SS, Herold K, Yan SF, Schmidt AM. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. *Glycobiology.* 2005 Jul;15(7):16R-28R.
- Rauci A, Cugusi S, Antonelli A, Barabino SM, Monti L, Bierhaus A, Reiss K, Saftig P, Bianchi ME. A soluble form of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) is produced by proteolytic cleavage of the membranebound form by the sheddase a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10). *FASEB J* 2008;22:3716-27.
- Rasheed Z, Haqqi TM. Endoplasmic reticulum stress induces the expression of COX-2 through activation of eIF2 α , p38-MAPK and NF- κ B in advanced glycation end products stimulated human chondrocytes. *Biochim Biophys Acta.* 2012 Dec;1823(12):2179-89.
- Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci.* 2004 Mar 15;117(Pt 8):1281-3.
- Reddy MA, Li SL, Sahar S, Kim YS, Xu ZG, Lanting L, Natarajan R. Key role of Src kinase in S100B-induced activation of the receptor for advanced glycation end products in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem.* 2006 May 12;281(19):13685-93.

- Reddy VP, Beyaz A. Inhibitors of the Maillard reaction and AGE breakers as therapeutics for multiple diseases. *Drug Discov Today*. 2006 Jul;11(13-14):646-54.
- Rojas A, Figueroa H, Morales E. Fueling inflammation at tumor microenvironment: the role of multiligand/RAGE axis. *Carcinogenesis*. 2010 Mar;31(3):334-41.
- Ruan BH, Li X, Winkler AR, Cunningham KM, Kuai J, Greco RM, Nocka KH, Fitz LJ, Wright JF, Pittman DD, Tan XY, Paulsen JE, Lin LL, Winkler DG. Complement C3a, CpG oligos, and DNA/C3a complex stimulate IFN- α production in a receptor for advanced glycation end product-dependent manner. *J Immunol*. 2010 Oct 1;185(7):4213-22.
- Sakaguchi M, Murata H, Yamamoto K, Ono T, Sakaguchi Y, Motoyama A, Hibino T, Kataoka K, Huh NH. TIRAP, an adaptor protein for TLR2/4, transduces a signal from RAGE phosphorylated upon ligand binding. *PLoS One*. 2011;6(8):e23132.
- Sakellariou S, Fragkou P, Levidou G, Gargalionis AN, Piperi C, Dalagiorgou G, Adamopoulos C, Saetta A, Agrogiannis G, Theohari I, Sougioultzis S, Tsioli P, Karavokyros I, Tsavaris N, Kostakis ID, Zizi-Serbetzoglou A, Vandrolos GP, Patsouris E, Korkolopoulou P. Clinical significance of AGE-RAGE axis in colorectal cancer: associations with glyoxalase-I, adiponectin receptor expression and prognosis. *BMC Cancer*. 2016 Mar 1;16(1):174.
- Sandim V, Pereira DA, Ornellas AA, Alves G. Renal cell carcinoma and proteomics. *Urol Int* 2010;84:373-377.
- Santarius T, Bignell GR, Greenman CD, Widaa S, Chen L, Mahoney CL, Butler A, Edkins S, Waris S, Thornalley PJ, Futreal PA, Stratton MR. GLO1-A novel amplified gene in human cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2010 Aug;49(8):711-25.
- Sato N, Fukushima N, Matsubayashi H, Goggins M. Identification of maspin and S100P as novel hypomethylation targets in pancreatic cancer using global gene expression profiling. *Oncogene*. 2004 Feb 26;23(8):1531-8.
- Sato N, Maitra A, Fukushima N, van Heek NT, Matsubayashi H, Iacobuzio-Donahue CA, Rosty C, Goggins M. Frequent hypomethylation of multiple genes overexpressed in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2003 Jul 15;63(14):4158-66.
- Schenk S, Schraml P, Bendik I, Ludwig CU. A novel polymorphism in the promoter of the RAGE gene is associated with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2001;32:7–12.
- Schmidt AM, Hori O, Chen JX, Li JF, Crandall J, Zhang J, et al. Advanced glycation endproducts interacting with their endothelial receptor induce expression of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in cultured human endothelial cells and in mice. A potential mechanism for the accelerated vasculopathy of diabetes. *J Clin Invest* 1995;96:1395–403.
- Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001;108:949–55
- Semenza GL. Oxygen sensing, homeostasis, and disease. *N Engl J Med*. 2011;365:537–547.
- Shen ZY, Fang Y, Zhen L, Zhu XJ, Chen H, Liu H, Jiang B, Li GX, Deng HJ. Analysis of the predictive efficiency of S100P on adverse prognosis and the pathogenesis of S100P-

mediated invasion and metastasis of colon adenocarcinoma. *Cancer Genet.* 2016 Apr;209(4):143-53.

Sidoti A, Antognelli C, Rinaldi C, D'Angelo R, Dattola V, Girlanda P, Talesa V, Amato A. Glyoxalase I A111E, paraoxonase 1 Q192R and L55M polymorphisms: susceptibility factors of multiple sclerosis? *Mult Scler.* 2007 May;13(4):446-53.

Simm A, Philipp C, Friedrich I, Scheubel RJ, Hofmann HS, Meibodi KH, Sablotzki A, Silber RE, Börgermann J Intraoperative sRAGE kinetics. A new age-related outcome predictor of cardiac surgery. *Z Gerontol Geriatr.* 2014 Dec;47(8):666-72.

Song DY et al. Alcohol intake and renal cell cancer risk: a meta-analysis. *Br J Cancer,* 2012. 106: 1881.

Sorci G, Riuzzi F, Giambanco I, Donato R. RAGE in tissue homeostasis, repair and regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2013;1833:101-9.

Sparvero LJ, Asafu-Adjei D, Kang R, Tang D, Amin N, Im J, Rutledge R, Lin B, Amoscato AA, Zeh HJ, Lotze MT. RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. *J Transl Med* 2009;17;7:17.

Srikrishna G, Huttunen HJ, Johansson L, Weigle B, Yamaguchi Y, Rauvala H, Freeze HH. N -Glycans on the receptor for advanced glycation end products influence amphotericin binding and neurite outgrowth. *J Neurochem.* 2002 Mar;80(6):998-1008.

Stoetzer OJ, Fersching DM, Salat C, Steinkohl O, Gabka CJ, Hamann U, Braun M, Feller AM, Heinemann V, Siegele B, Nagel D, Holdenrieder S. Circulating immunogenic cell death biomarkers HMGB1 and RAGE in breast cancer patients during neoadjuvant chemotherapy. *Tumour Biol.* 2013 Feb;34(1):81-90.

Sugaya K, Fukagawa T, Matsumoto K, Mita K, Takahashi E, Ando A, Inoko H, Ikemura T: Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. *Genomics* 1994; 23: 408–419.

Sullivan CM, Futers TS, Berret JH, Hudson BI, Freeman MS, Grant PJ RAGE polymorphisms and the heritability of insulin resistance: the Leeds family study. *Diab Vasc Dis Res* 2005;2:42-44.

Sun HL, Liu YN, Huang YT, Pan SL, Huang DY, Guh JH, et al. YC-1 Inhibits HIF-1 Expression in Prostate Cancer Cells: Contribution of Akt/NF-KappaB Signaling to HIF-1Alpha Accumulation during Hypoxia. *Oncogene.* 2007;26:3941-3951.

Taguchi A, Blood DC, del Toro G, Canet A, Lee DC, Qu W, Tanji N, Lu Y, Lalla E, Fu C, Hofmann MA, Kislinger T, Ingram M, Lu A, Tanaka H, Hori O, Ogawa S, Stern DM, Schmidt AM. Blockade of RAGE-amphotericin signalling suppresses tumour growth and metastases. *Nature.* 2000 May 18;405(6784):354-60.

Takada M, Koizumi T, Toyama H, Suzuki Y, Kuroda Y. Differential expression of RAGE in human pancreatic carcinoma cells. *Hepatogastroenterology.* 2001 Nov-Dec;48(42):1577-8.

- Takino J, Yamagishi S, Takeuchi M. Glycer-AGEs-RAGE signaling enhances the angiogenic potential of hepatocellular carcinoma by upregulating VEGF expression. *World J Gastroenterol.* 2012 Apr 21;18(15):1781-8.
- Tanaka T, Kuramitsu Y, Wang Y, Baron B, Kitagawa T, Tokuda K, Hirakawa K, Yashiro M, Naito S, Nakamura K. Glyoxalase 1 as a candidate for indicating the metastatic potential of SN12C human renal cell carcinoma cell clones. *Oncol Rep.* 2013 Nov;30(5):2365-70
- Tesařová P, Kalousová M, Jáchymová M, Mestek O, Petruželka L, Zima T. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)—soluble form (sRAGE) and gene polymorphisms in patients with breast cancer. *Cancer Invest* 2007;25:720–5.
- Thornalley PJ: The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life. *Biochem J* 1990; 269: 1–11.
- Thornalley PJ. Cell activation by glycated proteins. AGE receptors, receptor recognition factors and functional classification of AGEs. *Cell Mol Biol.* 1998 Nov;44(7):1013-23.
- Thornalley PJ. Glyoxalase I—structure, function and a critical role in the enzymatic defence against glycation. *Biochem Soc Trans* 2003;31:1343–8.
- Thornalley PJ. Dietary AGEs and ALEs and risk to human health by their interaction with the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE)—an introduction. *Mol Nutr Food Res* 2007;51:1107–10.
- Thornalley PJ, Rabbani N. Glyoxalase in tumourigenesis and multidrug resistance. *Semin Cell Dev Biol.* 2011 May;22(3):318-25
- Touré F, Fritz G, Li Q, Rai V, Daffu G, Zou YS, Rosario R, Ramasamy R, Alberts AS, Yan SF, Schmidt AM. Formin mDia1 mediates vascular remodeling via integration of oxidative and signal transduction pathways. *Circ Res.* 2012 May 11;110(10):1279-93.
- Tripathi AK, Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, Madhu SV, Kalra OP. Association of RAGE gene polymorphisms with vascular complications in Indian type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103:474–81.
- Turovskaya O, Foell D, Sinha P, Vogl T, Newlin R, Nayak J, Nguyen M, Olsson A, Nawroth PP, Bierhaus A, Varki N, Kronenberg M, Freeze HH, Srikrishna G. RAGE, carboxylated glycans and S100A8/A9 play essential roles in colitis-associated carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 2008 Oct;29(10):2035-43.
- Ulloa L, Messmer D. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: friend and foe. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2006 Jun;17(3):189-201.
- Vašků V, Kaňková K, Vašků A, Mužík J, Holá LI, Semrádová V, Vácha J. Gene polymorphisms (G82S, 1704G/T, 2184A/G and 2245G/A) of the receptor of advanced glycation end products (RAGE) in plaque psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2002;294:127-130.
- Wagner NB, Weide B, Reith M, Tarnanidis K, Kehrel C, Lichtenberger R, Pflugfelder A, Herpel E, Eubel J, Ikenberg K, Busch C, Holland-Letz T, Naehrer H, Garbe C, Umansky V, Enk A, Utikal J, Gebhardt C. Diminished levels of the soluble form of RAGE are related to poor survival in malignant melanoma. *Int J Cancer.* 2015 Dec 1;137(11):2607-17.

Wang D, Li T, Ye G, Shen Z, Hu Y, Mou T, Yu J, Li S, Liu H, Li G. Overexpression of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE) is associated with poor prognosis in gastric cancer. *PLoS One*. 2015 Apr 10;10(4):e0122697.

Wang X, Cui E, Zeng H, Hua F, Wang B, Mao W, Feng X. RAGE Genetic Polymorphisms Are Associated with Risk, Chemotherapy Response and Prognosis in Patients with Advanced NSCLC. *PLOS One* 2012;7(10):e43734.

Wang Y, Kuramitsu Y, Ueno T, Suzuki N, Yoshino S, Iizuka N, Akada J, Kitagawa T, Oka M, Nakamura K. Glyoxalase I (GLO1) is up-regulated in pancreatic cancerous tissues compared with related non-cancerous tissues. *Anticancer Res*. 2012 Aug;32(8):3219-22

Wittekind C, Compton CC, Greene FL, Sobin LH. TNM residual tumor classification revisited. *Cancer* 2012;94:2511-2516

Wittwer C, Boeck S, Heinemann V, Haas M, Stieber P, Nagel D, Holdenrieder S. Soluble receptor of advanced glycation end products (sRAGE) indicates response to chemotherapy in pancreatic cancer patients. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2013 Jan;51(1):67-9.

Wood C et al. An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSPPC-96; vitespen) versus observation alone for patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: a multicentre, open-label, randomised phase III trial. *Lancet*, 2008. 372: 145.

Wu X, Mi Y, Yang H, Hu A, Zhang Q, Shang C. The activation of HMGB1 as a progression factor on inflammation response in normal human bronchial epithelial cells through RAGE/JNK/NF- κ B pathway, *Mol. Cell. Biochem*. 380 (2013) 249–257.

Xu XC, Abuduhadeer X, Zhang WB, Li T, Gao H, Wang YH. Knockdown of RAGE inhibits growth and invasion of gastric cancer cells. *European journal of histochemistry: EJH*. 2013;57(4):e36.

Xu Q, Xue F, Yuan B, Zhang L, Li J, He Z: The interaction between rage gene polymorphisms and hpv infection in determining the susceptibility of cervical cancer in a Chinese population. *Cancer Biomark* 2012;11:147-153.

Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. Mechanisms of disease: advanced glycation end-products and their receptor in inflammation and diabetes complications, *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab*. 4 (2008) 285–293.

Yang XJ et al. A molecular classification of papillary renal cell carcinoma. *Cancer Res*, 2005. 65: 5628.

Yao D, Brownlee M. Hyperglycemia-induced reactive oxygen species increase expression of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) and RAGE ligands. *Diabetes*. 2010 Jan;59(1):249-55.

Yaser A.M., Huang Y., Zhou R.R., Hu G.S., Xiao M.F., Huang Z.B., Duan C.J., Tian W., Tang D.L., Fan X.G. The role of receptor for advanced glycation end products (rage) in the proliferation of hepatocellular carcinoma. *Int. J. Mol. Sci*. 2012;13:5982–5997

Yin C, Li H, Zhang B, Liu Y, Lu G, Lu S, Sun L, Qi Y, Li X, Chen W. RAGE-binding S100A8/A9 promotes the migration and invasion of human breast cancer cells through actin

polymerization and epithelial-mesenchymal transition. *Breast Cancer Res Treat.* 2013 Nov;142(2):297-309.

Yokota C, Minematsu K, Tomii Y. et al. Low levels of plasma soluble receptor for advanced glycation end products are associated with severe leukoaraiosis in acute stroke patients. *J Neurol Sci.* 2009;287(1-2):41–44.

Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Petrova RG, Abedin MJ, Li H, et al. Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. *Biochem J* 2003; 370: 1097–109.

Yue L, Zhang Q, He L, Zhang M, Dong J, Zhao D, Ma H, Pan H, Zheng L. Genetic predisposition of six well-defined polymorphisms in HMGB1/RAGE pathway to breast cancer in a large Han Chinese population. *J Cell Mol Med.* 2016 May 31. doi: 10.1111/jcmm.12888. (Epub ahead of print).

Yun SJ, Yan C, Jeong P, Kang HW, Kim YH, Kim EA, Lee OJ, Kim WT, Moon SK, Kim IY, Choi YH, Kim WJ. Comparison of mRNA, Protein, and Urinary Nucleic Acid Levels of S100A8 and S100A9 between Prostate Cancer and BPH. *Ann Surg Oncol.* 2015 Jul;22(7):2439-45.

Zee RY, Romero JR, Gould JL, Ricupero DA, Ridker PM. Polymorphisms in the advanced glycosylation end product-specific receptor gene and risk of incident myocardial infarction or ischemic stroke. *Stroke* 2006;37:1686-1690

Zhang L, Jiang H, Xu G, Wen H, Gu B, Liu J, Mao S, Na R, Jing Y, Ding Q, Zhang Y. Proteins S100A8 and S100A9 are potential biomarkers for renal cell carcinoma in the early stages: results from a proteomic study integrated with bioinformatics analysis. *Mol Med Rep.* 2015 Jun;11(6):4093-100.

Zhang S, Hou X, Zi S, Wang Y, Chen L, Kong B. Polymorphisms of Receptor for Advanced Glycation end Products and Risk of Epithelial Ovarian Cancer in Chinese Patients. *Cell Physiol Biochem* 2013;31:525-531.

Zhao CB, Bao JM, Lu YJ, Zhao T, Zhou XH, Zheng DY, Zhao SC. Co-expression of RAGE and HMGB1 is associated with cancer progression and poor patient outcome of prostate cancer. *Am J Cancer Res.* 2014 Jul 16;4(4):369-77

Zhao Z, Liao G, Li Y, Zhou S, Zou H, Fernando S. Prognostic value of carbonic anhydrase IX immunohistochemical expression in renal cell carcinoma: a meta-analysis of the literature. *PLoS One.* 2014 Nov 26;9(11):e114096

Zhou LL, Cao W, Xie C, Tian J, Zhou Z, Zhou Q, Zhu P, Li A, Liu Y, Miyata T, Hou FF, Nie J. The receptor of advanced glycation end products plays a central role in advanced oxidation protein products-induced podocyte apoptosis. *Kidney Int.* 2012 Oct;82(7):759-70.

Zhu C, Wei J, Tian X, Li Y, Li X. Prognostic role of PPAR- γ and PTEN in the renal cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol.* 2015 Oct 1;8(10):12668-77.

10. SEZNAM VLASTNÍCH PUBLIKACÍ

Původní články s IF související s disertací

Chocholatý M, Jáchymová M, Schmidt M, Havlová K, Křepelová A, Zima T, Babjuk M, Kalousová M. Polymorphisms of the receptor for advanced glycation end-products and glyoxalase I in patients with renal cancer. *Tumour Biol.* 2015 Mar;36(3):2121-6. **IF: 3,6**

Kawaciuk I, Hyrší L, Dušek P, Jarolím L, Schmidt M, Kaliská V, Chocholatý M, Veselý Š. Influence of tumour-associated symptoms on the prognosis of patients with renal cell carcinoma. *Scandinavian journal of urology and nephrology.* 2008;42(5):406-411. **IF:0,909**

Přehledový článek související s disertací

Křepelová A, Puchmajerová A, Vasovčák P, Chocholatý M. Syndrom Birt-Hogg-Dubé. *Klinická onkologie.* 2012;25,Suppl.S18-S20.

Původní článek s IF nesouvisející s disertací

Čechová M, Kříž J, Paulasová P, Černíková J, Chocholatý M. Penilní vibrostimulace u pacientů s míšním poraněním. *Česká a slovenská neurologie a neurochirurgie.* 2015;78(2):200-204 **IF: 0,165**

Abstrakta související s disertací

Chocholatý M, Schmidt M, Havlová K, Zima T, Kalousová M. Význam dynamiky sRAGE ve sledování pacientů se světlobuněčným karcinomem ledviny po radikálním/záchovném výkonu. *Česká urologie.* 2014;18,Suppl. 1,56.

Chocholatý M, Schmidt M, Havlová K, Babjuk M, Kalousová M, Jáchymová M, Zima T. Polymorfismus receptoru pro pokročilé produkty glykace (RAGE) a riziko světlobuněčného karcinomu ledviny (CCRCC). *Česká urologie.* 2013;17, Suppl.1:23.

Chocholatý M, Kalousová M, Vasovčák P. Prognostické faktory u karcinomu ledvin. *Vybrané otázky onkologie XVI.* Praha, Galén. 2012;16:43-45.

Chocholatý M, Křepelová A, Vasovčák P, Babjuk M. Array CGH analýza u světlobuněčného karcinomu ledviny. *Česká urologie.* 2011;15, Suppl:70.

Chocholatý M. Prognostické faktory u karcinomu ledvin. *Česká urologie.* 2011;15 (S1): 57-58.

Chocholatý M. Kdy je indikována chirurgická léčba generalizovaného nádoru ledviny?

Vybrané otázky onkologie XIV. Praha, Galén. 2010;14: 94-95.

Chocholatý M, Schmidt M, Jarolím L, Babjuk M, Kawaciuk I. Synchronní bilaterální karcinomy ledviny. Česká urologie. 2010;14(4): 233.

Chocholatý M, Křepelová A, Vasovčák P, Babjuk M. Genetické změny u světlobuněčného karcinomu ledvin, Česká urologie. 2010;14(4): 232.

Chocholatý M, Čechová M, Schmidt M, Havlová K, Koldová M, Jarolím L, Zima T, Kalousová M. EN-RAGE – potenciaální marker světlobuněčného karcinomu ledviny – pilotní studie. Ces Urol 2015; 19(Suppl. B):55.

Koldová M, Kalousová M, Čapek V, Schmidt M, Havlová K, Jarolím L, Chocholatý M. Oros mukoid – nejlepší marker z běžně dostupných laboratorních vyšetření k predikci relapsu onemocnění u pacientů s lokalizovaným světlobuněčným karcinomem ledviny. Ces Urol 2015; 19(Suppl. B):56.

Články nesouvisející s disertací

Bittner L, Chocholatý M, Čechová M, Zima T, Grill R. Vliv volných radikálů na fertilitu muže a možnosti léčby Česká urologie. 2015;19(1)11-18.

Čechová M, Chocholatý M. Erektální dysfunkce. Postgraduální medicína. 2014;16(8):871-878.

Chocholatý M, Čechová M. Rekonstrukční operace u lokalizovaného karcinomu penisu. Lékařské listy. 2014;10:5-6.

Jarolím L, Šedý J, Schmidt M, Jerie J, Bartoníčková K, Chocholatý M. Anatomické aspekty chirurgické konverze pohlaví u pacientek s male-to-female transsexualismem - výsledky hodnocené tři měsíce po výkonu. Česká urologie. 2010;14(1):55-63.

Chocholatý M, Schmidt M, Hanek P, Jarolím L. Etiologie, diagnostika a terapie iatrogeních poranění močovodu při otevřených a laparoskopických operacích. Endoskopie. 2009;18(3):98-102.

Pádr R., Roček M, Rejchrt M, Chocholatý M. Léčebná embolizace vysokoprůtokové arteriovenózní malformace pravé ledviny. Česká radiologie. 2008;62:357-360.

Chocholatý, M. Erektální dysfunkce. Medicína & umění. 2011;5(18):15-20.

