

Oponentský posudek

na disertační práci „*Receptory zúčastněné v regulacích zánětlivé reakce u renálních onemocnění*“

Autor : MUDr. Václav Eis

Oponent : MUDr Zdeňka Zemanová, CSc

Předložená disertační práce na 36 stránkách rozsáhlého a značně heterogenního *Úvodu do problematiky* podrobně seznamuje se základními daty o stádiích chronického onemocnění ledvin, charakteru poškození podocytů a progresi zánětlivého poškození glomerulů v souvislosti s produkcí chemokinů a růstových faktorů – na zvířecích modelech i na lidském materiálu. Dále autor prezentuje literární údaje o působení renin-angiotenzin-aldosteronového systému (RAAS) na cévy v ledvinách, speciálně na činnost glomerulů a také o endotelinu a funkci jeho receptorů v ledvině. Dalším fenoménem, který je zde popsán, je tzv. epiteliální (endoteliální) – mesenchymální přeměna (epiteliální - mesenchymální transdiferenciace) v procesu fibrotizace intersticia ledviny na modelu jednostranného uzávěru ureteru. Nakonec autor uvádí data o účasti chemokinů a jejich receptorů na rozvoji nefropatií a jejich léčbě v rozmezí let 1994-2009 (189 citací použité literatury).

Cílem práce bylo 1) objasnit účast vybraných chemokinových receptorů v chronickém renálním onemocnění (na myších modelech), 2) zjistit podrobnosti o účincích blokády endotelinových receptorů na rozvoj hypertenze (na modelu transgenního potkana). Společným jmenovatelem těchto problematik je snaha najít účinný terapeutický zásah, který by mírnil zánět a zpomaloval progresi tubulointersticiální fibrózy a devastaci glomerulů v ledvinách pokusných zvířat s možností využít dosažených poznatků pro léčbu těchto poruch u člověka.

Výsledky jsou prezentovány v původních článcích z odborných časopisů (6 příloh) s jednovětým anglicky psaným nadpisem a českým komentářem.

Ad 1) Studium úlohy chemokinového receptoru CCR1 ukázalo, že chybění tohoto receptoru vedlo (na rozdíl od knock-out myší bez CCR 5) ke snížení počtu makrofágů a T lymfocytů infiltrujících do intersticia ledviny u myší s podvazem ureteru (3.1) a ke zpomalení rozvoje intersticiální fibrózy vyvolané tímto zásahem. Dále autor se spolupracovníky zjistil, že blokádou chemokinového receptoru CCR1 (aplikací antagonisty BX471), bylo možno zastavit progresi intersticiální fibrózy u lupus-like nefritidy myšího kmene MRL-Fas(1pr), ne však infiltraci (recruitment) leukocytů do glomerulů, ani proteinurii a autoimunní proces (3.2).

Blokáda CCR1 v ledvinách myši s fokální segmentální glomerulosklerosou a nefrotickým syndromem pokusně vyvolanými adriamycinem měla podobný účinek – výrazně snížila hromadění leukocytů v intersticiu a omezila vývoj renální fibrózy, ne však poškození glomerulů a proteinurii (3.3).

Ad 2) Studiem endotelinových receptorů autor se spolupracovníky prokázal, že blokádami selektivního ET_A (pomocí atrasentanu) a neselektivního ET_{A/B} (bosentanem) u homozygotních hypertenzivních Ren-2 transgenních potkanů bylo možno snížit poškození podocytů v glomerulech; atrasentanem bylo navíc dosaženo snížení krevního tlaku (3.4). Úloha endotelinu-1 při rozvoji hypertenze byla studována také u heterozygotních Ren-2 mladých potkanů na normoslané a vysokoslané dietě. Vysokoslaná dieta výrazně zrychlila rozvoj hypertenze a rozvoj orgánového poškození u tohoto kmene. Podávání atrasentanu, selektivního blokátoru ET_A receptoru, výrazně zpomalilo vzestup systolického i středního krevního tlaku a proteinurie – nejen u potkanů na normoslané dietě, ale i u zvířat chovaných na vysokoslané dietě. Léčba bosentanem, neselektivním blokátorem ET_{A/B} receptoru na snižování tlaku neměla vliv (3.5). V pokusech o ovlivnění hypertenze u heterozygotních transgenních TGR(mRen)²⁷ potkanů s již rozvinutou hypertenzí bylo podáváním bosentanu a atrasentanu docíleno podobných účinků jako v předchozí sérii pokusů na dospělých jedincích (3.6). Blokátor ET_A receptoru, atrasentan, způsobil snížení krevního tlaku a proteinurie a výrazně redukoval hypertenzní poškození glomerulů.

Aktuálnost zvoleného tématu

Nefrologická tematika, tak jak je v předložené práci studována je trvale velmi aktuální, protože, jak už bylo zmíněno, je zaměřena na nalezení účinných terapeutických postupů, které by mírnily zánět a zpomalovaly progresi tubulointersticiální fibrózy, která u řady onemocnění vede k totálnímu kolapsu funkce ledvin. Za pozitivní výsledek lze považovat zjištění, že blokáda chemokinového receptoru CCR1 jednoznačně snižuje infiltraci makrofágů a T lymfocytů do intersticia v místě poškození tubulů. Nové rozpracování možnosti jak zabránit vývoji hypertenzního poškození orgánů v časném stadiu onemocnění (tzv. preventivní protokol) potvrdilo, že selektivní blokáda receptoru ET_A má prokazatelný vliv na snížení krevního tlaku a redukcii devastace glomerulů i u mlád'at.

Zvolené vědecké metody zpracování tématu.

Všech uvedených výsledků bylo dosaženo pomocí adekvátních metod a moderních metodických postupů. Morfologické nálezy byly získány vyšetřením světelnou a elektronovou

mikroskopií, pomocí imunohistochemie, morfometrie a *in situ* hybridizace. Dále autoři využívali metod průtokové cytometrie a molekulární biologie, a fyziologické parametry získávali pomocí současných měřicích metod.

Vědecký přínos.

Přínos výsledků získaných MUDr. Eisem lze spatřovat především v tom, že s využitím moderních morfologických, biochemických a molekulárně biologických metod přesvědčivě demonstroval možnosti využití blokace ledvinových receptorů pro chemokiny (CCR1 – antagonistou BX471) a endotelin1 (atrasentanem, ABT-627) s pozitivním účinkem na potlačení rozvoje patologických procesů, jako je tubulointersticiální fibróza a hypertenze.

Komentář k výsledkům je psán srozumitelně, je velmi užitečné, že je na začátku práce uveden seznam používaných zkratk. Text je prakticky bezchybný, vyskytují se jen drobné chyby (např. str.8 – čárka za slovem navíc, str.17 – popis exprese ET_{A,B} je nejasný).

K disertační práci mám jen dva dotazy:

1. Proč ten původně mohutný rozjezd studia chemokinů se slibnými výsledky pro terapii tubulointersticiální fibrózy v současné době prodělává jakýsi útlum ?
2. Je známo, že endotelin je nejsilnější vazokonstriktor. Kde vzniká – lokálně v endotelu nebo centrálně v játrech? Je vazokonstrikce v jednotlivých orgánech určována momentální koncentrací endotelinu v plasmě nebo spíše množstvím endotelinových receptorů v buňkách? Který z těchto faktorů se uplatňuje při regulaci lokálního průtoku krve?

Vzhledem k výše uvedeným skutečnostem se domnívám, že práce MUDr. Václava Eise přináší řadu nových a významných výsledků týkajících se specifických vlastností chemokinových a endotelinových receptorů. Myslím si, že plně splňuje podmínky pro udělení titulu Ph.D. a doporučuji, aby byla přijata k obhajobě a postoupena k dalšímu řízení.



V Praze 4.8.2011

MUDr. Zdeňka Zemanová, CSc.
Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., Praha