

Eis, V., Luckow, B., Vielhauer, V., Sireke, J., Linde, Y., Segerer, S., Perez de Lema, G., Cohen, C. D., Kretzler, M., Mack, M., Horuk, R., Murphy, P. M., Gao, J.-L., Hudkins, K. L., Alpers, C. E., Gröne, H.-J., Schlöndorff, D., Anders, H.-J.: **Chemokine receptor CCR1 but not CCR5 mediates leukocyte recruitment and subsequent renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction.** *J Am Soc Nephrol*, 15, 2004; 2: 337-347.

Práce byla zaměřena na zjištění role chemokinových receptorů CCR1 a CCR5 v infiltraci intersticiálního kompartmentu ledviny a v rozvoji jeho fibrózy. V práci jsme použili model jednostranné obstrukce ureteru, ke studiu efektu receptorů jsme použili CCR1 a CCR5 knock-out myši kmeny a dále blokádu CCR1 nízkomolekulárním antagonistou BX471. Práce ukázala, že chybění nebo blokáda receptoru CCR1 vede ke snížení počtu makrofágů a T lymfocytů infiltrujících do intersticia UUU ledviny u knock-out nebo BX471 léčených myší v porovnání s divokým kmenem myší C57BL/6. Naproti tomu chybění CCR5 nevedlo ke snížení počtu infiltrujících leukocytů. Sledované parametry fibrózy renálního intersticia – počet fibroblastů, objem intersticia, depozice kolagenu a hladina mRNA pro TGF- β 1 – byly u CCR1 deficientních myší v poškozené ledvině sníženy. Chybění CCR5 nevedlo k zabránění rozvoje fibrózy UUU ledviny. Shrnuto, chemokinový receptor CCR1, ale ne CCR5, se účastní leukocytární infiltrace a následné fibrózy intersticia ledviny v modelu jednostranné obstrukce ureteru.

Anders, H.-J., Belemezova, E., Eis, V., Segerer, S., Vielhauer, V., Perez de Lema, G., Kretzler, M., Cohen, C. D., Frink, M., Horuk, R., Hudkins, K. L., Anders, H.-J., Belemezova, E., Eis, V., Segerer, S., Vielhauer, V., Perez de Lema, G., Kretzler, M., Cohen, C. D., Frink, M., Horuk, R., Hudkins, K. L., Alpers, C. E., Mampaso, F., Schlöndorff, D.: **Late onset of treatment with a chemokine receptor CCR1 antagonist prevents progression of lupus nephritis in MRL-Fas(lpr) mice.** *J Am Soc Nephrol*, 15, 2004; 6: 1504-1513.

V této práci byl zkoumán vliv blokády chemokinového receptoru CCR1 antagonistou BX471 na progresi imunokomplexové glomerulonefritidy do chronického renálního selhání. Blokáda CCR1 snížila výrazně množství makrofágů a T lymfocytů infiltrujících do tubulointersticiálního kompartmentu MRL^{lpr/lpr} myší léčených BX471, ale neměla vliv na infiltraci makrofágů do glomerulu ani na rozvoj glomerulonefritidy a tíži proteinurie. Účast CCR1 na infiltraci leukocytů do intersticia ledviny potvrdil i experiment s použitím fluorescenčně značených T lymfocytů inkubovaných s BX471 a nosičem cyklodextrinem nebo samotným nosičem, injikovaných do MRL^{lpr/lpr} myší, kdy leukocyty inkubované s blokátorem CCR1 infiltrovaly intersticiem v daleko

nižším počtu než leukocyty inkubované s cyklodextrinem. Blokáda CCR1 vedla k redukcii intersticiální fibrózy – jak ukázalo vyhodnocení počtu α -SMA pozitivních myofibroblastů v intersticiu, depozice kolagenu I a vyhodnocení hladin mRNA pro kolagen I a TGF- β 1 v ledvinné tkáni.

Vielhauer, V., Berning, E., Eis, V., Kretzler, M., Segerer, S., Strutz, F., Horuk, R., Gröne, H.-J., Schlöndorff, D., Anders, H.-J.: **CCR1 blockade reduces interstitial inflammation and fibrosis in mice with glomerulosclerosis and nephrotic syndrome. *Kidney Int*, 66, 2004; 6: 2264-2278.**

Práce zkoumala efekt blokády CCR1 nízkomolekulárním antagonistou BX471 na myším modelu adriamycinem indukované fokálně segmentální glomerulosklerózy s nefrotickým syndromem a progresivním zánětem intersticia a fibrózou. Expres mRNA pro chemokinový receptor CCR1 a chemokiny CCL3 a CCL5 - ligandy CCR1 - je v ledvinách u toho modelu několikanásobně zvýšená ve srovnání s kontrolní skupinou zvířat. Srovnání ledvin kontrolní skupiny myší a zvířat léčených nízkomolekulárním antagonistou receptoru CCR1 (BX471) ukázaly, že blokáda receptoru CCR1 výrazně snížila počet makrofágů (o 51%) a T lymfocytů (o 22%) infiltrujících do intersticia ledviny. Léčba BX471 snížila rozsah intersticiální fibrózy ledvin (hodnoceno objemem intersticia a počtem intersticiálních fibroblastů). Léčba BX471 neměla žádný efekt na tíži glomerulárního poškození indukovaného adriamycinem ani na hodnoty proteinurie.

Opočenský, M., Kramer, H. J., Bäcker, A., Vernerová, Z., Eis, V., Červenka, L., Čertíková Chábová, V., Tesař, V., Vaněčková, I.: **Late-onset endothelin-A receptor blockade reduces podocyte injury in homozygous Ren-2 rats despite severe hypertension. *Hypertension*, 48, 2006; 5: 965-971.**

V této práci jsme zkoumali, zda pozdější začátek léčby blokátory ET receptorů u dospělých potkanů s již rozvinutou hypertenzí má stejný protektivní účinek jako léčba zahájená u mladých potkanů. Transgenní homozygotní potkaní samci na vysokoslané dietě byli od 51. do 90. dne života léčeni neselektivním blokátorem ET_{A/B} bosentanem a selektivním blokátorem ET_A atrasentanem. Míra přežívání na konci pokusu (90. den) byla u neléčeného divokého kmene HanSD 93% a nelišila se od přežívání atrasentanem léčených transgenních potkanů. U neléčených transgenních potkanů a u transgenních potkanů léčených bosentanem bylo přežívání signifikantně nižší (50 a 64%). Po zahájení podávání vysokoslané diety a současném zahájení léčby došlo po 60. dni u potkanů léčených atrasentanem k přechodné redukci hypertenze. Léčba atrasentanem výrazně snižovala poškození podocytů nezávisle na tíži

hypertenze, míra poškození silně korelovala s mírou přežívání zvířat. Ze získaných výsledků je zřejmé, že blokáda ET receptorů snižuje orgánové poškození u homozygotních transgenních TGR (mRen2)27 potkanů na vysokoslané dietě. Selektivní blokáda ET_A navíc výrazně zlepšuje přežití a vede k přechodnému snížení krevního tlaku.

Vaněčková, I., Kramer, H. J., Bäcker, A., Schejbalová, S., Vernerová, Z., Eis, V., Opočenský, M., Dvořák, P., Červenka, L.: **Early-onset endothelin receptor blockade in hypertensive heterozygous Ren-2 rats. *Vascul Pharmacol*, 45, 2006; 3:163-170.**

Práce zkoumala roli ET-1 v rozvoji hypertenze u heterozygotních TGR(mRen2)27 potkanů v preventivním protokolu, s důrazem na zjištění možného rozdílu mezi neselektivní ET_{A/B} blokádě (bosentan) a selektivní ET_A blokádou (atrasentan) endotelinových receptorů. Experimenty byly prováděny u mladých potkanů na normoslané a vysokoslané dietě. Bosentan částečně zlepšoval přežití transgenních (TGR) potkanů, TGR potkani léčení atrasentanem přežili všichni. Bosentan neměl vliv na průběh hypertenze, atrasentan signifikantně snižoval krevní tlak potkanů v režimu normoslané i vysokoslané diety. U transgenních potkanů léčených atrasentanem došlo k redukci proteinurie, hypertrofie srdce, glomerulosklerózy a tkáňové koncentrace ET-1. Ze získaných výsledků je zřejmé, že selektivní blokáda ET_A v porovnání s neselektivní ET_{A/B} blokádou výrazně zlepšuje přežití, vede k snížení krevního tlaku a zabránění orgánového poškození.

Vernerová, Z., Kramer, H. J., Bäcker, A., Červenka, L., Opočenský, M., Husková, Z., Vaňourková, Z., Eis, V., Čertíková Chábová, V., Tesař, V., Malý, J., Vaněčková, I.: **Late-onset endothelin receptor blockade in hypertensive heterozygous Ren-2 transgenic rats. *Vascul Pharmacol*, 48, 2008; 4-6:165-173.**

Cílem této práce bylo zjistit úlohu endotelinového systému u samčích heterozygotních transgenních TGR(mRen2)27 potkanů s již rozvinutou hypertenzí. Transgenní a kontrolní HanSD potkani byli od 52. dne života krmeni vysokoslanou dietou. Od stejného dne jim byly podávány buď neselektivní ET_{A/B} (bosentan) nebo selektivní ET_A (atrasentan) blokátory. Atrasentan výrazně zlepšoval přežívání, při podávání bosentanu byla míra přežívání částečně zlepšena. Na konci experimentu se systolický krevní tlak potkanů léčených bosentanem nelišil od tlaku neléčených potkanů, systolický

krevní tlak potkanů léčených atrasentanem byl výrazně nižší. Léčba atrasentanem výrazně redukovala hypertrofii srdce, proteinurii, rozvoj glomerulosklerózy a hladiny ET-1 v levé komoře. Hypertenzní poškození glomerulů na úrovni světelné mikroskopie, na úrovni ultrastrukturální a fenotypové (imunohistochemický průkaz exprese desminu, CD10 a vimentinu) bylo nejvýrazněji patrné u neléčených TGR potkanů, méně výrazné u potkanů léčených bosentanem, a potkani léčení atrasentanem nevykazovali žádné změny glomerulů. Naše výsledky ukazují, že selektivní blokáda receptoru ET_A vykazuje v porovnání s neselektivní blokádou ET_{A/B} receptoru výraznější účinek na snížení hypertenze a v zabránění orgánového poškození. Tento účinek je srovnatelný u heterozygotních TGR s již rozvinutou hypertenzí s účinkem léčby u mladých potkanů s rozvíjející se hypertenzí.