



24th November 2016

Department of Intensive Care Medicine

Nepean Hospital

PO Box 63, Penrith NSW 2751

Tel 47 342 490 Fax 47 343 134

AUSTRALIA

Oponentský posudek k dizertační práci
MUDr. Lenky Valešové

**AKUTNÍ POŠKOZENÍ LEDVIN U KRITICKY NEMOCNÝCH:
EXPERIMENTÁLNÍ A KLINICKÉ PŘÍSTUPY**

Souhrn:

MUDr. Valešová předkládá k obhajobě dizertační práci věnující se naléhavému problému akutního poškození ledvin (AKI) u kriticky nemocných. Práce obsahuje 42 stran včetně citované literatury plus jsou v příloze obsazeny původní vědecké práce publikované nebo přijaté k publikaci v impaktovaných domácích a mezinárodních časopisech. Septické AKI je vzhledem ke stárnutí populace a rostoucí incidenci sepse čím dále častější a výše uvedena práce tak je mimořádně aktuální.

Téma:

Patofyziologie septického AKI (sAKI) není úplně známa. Tradičně je etiologie AKI připisována tkáňové hypoxii a hypovolemii. AKI v sepsi je však multifaktoriální a tradiční mechanismy vysvětlující etiologii AKI neuspokojivé. Na rozvoji renální dysfunkce se podílí celá řada dalších, méně objasněných faktorů. Práce MUDr. Valešové si dala za cíl metodou širokého záběru prozkoumat molekulární a genetické faktory, které mohou k septickému AKI přispívat. V další části práce se MUDr. Valešová věnuje vlivu systémové acidózy jako jednoho z faktorů modulujícího tíži sAKI.

Metody:

Studie, které jsou podkladem předkládané práce jsou provedeny na klinicky relevantním zvířecím modelu (selata) za využití kombinace moderních metod molekulární biologie - genomiky a proteomiky s metodami selektivní monitorace renální mikro a makrocirkulace a systémové hemodynamiky.

Sledovat *in vivo* dynamickou patobiologii septického akutního poškození ledvin je mimořádně obtížné a práce o dynamickém proteomu a genomické odpovědi ledvin během sAKI je tak vpravdě pionýrská a novátorská. Dalším pozitivem práce je porovnání jak hemodynamických tak molekulárních rozdílů mezi zvířaty, která S-AKI vyvinou a těmi, jejichž renální funkce zůstanou v sepsi intaktní. Zde je zřejmý významný posun v dosavadním výzkumu kde jako porovnávaná skupina jsou často použita jen zvířata kontrolní, tozn. bez sepse. Proteomické analýze byly podrobeny biopsie kůry ledvin experimentálních zvířat získané ve třech časových bodech: po zotavení z operace a po 12 a 22 hodinách po indukci sepse infuzí živé *Pseudomonas Aeruginosa*.. V další studii sAKI navozené ligací a perforací tlustého střeva nebo infuzí *Pseudomonas Aeruginosa* autorka s kolektivem provedla paralelní srovnání systémové a lokální zánětlivé odpovědi s genovou expresí během sAKI, opět metodologicky novátorský a vysoce aktuální počin.

Rovněž vliv akutní metabolické a hyperkapnické acidózy na systémovou a regionální hemodynamiku a jejich případný protektivní vliv na rozvoj sAKI byl studován na velkém zvířecím modelu s využitím kombinace tradičních hemodynamických monitorovacích metod a molekulární biologie.

Výsledky a přínos

Práce Dr. Valešové předkládá celou řadu nových poznatku týkajících se patofyziologie akutního renálního selhání v sepsi. Co se týče přínosu k porozumění oběhových parametru na rozvoj sAKI práce

prokázala korelaci systémové zánětlivé odpovědi s renální vasokonstrikcí a s poklesem průtoku krve ledvinami. Také renální kortikální mikrocirkulace u sAKI byla významně alterována.

Ojedinelá dynamická analýza proteomu ledvin na klinicky relevantním velkém zvířecím modelu sérii renálních biopsií odhalila časnou elevaci markerů oxidačního stresu a proteinů tepelného šoku. Tyto fungují jako "danger associated molecular patterns" (DAMP) předcházející změnám renální hemodynamiky a poruše funkce ledvin a lze předpokládat, že jsou zodpovědné za lokální amplifikaci a propagaci inflamatorního signálu čímž přispívají k časnému poškození mikrovaskulatury a tubulu ledvin. Celkově sepse vyvolala změny 21 proteinů. Mimo již uvedených se jednalo o proteiny odrážející stres endoplazmatického retikula, a proteiny spojené s buněčným metabolismem a tvorbou ATP.

Rovněž analýza genové odpovědi ledvin na septicky inzult přinesla nové poznatky vcelku v souladu s prací proteomickou. Prokázala zvýšenou expresi genů ovlivňujících zánětlivou signalizaci, intrarenální vazoregulaci a apoptózu a sníženou expresi genů pro mitochondriální metabolismus a biogenezi.

Velmi zajímavým výsledkem práce je pak dokumentace vlivu zánětlivé odpovědi v septické ledvině na buněčný metabolismus spojený s rozvojem sAKI. Téměř třetina sepsí ovlivněných proteinů a celá rada diferenciálně exprimovaných genů byla součástí drah buněčné energetiky. Reprogramování priorit buněčného metabolismu se ukazuje jako zásadní marker poškození organismu v sepsi i když úplné selhání buněčné energetiky v časně fázi orgánového poškození se nezdá být pravděpodobně zodpovědné za orgánové selhání.

Práce proteomická rovněž porovnávala vliv samotné procedury chirurgické instrumentace a/nebo anestezie na proteom ledvin a stanovila tak referenční hodnoty pro změny proteomu u kontrolních zvířat použitelné v budoucnosti u obdobných modelů v základním výzkumu.

Práce o vlivu acidózy na renální cirkulaci potvrdila vcelku minimální vliv na sAKI ačkoliv během respirační acidózy práce zdokumentovala menší efektivitu tvorby ATP v respiračním řetězci.

Otázky na předkladatelku:

1. U použitého zvířecího modelu jste vedle balancovaných krystaloidních roztoků k udržení normovolemie používali také 6% hydroxyethyl škrob (HES). Tomuto roztoku se přičítá vlastní nefrotoxicita. Jaký byl poměr v dávce HES u kontrolních a septických zvířat? Je možné že alespoň část popisovaných efektů AKI lze přičíst na vrub HES?
2. Ve Vaší práci jste zdokumentovala, že na rozvoji sAKI se podílí excesivní systémová inflamace, která je amplifikována v ledvinách. Sekundárně dochází k poruše intrarenální hemodynamiky a mikrocirkulace, mitochondriální dysfunkci a apoptóze. Nakolik si myslíte, že diferenciální exprese proteomu a genomická exprese představují procesy probíhající v zánětlivých buňkách perfundujících a infiltrujičích ledviny a nakolik se jedná o vlastní ledvinné buňky?
3. Čím si vysvětlujete sníženou efektivitu respiračního řetězce navozenou hyperkapnickou acidózou v ledvinných buňkách?

Závěr:

Předkládaná práce MUDr. Valešové k získání titulu PhD splňuje všechny náležitosti dizertační práce a tímto doporučuji práci k obhajobě.

Doc. MUDr. Marek Nalos PhD, FCICM, EDIC
Staff Specialist
Department of Intensive Care Medicine
Nepean Hospital
Senior Lecturer, University of Sydney
Nepean Clinical School