

Resveratrol zlepšuje renální mikrocirkulaci, ochraňuje tubulární epitel a zlepšuje přežívání v myším modelu sepsí indukovaného akutního poškození ledvin

Holfthoff JH, Wang Z, Seely KA, et al. Resveratrol improves renal microcirculation, protects the tubular epithelium, and prolongs survival in mouse model of sepsis-induced acute kidney injury. *Kidney Int* 2012;81:370–378

Sepse je jednou z nejčastějších příčin úmrtí u kriticky nemocných pacientů (v USA cca 750 000 případů, celosvětově kolem 18 mil. ročně). Základem léčebné péče septických nemocných dosud zůstává nespecifická podpůrná léčba. Pokud je indikována časné, zlepšuje orgánovou perfuzi a časnou životní prognózu, ale i u těchto nemocných dosahuje mortalita kolem 30 %. Je proto zřejmé, že zlepšení makrocirkulace není postačující k úpravě mikrocirkulace a k dostatečné ochraně orgánové funkce. Tento poznatek je zásadní, protože mezi tíží mikrocirkulační dysfunkce a mortalitou nemocných je přímá korelace.

Vznik akutního poškození ledvin (AKI) a jeho další progresi do akutního selhání ledvin (ASL) je velmi časté u těžké sepsy a více než zdvojnásobuje riziko úmrtí (mortalita dosahuje téměř 75 %). Experimentální studie u savců prokázaly, že během sepsy se rychle rozvíjí porucha renální mikrocirkulace. Je proto nutné vyvinout nové léčebné postupy, které by výrazně ovlivnily renální mikrocirkulaci, a tak zásadně zlepšily prognózu sepsí indukovaného ASL.

Významným rysem endotoxického typu sepsy je excesivní produkce NO a rozvoj endoteliální dysfunkce se ztrátou cévní reaktivity vedoucí k závažné lokální mikrocirkulační hypoperfuzi s okrskovou tkáňovou hypoxií. Následuje peritubulární tvorba reaktivních kyslíkových a dusíkových metabolitů (RNS). Reakce NO se superoxidem pak vede ke vzniku peroxynitritu, nejúčinnějšího dusíkatého metabolitu, který způsobuje nitraci proteinů, poškozuje DNK a funkci mitochondrií v tubulárních buňkách, které jsou společně kritické pro progresi AKI během sepsy.

Resveratrol (RES) je dietní rostlinný polyfenolický fytoalexin s prokázanými vazodilatačními a antioxidačními účinky, včetně účinku u septického modelu u krys, za podmínky, že byl podán před vznikem sepsy či v jejím samotném začátku. Recentně bylo prokázáno, že RES je potentní scavenger ve vztahu k reaktivnímu peroxynitratu, a tak může ochránit tubulární epitelální buňky.

Cílem komentované studie bylo proto prokázat a blíže analyzovat potenciálně léčebný účinek RES v experimentálním modelu septického střeva. Byl sledován vliv akutně podané dávky RES (10 mg/kg) intraperitoneálně na peritubulární mikrocirkulaci, průtok krve ledvinou (RBF) a glomerulární filtraci (GF). Kontrolní periody byly na začátku, za 6 hodin (počátek rozvoje sepsy), za 12 a 18 hodin (plný rozvoj sepsy) v myším modelu cekální ligace s punkcí (septikémie *E. coli*). V časné fázi této sepsy byl zachycen významný pokles středního arteriálního tlaku (MAP) dosahující dolní hranice hodnot nutných pro zachování renální perfuzní autoregulační, a tedy zachování RBF a GF. Bylo zjištěno, že obě tyto hodnoty signifikantně klesly v korelaci s MAP. Podání RES bylo spojeno s rychlým vzestupem RBF a GF. Účinek na RBF byl zřejmě důsledkem poklesu renální cévní rezistence, neboť samotné podání RES nezvýšilo MAP. Jedním z možných vysvětlujících mechanismů by mohla být i aktivace kaliových kanálů v aferentní a eferentní arteriole. RES tedy bezprostředně zvýšil RBF, ale zvýšení GF bylo

pouze částečné. Zde lze vysvětlení hledat i v přítomném kapilárním leaku (při endoteliální dysfunkci) vedoucím ke snížení tvorby glomerulárního filtrátu. Bylo však prokázáno, že RES snižuje renální vaskulární rezistenci při sepsi a tím významně ochrání tubulární buňky při hemodynamické (prerenální) formě AKI. Tento účinek byl průkazný i za 12 a 18 hodin.

Peritubulární kapilární hypoperfuze vede k rozvoji hypoxického pro-oxidačního mikroprostředí spojeného s tvorbou RNS. Jejich účinkem jsou poškozovány tubulární buňky, porušen tubulo-glomerulární feedback s regulací GF a poškozuje poruchou mikrocirkulace. RES účinkuje jako scavenger peroxynitratu v tubulárních buňkách. Uplatňuje se zřejmě i nepřímý účinek v ovlivnění tvorby superoxidu. Dlouhodobý účinek RES lze vysvětlit i rolí jeho metabolitů (glukuronidy, sultáty). Nově byl prokázán pozitivní účinek RES na funkci mitochondrií a jejich ochranu aktivací deacetylázy sirtuinu 1.

■ KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Teplan, DrSc.

*Akutní renální selhání vzniklé v důsledku gram-negativní sepsy je onemocnění závažné, obtížně léčitelné, a proto často končí fatálně. Vyskytuje se v případech endotoxémie, kdy se endotoxin váže na endotel a leukocyty, kaskádově stoupá tvorba a uvolňování cytokinů do oběhu spojených s periferní vaskulární rezistencí, hypotenzí až septickým šokem. Ve světle multiorgánové dysfunkce představuje AKI určitou hádanku: přes těžký funkční nález jsou morfologické změny tubulárních buněk zprvu nevelké a potenciálně reverzibilní. Při poklesu MAP klesají i hodnoty RBF a GF, ale tyto markery AKI se objevují i při stabilním TK. Navíc, zvýšená hodnota dusíkatých katabolitů se objevuje při endotoxémii *E. coli* i při normálním RBF. V některých případech lze volumovou expanzí v časné fázi obnovit GF, ale v řadě případů se přesto AKI rozvine. Je tedy zřejmé, že endotoxinová sepsis přímo poškozuje ledviny, i když je poškození zprvu mírné (depolarizace tubulárních buněk, v moči přítomna časná enzymurie), a tedy ve většině léčených případů potenciálně reverzibilní. Je zcela zřejmé, že čím dříve léčebný postup začne, tím je jeho účinek výraznější.*

Hlavní otázkou patofyziologického mechanismu poškození je, zda tubulární léze je důsledkem poruchy mikrocirkulace, či primární tubulární léze. A dále, zda poškození je způsobeno přímo endotoxinem, či průvodní zvýšenou produkcí cytokinů (především TNFα), event. i jejich synergismem (endotoxin může přímo indukovat tvorbu TNFα v tubulech).

Holfthoff a spol. v této práci objasnili některé renální vaskulární aspekty sepsy a peritubulární perfuze. V experimentálním modelu podávali intraperitoneálně rostlinný polyfenol resveratrol (RES). Prokázali úpravu snížené hodnoty RBF a částečné zvýšení GF v modelu bakteriální sepsy při cekální ligaci s punkcí. Léčba RES vedla ke snížení tubulárního oxidačního stresu, zvýšení průtoku krve kapilárním řečištěm a snížení toxického vlivu reaktivních dusíkatých metabolitů (RNS). Tubulární epitelie byly ochráněny od vzniku poruch kartáčového lemu, fokální vakuolizace a apoptózy až nekrózy buněk. Na základě těchto dat autoři podporují závěry, že resveratrol ochraňuje tubulární buňky při sepsi především snížením aktivity reaktivních dusíkatých metabolitů (peroxynitrát, iNOS). Maximálního účinku bylo dosaženo při podání intraperitoneálním, perorálním podání – i když v navýšené dávce – mělo účinnost menší.

S jiným vysvětlením přicházejí Tran a spol. Na základě svých experimentálních studií usuzují, že primární determinantou pro průběh septického AKI je poškození tubulárních buněk endoto-

xinem (lipopolysacharid) vedoucí k závažné mitochondriální dysfunkci. Snižuje se PPAR- γ koaktivátor-1 α (PGC-1 α), tj. regulátor mitochondriální biogeneze a také aktivita genů kódujících proteiny nezbytné pro oxidační fosforylaci. Klesá i funkce cytochromové oxidázy a NADH dehydrogenázy v mitochondriích. Mitochondriální dysfunkce byla prokázána i v tubulárních buňkách s dosud minimálními morfologickými změnami. Autoři dovozují, že mitochondriální defekt souvisí se zvýšenou aktivitou reaktivních kyslíkových a dusíkatých metabolitů, a doporučují zaměřit výzkum na vztah mezi mitochondriální dysfunkcí a rolí PGC-1 α .

Z hlediska dalšího výzkumu RES je však také potvrzen jeho pozitivní účinek na PGC-1 α , mitochondriální biogenezi a celulární antioxidační enzymy včetně sirtuinů. Další výzkum by měl přinést poznatky bezprostředně použitelné pro klinickou praxi.

Literatura

Holfhoff JH, Woodling KA, Doerge DR, et al. Resveratrol, a dietary polyphenolic phytoalexin, is a functional scavenger of peroxynitrite. *Biochem Pharmacol* 2010;80:1260–1265.

Hotkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348:138–150.

Matějovič M, Radermacher P, Joannidis M. Acute kidney injury in sepsis: is renal blood flow more than just an innocent bystander? *Intensive Care Med* 2007;33: 1498–1500.

Tran M, Tam D, Bardla A, et al. PGC-1 α promotes recovery after acute kidney injury during systemic inflammation in mice. *J Clin Invest* 2011;121:4003–4014.

Wu L, Gokden N, Mayeux PR. Evidence for the role of reactive nitrogen species in polymicrobial sepsis-induced renal peritubular capillary dysfunction and tubular injury. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:1807–1815.