

Antagonisté endotelinu – nová skupina potenciálně renoprotektivních léků

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Úvod

Chronické onemocnění ledvin s perzistující proteinurií > 1 g/24 hodin má zpravidla progresivní charakter a v závislosti na primární diagnóze musí být významná část pacientů s perzistující proteinurií (pokud dříve nezemřou v důsledku zvýšeného kardiovaskulárního rizika) do deseti let léčena náhradou funkce ledvin. Nejvýznamnější klinickou jednotkou je v rámci proteinurického chronického onemocnění ledvin nepochybně diabetická nefropatie, podobně se ale chová i většina chronických glomerulonefritid, např. IgA nefropatie.

Několik velkých randomizovaných kontrolovaných studií jednoznačně prokázalo, že léčba inhibitory angiotensin konvertujícího enzymu (ACE) nebo blokátory receptorů AT_1 pro angiotensin II (ARB) významně snižují proteinurii i riziko progresu renální insuficience u pacientů s diabetickým (Brenner et al., 2001; Lewis et al., 2001) i nediabetickým (Maschio et al., 1996) onemocněním ledvin. Inhibice systému renin-angiotensin (RAS) snížila ale v citovaných studiích riziko progresu renální insuficience jen o 25–53 %, účinek byl tedy velmi významný, ale renální insuficience u většiny pacientů progredovala i přes léčbu. Recentní studie ukázaly, že sekvenční blokáda RAS nemusí být nutně účinnější a může být spojena se zvýšeným kardiovaskulárním rizikem, zřejmě zejména v důsledku hyperkalémie (Parving et al., 2012).

Je tedy zřejmé, že pro další zpomalení nebo dokonce zastavení progresu chronické renální insuficience je třeba kombinovat inhibitory RAS s léky, které mohou ovlivnit progresi renální insuficience jiným mechanismem. Nadějnou skupinu léků mohou představovat antagonisté endotelinu.

Endotelin a jeho receptory

Endotelin byl objeven v roce 1988 (Yanagisawa et al., 1988) jako látka uvožovaná endotelem se silným vazokonstrikčním účinkem. Postupně byly charakterizovány tři podtypy endotelinu, z nichž pro cévní systém je klinicky nejvýznamnější endotelin-1, byla popsána syntéza a aktivace endotelinu (včetně endotelin konvertujícího enzymu) a již v roce 1990 byly charakterizovány dva hlavní receptory pro endotelin (ET_A a ET_B). První, neselektivní antagonistu endotelinu bosentan byl syntetizován již v roce 1993 a v roce 2001 byl schválen pro léčbu plicní hypertenze (Masaki, 2004).

Receptor ET_A zprostředkovává většinu potenciálně nebezpečných účinků endotelinu, zejména systémovou vazokonstrikci charakterizovanou vzestupem krevního tlaku a proteinurie a retencí soli a tekutin, ale i zvýšenou produkci reaktivních forem kyslíku a stimulaci zánětu a fibrózy, zatímco receptor ET_B přispívá (částečně cestou zvýšené produkce oxidu dusnatého) k vazodilataci, clearance endotelinu z cirkulace a natriurze a diuréze. Zvýšená produkce endotelinu může tedy zejména cestou stimulace receptorů ET_A přispívat k hypertenzi a progresi diabetické nefropatie (Jandeleit-Dahm a Watson, 2012).

Zjednodušeně lze říci, že z hlediska cévní stěny na buňkách endotelu převládají receptory ET_B , zatímco na buňkách hladkého svalstva převládají receptory ET_A . Deendotelizovaná cévní stěna proto reaguje na podání endotelinu silnější vazokonstrikcí než normální cévní stěna se zachovaným endotelem (Rodríguez-Pascual et al.,

2011). Produkce endotelinu v cévní stěně je stimulována mnoha faktory, např. oxidačním stresem, hypoxií, některými cytokiny (např. TNF α), TGF β , ale také např. trombinem a angiotensinem II (Rodríguez-Pascual et al., 2011).

Intracelulárním mediátorem vazokonstrikčních účinků endotelinu zprostředkovaných receptorem ET_A je Ca^{2+} , proliferační a remodelační účinky receptoru ET_A jsou intracelulárně zprostředkovány postupnou aktivací fosfolipázy C, stimulací proteinkinázy C diacylglycerolem a stimulací protoonkogenů c-fos, c-jun (event. i c-myc) a vazodilatační a event. prozánětlivé účinky receptoru ET_B jsou zprostředkovány aktivací fosfolipázy A_2 s následným vznikem tromboxanu A_2 , prostacyklinu a prostaglandinu E_2 (Motte et al., 2006).

Renální účinky endotelinu

V ledvinách je endotelin produkován v cévní stěně, glomerulech (mesangálních buňkách, podocytech) a tubulárních buňkách pod vlivem podobných podnětů jako v systémové cirkulaci, nutno zejména zdůraznit roli angiotensinu II, IL-1, TNF α , TGF β , tromboxanu A_2 , reaktivních forem kyslíku, včetně oxidovaného LDL, hypoxie, hyperglykémie a inzulinu (Kohan, 2010).

Endotel, mesangální buňky, podocyty i buňky tubulů exprimují jak receptor ET_A , tak ET_B . Cestou receptoru ET_A vyvolává endotelin v renálních cévách vazokonstrikci, aktivaci koagulace a přispívá k endotelové dysfunkci, v podocytech snižuje expresi nefrinu, ovlivňuje funkci podocytárního cytoskeletu, vyvolává fuzi pedicel podocytů a přispívá k proteinurii, v mesangálních buňkách vyvolává hypertrofii, stimuluje produkci extracelulární matrix a přispívá ke glomeruloskleróze, v tubulárních buňkách stimuluje transformaci v mesenchymální buňky a přispívá k intersticiální fibróze (Kohan, 2010; Saleh et al., 2013).

Endotelin má významný vliv na zpětnou resorpci sodíku a vody v tubulech. Prostřednictvím receptoru ET_B snižuje aktivitu kotransportu sodíku, draslíku a chloridů (NKCC) ve tlusté části vzestupného raménka Henleho kličky a ve vnitřní části dřeně snižuje ve sběrném kanálku aktivitu epitelového sodíkového kanálu (EnaC) (Speed a Pollock, 2013). Antagonisté endotelinu ovlivnili příznivě průběh různých forem experimentální nefropatie (Dhaun et al., 2012), např. v modelu membranózní nefropatie (Heymannovy nefritidy) přidání endotelinových antagonistů k inhibici systému renin-angiotensin dále snížilo proteinurii a glomerulosklerózu. V modelu streptozotocinem indukované diabetické nefropatie měla kombinace lisinoprilu a antagonisty endotelinu avosentanu větší vliv na proteinurii než samotný lisinopril a kombinace obou látek prakticky eliminovala jinak výraznou glomerulosklerózu (Gagliardini et al., 2009).

Avosentan a diabetická nefropatie

Antiproteinurický účinek relativně málo specifického antagonisty endotelinových receptorů ET_A , avosentan, byl testován u pacientů ve studii fáze II u 286 pacientů s manifestní diabetickou nefropatií (Wenzel et al., 2009). Avosentan (v dávkách 5, 10, 25 a 50 mg) byl přidán ke standardní léčbě inhibitorem ACE nebo blokátorem

receptoru AT₁ pro angiotensin II. Ve srovnání s placebovou větví, ve které stoupla střední proteinurie během 12 týdnů o 12 %, snížil avosentan střední proteinurii ve srovnání se vstupními hodnotami o 29–45 %. Clearance kreatininu se během krátké doby sledování významně nezměnila. Hlavními nežádoucími účinky avosentanu byly periferní otoky (u 12 % pacientů), které se vyskytovaly významně častěji u pacientů užívajících vyšší (≥ 25 mg) dávku avosentanu. V komentáři k této studii (Wenzel a Ritz, 2010) bylo správně zdůrazněno, že u pacientů léčených antagonisty endotelinu je třeba věnovat maximální pozornost sledování tělesné hmotnosti, omezení příjmu sodíku v dietě, event. dle potřeby i diuretické léčbě, ale že by se mělo v dalším klinickém zkoušení avosentanu pokračovat.

Velká studie fáze III, ASCEND (Mann et al., 2010), která měla u pacientů s manifestní diabetickou nefropatií testovat renoprotektivní účinek avosentanu v dávce 25 mg, resp. 50 mg přidaných k léčbě inhibitory ACE/ARB, ale byla předčasně zastavena po střední době čtyř měsíců (maximální doba sledování byla 16 měsíců) pro zvýšený výskyt kardiovaskulárních příhod u pacientů léčených avosentanem. Proteinurie sice klesla v obou avosentanových větvích podstatně více (o 44 %, resp. 49 %) než u pacientů užívajících placebo, nežádoucí účinky vedoucí k předčasnému vysazení studijní medikace se ale vyskytly statisticky významně častěji u pacientů léčených avosentanem než u pacientů na placebo (19,6 % vs. 18,2 % vs. 11,5 %), hlavní příčinou byla retence tekutin a klinické známky srdečního selhání. Komentář věnovaný této studii (Ritz a Wenzel, 2011) dospěl k závěru, že hlavní příčinou retence tekutin byla ve studii ASCEND nízká selektivita avosentanu pro receptor ET_A s inhibicí receptoru ET_B, která způsobila zvýšenou tubulární reabsorpci sodíku.

Mechanismy retence sodíku a tekutin u pacientů léčených antagonisty endotelinu

Jaký je tedy mechanismus retence tekutin u pacientů léčených antagonisty endotelinu? Jak již bylo zdůrazněno, endotelin inhibuje prostřednictvím receptorů ET_B zpětnou resorpci sodíku v tlusté části vzestupného raménka Henleho kličky (inhibice NKCC) a zejména ve sběrném kanálku ve vnitřní části dřeně (inhibice ENaC) (Speed a Pollock, 2013). K natriuretickému účinku endotelinu navíc přispívá i endotelinem stimulovaná produkce NO ve sběrném kanálku (Hyndman a Pollock, 2013). Stupeň inhibice receptorů ET_B závisí zejména na selektivitě endotelinového antagonisty pro receptor ET_A.

Atrasentan – vysoce selektivní antagonist receptoru ET_A

Současná blokáda receptorů ET_A i ET_B je tedy na úrovni ledvin potenciálně nevýhodná. Příznivé účinky na glomerulární hemodynamiku a inhibice zánětu a fibrózy zprostředkovaná bloádou receptoru ET_A může být do značné míry neutralizována nežádoucími účinky, zejména retencí tekutin, které jsou důsledkem inhibice receptoru ET_B. Progrese renální insuficience je spojena se zvýšenou produkcí endotelinu i zvýšenou aktivací receptoru ET_B. Neselektivní antagonisté endotelinu proto mohou vyvolávat výraznou retenci tekutin, zejména u pacientů s pokročilou renální insuficiencí.

Vysoce selektivní antagonisté receptoru ET_A by měli mít anti-proteinurický a renoprotektivní účinek s výrazně menším rizikem nežádoucí retence sodíku a tekutin. Selektivní antagonisté receptorů ET_A stimulují receptor ET_A minimálně stokrát více než receptor ET_B. Pro bosentan je tento index selektivity jen 20 : 1 a pro avosentan zhruba asi 50 : 1. Atrasentan patří mezi vysoce selektivní antagonisty receptoru ET_A s indexem selektivity vyšším než 1 000 : 1 (Motte et al., 2006).

Vliv atrasentanu na proteinurii byl testován ve studii fáze II u 89 převážně hispánských obézních pacientů s manifestní diabetickou nefropatií (poměr albumin/kreatinin 100–3 000 mg/g) s mírně až středně sníženou glomerulární filtrací (odhadovaná GF > 20 ml/min/1,73 m²) (Kohan et al., 2011). Atrasentan byl podáván v jednotlivých větvích v dávkách 0,25 mg, 0,75 mg a 1,75 mg a srovnáván s placebem. Ve všech větvích byl atrasentan (nebo placebo) přidáván k základní léčbě inhibitory ACE. V dávce 0,75 mg a 1,75 mg atrasentan ve srovnání s placebem po osmi týdnech podávání signifikantně snížil proteinurii. Poměr albumin/kreatinin klesl v placebové větví o 11 % a u pacientů léčených atrasentanem v závislosti na dávce o 21 %, 42 % a 35 %. Antiproteinurická odpověď byla větší u Hispánců než u pacientů jiného etnika. Periferní otoky se vyskytly u 9 % pacientů v placebové větví a v závislosti na dávce u 14 %, 18 % a 46 % pacientů léčených atrasentanem. Retence tekutin neměla žádný vztah k antiproteinurickému účinku atrasentanu. Edémy se vyskytovaly časně, u 62 % pacientů v prvních čtyřech týdnech podávání atrasentanu (Andress et al., 2012). Nejvyšší dávka atrasentanu snížila také ve srovnání s placebem o 24 % močovou exkreci NGAL, atrasentan by tedy mohl mít příznivý dopad nejen na glomerulární hemodynamiku, ale také přímý protektivní účinek na renální tubuly.

Na kongresu ERA-EDTA v Istanbulu byly v květnu 2013 publikovány výsledky studie RADAR, jejímž hlavním investigátorem byl D. de Zeeuw. V této studii fáze IIb byl testován vliv atrasentanu (v dávce 0,75 mg a 1,25 mg) na proteinurii u 153 evropských a 58 asijských pacientů s manifestní diabetickou nefropatií. Po 12 týdnech klesla proteinurie u pacientů na placebo o 2 % a u pacientů na atrasentanu v závislosti na dávce o 36 %, resp. 44 %. K alespoň 30% poklesu proteinurie došlo u 51 %, resp. 55 % pacientů léčených atrasentanem. Krátkodobá léčba atrasentanem neměla ve srovnání s placebem žádný významný vliv na glomerulární filtraci. Periferní edémy se u pacientů léčených atrasentanem nevyskytovaly častěji než u pacientů na placebo. Atrasentan měl nejlepší poměr účinnosti a bezpečnosti v dávce 0,75 mg, a tato dávka byla proto vybrána pro další testování v klinické studii fáze III.

Multicentrická randomizovaná dvojité zaslepená, placebem kontrolovaná studie fáze III SONAR (Study of Diabetic Nephropathy with Atrasentan) by měla randomizovat cca 4 418 pacientů s manifestní diabetickou nefropatií (poměrem albumin/kreatinin > 300 mg/g a odhadovanou glomerulární filtrací 25–75 ml/min/1,73 m²) na podkladě diabetu 2. typu léčených maximální tolerovanou dávkou inhibitoru RAS k léčbě atrasentanem v dávce 0,75 mg jednou denně nebo podávání placebo (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01858532>). Pacienti budou stratifikováni do dvou větví dle redukce proteinurie po šesti týdnech podávání atrasentanu nebo placebo (pacienti se snížením proteinurie ≥ 30 % a pacienti se snížením proteinurie < 30 %, očekává se cca 3 150 responderů a 100 non-responderů). Primárním sledovaným parametrem bude čas do kombinovaného renálního ukazatele (zdvojnásobení sérové koncentrace kreatininu nebo vývoj terminálního chronického selhání ledvin vyžadujícího náhradu funkce ledvin). Sekundárními sledovanými parametry bude albuminurie a kardiovaskulární morbidita/mortalita (čas do kardiovaskulární smrti nebo nefatálního infarktu myokardu či nefatální cévní mozkové příhody). Očekává se, že studie bude (dle počtu primárních ukazatelů) trvat cca 48 měsíců.

Závěry

Dosavadní studie prokázaly, že antagonisté endotelinu významně snižují proteinurii a měli by být renoprotektivní. Pokud bude kombinace inhibice RAS a endotelinu dlouhodobě dobře tolerována,

lze očekávat na základě výrazného antiproteinurického účinku i významný účinek renoprotektivní.

Ve studii SONAR je primárním cílovým parametrem renální účinek ET_A selektivního antagonisty endotelinu atrasentanu. Retence tekutin, která je hlavním nežádoucím účinkem neselektivních antagonistů endotelinu, souvisí s inhibicí receptoru ET_B a je u selektivních antagonistů receptoru ET_A podstatně méně vyjádřena. Přesto je ve studii SONAR možné retenci tekutin, její prevenci, monitoraci a léčbě věnována velká pozornost, která by měla umožnit její bezpečné ukončení. Potřeba pokroku v renoprotektivní léčbě je opravdu naléhavá, od studií prokazujících renoprotektivní účinek inhibitorů ACE a ARB uplynulo již více než deset let a kromě většího použití inhibice RAS v klinické praxi v poslední době k žádnému pokroku v renoprotektivní léčbě nedošlo.

Literatura

Andress DL, Coll B, Pritchett Y, et al. Clinical efficacy of the selective endothelin A receptor antagonist, atrasentan, in patients with diabetes and chronic kidney disease (CKD). *Life Sci* 2012;91:739–742.

Brenner BM, Cooper ME, de Zeeuw D, et al. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med* 2001;345:861–869.

Dhaun N, Webb DJ, Kluth DC. Endothelin-1 and the kidney – beyond BP. *Br J Pharmacol* 2012;167:720–731.

Gagliardini E, Corna D, Zoja C, et al. Unlike each drug alone, lisinopril if combined with avosentan promotes regression of renal lesions in experimental diabetes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297:1448–1456.

Hyndman KA, Pollock JS. Nitric oxide and the A and B of endothelin of sodium homeostasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2013;22:26–31.

Jandeleit-Dahm KA, Watson AM. The endothelin system and endothelin receptor antagonists. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2012;21:66–71.

Kohan DE. Endothelin, hypertension and chronic kidney disease: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010;19:134–139.

Kohan DE, Pritchett Y, Molitch M, et al. Addition of atrasentan to renin-angiotensin system blockade reduces albuminuria in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:763–772.

Lewis EJ, Hunsicker LG, Clarke WR, et al. Renoprotective effect of the angiotensin-receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2001;345:851–860.

Mann JF, Green D, Jamerson K, et al. Avosentan for overt diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:527–535.

Masaki T. Historical review: endothelin. *Trends Pharmacol Sci* 2004;25:219–224.

Maschio G, Alberti D, Janin G, et al. Effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor benazepril on the progression of chronic renal insufficiency. The Angiotensin-Converting-Enzyme Inhibition in Progressive Renal Insufficiency Study Group. *N Engl J Med* 1996;334:939–945.

Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacol Ther* 2006;110:386–414.

Parving HH, Brenner BM, McMurray JJ, et al. Cardiorenal endpoint in a trial of aliskiren for type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2012;367:2204–2213.

Ritz E, Wenzel R. Endothelin antagonists in proteinuric renal disease: every rose has its thorn. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:392–394.

Ritz E, Wenzel RR. Endothelin antagonist as add-on treatment for proteinuria in diabetic nephropathy: is there light at the end of the tunnel. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:593–595.

Rodríguez-Pascual F, Busnadiego O, Lagares D, et al. Role of endothelin in the cardiovascular system. *Pharmacol Res* 2011;63:463–472.

Saleh MA, Sandoval RM, Rhodes GJ, et al. Chronic endothelin-1 infusion elevates glomerular sieving coefficient and proximal tubular albumin reuptake in the rat. *Life Sci* 2012;91:634–637.

Speed JS, Pollock DM. Endothelin, kidney disease, and hypertension. *Hypertens* 2013;61:1142–1145.

Wenzel RR, Littke T, Kuranoff S, et al. Avosentan reduces albumin excretion in diabetics with macroalbuminuria. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:655–664.

Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411–415.