

## Tradiční a netradiční pohled nefrologa na využití inhibitorů mTOR

MUDr. Marek Novotný

Klinika nefrologie, Transplantcentrum IKEM, Praha

### Úvod

Inhibitory mTOR jsou látky strukturálně příbuzné makrolidovým antibiotikům schopné tlumit aktivitu serin/threoninové kinázy mTOR, která je centrální křižovatkou regulace buněčného cyklu. Všeobecné antiproliferační vlastnosti těchto látek je činí atraktivními pro výzkum a klinickou praxi napříč obory medicíny. Z pohledu nefrologa je jejich neznámější indikací kombinovaná imunosupresivní terapie příjemců orgánových transplantací, ale v rámci výzkumu byly testovány také u polycystické choroby ledvin a z klinického i patofyziologického pohledu je velice zajímavé jejich použití při léčbě renálních angiomyolipomů u komplexu tuberózní sklerózy (TSC). Na pomezí nefrologie a onkologie stojí využití inhibitorů mTOR při léčbě renálního karcinomu. Potenciální využití u dalších onkologických stavů je v současné době intenzivně klinicky studováno a dále přesahuje rámec tohoto článku.

### Mechanismus účinku inhibitorů mTOR

Kináza mTOR představuje evolučně konzervovanou serin/threoninovou kinázu skládající se ze dvou multiproteinových komplexů mTORC1 a mTORC2. Ačkoli mají oba komplexy odlišnou regulaci, podílejí se na integraci signálů o stavu nutriční a působení růstových faktorů a tím zásadním způsobem ovlivňují růst, diferenciaci a migraci buněk.

Inhibitory mTOR kinázy první generace jsou látky strukturálně příbuzné makrolidovým antibiotikům poprvé izolovaným v 70. letech 20. století z bakteriální kultury *Streptomyces hygroscopicus* nalezené v blízkosti ostrova Rapa Nui (odtud název rapamycin, syn. sirolimus). Rapamycin a látky od něj odvozené (tzv. rapaloga, nejznámější everolimus) jsou schopné vazbou na protein FKBP12 inhibovat signalizaci komplexu mTORC1, komplex mTORC2 přímo rapalogy ovlivněn není (Tran et al., 2015).

### Imunosupresivní účinky a využití v transplantologii

Inhibitory mTOR kinázy rozšířily portfolio látek využitelných v kombinované imunosupresivní terapii příjemců orgánových transplantací. V současné době jsou ceněny zejména pro svůj antiproliferační účinek. Nejprve byly testovány v kombinaci s cyklosporinem A (CyA) a prokázaly značný antirejekční účinek. Avšak již z pokusů na zvířecích modelech v polovině devadesátých let 20. stol. bylo známo, že sirolimus potencuje nefrotoxicitu CyA (Andoh et al., 1996). Toto pozorování bylo opakovaně potvrzeno i v klinických studiích u pacientů po transplantacích solidních orgánů a od současného použití sirolimu a CyA se ustoupilo (Mota et al., 2004). Dále byly studovány režimy, ve kterých inhibitor mTOR nahrazuje kalcineurinové inhibitory (CNI). Z hlediska nynějších poznatků se podání inhibitorů mTOR jako imunosupresiva nahrazujícího CNI ihned po transplantaci nejeví rozumné. Významnou klinickou studií, která nabízí srovnání čtyř alternativ imunosupresivní terapie, je studie Symphony (Ekberg et al., 2007). V této práci bylo 1 645 pacientů randomizováno k léčbě mykofenolátem a dále k užívání CyA (ve sníženém a standardním dávkování), tacrolimu nebo sirolimu. Ve skupině pacientů užívajících sirolimus byla pro-

kázána nejvyšší míra rejekce (37,2 %) a nejnižší jednorocní přežití štěpu (89,3 %). Nejlepší výsledky byly pozorovány ve skupině užívající tacrolimus (incidence rejekce 12,3 % a jednorocní přežití štěpu 94,2 %). Tato pozorování byla potvrzena i dalšími studiemi. Například studie ORION (Flechner et al., 2011) také dokazuje významně vyšší incidenci akutní rejekce ve skupině pacientů randomizovaných k užívání sirolimu v kombinaci s mykofenolátem a kortikoidy (incidence rejekce v jednoletém horizontu 31 %) oproti skupinám užívajícím tacrolimus s mykofenolátem a kortikoidy (riziko 8,2 %) nebo tacrolimus se sirolimem a kortikoidy (riziko 15 %). Studie byla kvůli tomuto statisticky vysoce signifikantnímu rozdílu předčasně ukončena. Potransplantační konverze z léčby CNI na podávání inhibitorů mTOR je také pravděpodobně spojena s vyšším rizikem tvorby *de novo* dárcovsky specifických protilátek (DSA) (Croze et al., 2014). Za významný rizikový faktor pro detekci *de novo* DSA byla shledána konverze na inhibitory mTOR do jednoho roku od transplantace (HR 4,5), na druhou stranu u pacientů konvertovaných po jednom roce zvýšené riziko tvorby DSA zaznamenáno nebylo.

Konverze na léčbu inhibitory mTOR se často provádí u pacientů s maligním onemocněním. Pozoruhodné výsledky jsou publikovány například v metaanalýze 21 randomizovaných studií vydané před rokem (Knoll et al., 2014) a hodnotící data od téměř 6 000 osob. U pacientů užívajících inhibitor mTOR bylo potvrzeno o 40 % nižší riziko malignity. Překvapivým zjištěním byla významně vyšší mortalita u této skupiny pacientů (HR 1,38), a to z neonkologických příčin. Především byla zvýšena mortalita kardiovaskulární a na infekční onemocnění, zejména ve skupině příjemců ledvin od marginálních dárců, oproti tomu mortalita osob, které podstoupily transplantaci od žijícího dárce, byla srovnatelná s jinými imunosupresivními režimy.

Další výzkum je zjevně nutný k objasnění ideálního využití inhibitorů mTOR u příjemců transplantovaných orgánů. V současnosti probíhá open-label studie TRANSFORM (Pascual et al., 2014) hodnotící vliv režimu everolimus v kombinaci se sníženou dávkou tacrolimu a steroidy oproti standardnímu režimu tacrolimus s mykofenolátem a steroidy. Kombinaci tacrolimu s everolimem užíváme pro její vysoký imunosupresivní potenciál také jako záchrannou terapii u pacientů s opakovanými závažnými rejekčními nálezy.

Zajímavé bylo pozorování účinku inhibitorů mTOR u pacientů po transplantaci ledviny s antifosfolipidovým syndromem (APS) (Canaud et al., 2014). Autoři sérií pokusů prokázali *in vitro* zvýšenou aktivitu mTOR kinázy v cévách pacientů s APS. Tato elevace aktivity dráhy mTOR kinázy byla následně prokázána na buněčných kulturách kultivovaných se séry pacientů s APS. Na základě těchto pozorování autoři provedli retrospektivní analýzu databáze transplantovaných pacientů s APS užívajících inhibitory mTOR ve srovnání s CNI. Ve skupině pacientů s APS užívajících inhibitory mTOR (10 osob) bylo pozorováno 70% přežití štěpu ve 12letém sledování oproti skupině pacientů s APS užívajících CNI (27 osob), kde bylo přežití štěpu pouze 11%.

## Výzkum využití inhibitorů mTOR u osob s polycystickou chorobou ledvin

Polycystická choroba ledvin (PCL) je jednou z nejvýznamnějších příčin renálního selhání. Pokusy na zvířatech prokázaly vliv inhibitorů mTOR na zpomalení progresu velikosti cyst. Také data u transplantovaných pacientů s PCL užívajících sirolimus prokázala zpomalení progresu velikosti cyst ledvin i jater. Následně byla provedena velká mezinárodní studie kontrolovaná placebem, které se zúčastnilo 433 pacientů (Walz et al., 2010). Po dvou letech léčby bylo prokázáno zpomalení progresu velikosti renálních cyst ve skupině léčené everolimem. Celkový objem ledvin se zvýšil o 230 ml v léčené skupině a o 301 ml ve skupině placebové. Nebyl však pozorován významnější rozdíl v poklesu glomerulární filtrace (GF). Ve skupině léčené everolimem došlo ke snížení GF o 8,9 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, u pacientů užívajících placebo bylo zaznamenáno snížení GF o 7,7 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> za dva roky. Z tohoto důvodu se inhibitory mTOR v léčbě pacientů s PCL neprosadily.

## Léčba renálních angiomyolipomů u komplexu tuberózní sklerózy

Komplex tuberózní sklerózy (TSC) je autosomálně dominantně děděné onemocnění s prevalencí asi jeden nemocný na 10 000 obyvatel. Onemocnění je charakterizováno tvorbou nezhoubných nádorů typu hamartomů potenciálně v kterékoli tělesné tkáni, nejčastěji však v CNS, na kůži a v ledvinách. Patofyziologicky je onemocnění podmíněno mutací v jednom z tumor supresorových genů TSC 1 a TSC 2 umístěných na chromosomech 9 a 16. Jejich proteinové translační produkty hamartin a tuberin tvoří komplex inhibující aktivitu mTOR kinázy. Využití inhibitorů mTOR jako protiváhy patologické aktivace mTOR kinázy u komplexu tuberózní sklerózy se proto jeví jako velmi nadějný způsob léčby (Crino et al., 2006).

Renální patologie postihuje až 80 % nemocných s komplexem tuberózní sklerózy, nejčastěji je pozorován výskyt angiomyolipomů ledvin a renálních cyst. Angiomyolipomy ledvin u komplexu tuberózní sklerózy jsou často vícečetné a mají tendenci k progresi s postupujícím věkem. Nemocné tak výrazně ohrožují rizikem krvácení, které je, pokud angiomyolipom dosáhne velikosti více než 4 cm, okolo 50 %. Dalšími závažnými zdravotními komplikacemi přítomnosti renálních angiomyolipomů jsou bolesti beder a břicha a v nejméně závažných případech pak plně rozvinutý útlakový syndrom a renální selhání. Je proto nutné pacienty s TSC pravidelně dispenzarizovat a v případě progresu renálního postižení nabídnout takový terapeutický zásah, který povede ke stabilizaci onemocnění a sníží riziko komplikací (Krueger et al., 2012).

Výsledky využití inhibitorů mTOR u pacientů s renálním postižením při TSC byly poprvé publikovány v roce 2008 (Bissler et al., 2008). Jednalo se o „proof of concept“ studii, do které bylo zařazeno 25 pacientů, jimž byl po dobu jednoho roku podáván sirolimus. Při jednorozhodné léčbě došlo ke snížení objemu renálních angiomyolipomů na 53 % původního objemu. Následně byla tato kohorta pacientů sledována po dobu dalších 12 měsíců po vysazení léčby a byla pozorována opětovná progresu velikosti renálních angiomyolipomů na 86 % původního objemu. Největší a nejdéle pokračující studii zkoumající vliv inhibitorů mTOR na velikost renálních angiomyolipomů je v současné době studie EXIST-2 (Bissler et al., 2013). Jde o multicentrickou, placebem kontrolovanou studii. Léčba everolimem byla nabídnuta 79 pacientům. Kontrolní skupinu tvořilo 39 pacientů. Uspořádání studie umožňovalo v případě progresu onemocnění odtajnit užívanou medikaci a přejít do ramene s everolimem. Primární cíl studie byl definován jako 50% snížení objemu angio-

myolipomů a v základní fázi jej dosáhlo 42 % pacientů v rameni s everolimem a 0 % pacientů užívajících placebo. Při ukončení základní fáze studie bylo pacientům, kteří nadále užívali everolimus, nabídnuto pokračování léčby v prodloužené fázi studie a při mediánu trvání léčby 29 měsíců dosáhlo 50% zmenšení tumorů 64,5 % pacientů a více než 30% zmenšení až 82 % pacientů (Bissler et al., 2015).

## Nežádoucí účinky a bezpečnostní profil léčby

Podávání inhibitorů mTOR s sebou nepochybně nese řadu rizik a nežádoucích účinků. Ve většině doporučení je upozorňováno na přínos pravidelného monitorování koncentrace léčivé látky, ačkoli ne vždy je to nutnou podmínkou. Většinu nežádoucích účinků se povede zvládnout v ambulantním režimu snížením nebo dočasným vynecháním dávky a často se daří po zvládnutí stavu k léčbě vrátit.

Běžným nežádoucím účinkem, který limituje maximální podávanou dávku, je aftózní stomatitida, u pacientů léčených s renálním karcinomem byla hlášena až 60% incidence (Kaplan et al., 2014). Mezi další časté nežádoucí účinky spojené s kůží a sliznicemi patří akneiformní rash a pruritus.

Významným nežádoucím působením inhibitorů mTOR u transplantovaných pacientů je zhoršené hojení ran. I tento nežádoucí účinek je zřejmě závislý na podané dávce a při dávkování 1,5 mg everolimu časně po transplantaci nebyl oproti podávání kyseliny mykofenolové zaznamenán významnější rozdíl ve výskytu chirurgických komplikací po transplantaci ledviny (Cooper et al., 2013).

U pacientů léčených rapalogy jsou běžné také poruchy metabolismu lipidů. V populaci pacientů s tuberózní sklerózou jsou hlášeny u 11–52 % pacientů po zahájení léčby. Obvykle jsou poruchy metabolismu lipidů považovány za zvládnutelné běžnou léčbou hypolipidemiky (Somers et al., 2014).

Zvýšená náchylnost k infekcím u transplantovaných pacientů je vzhledem k užívání kombinace imunosupresivních látek a indukční léčbě nepochybná a všeobecně známá, otevřenou otázkou zůstává, nakolik extrapolovat klinická data u této skupiny nemocných na pacienty užívající monoterapii inhibitorem mTOR. U pacientů s TSC lze informace získat ze studií EXIST-1 a EXIST-2 kontrolovaných placebem (celkem 157 pacientů léčených everolimem a 77 pacientů užívajících placebo). Výskyt hodnocených infekčních komplikací byl v zásadě srovnatelný u infekcí horních cest dýchacích a infekcí močových cest, vyšší byl výskyt průjmů ve skupině léčené everolimem, není však známo, zda šlo o průměrnou infekční etiologii.

Pneumonitida indukovaná užíváním inhibitorů mTOR bývá ve většině případů subklinickým nálezem na snímku hrudníku. U onkologicky nemocných se údajně vyskytuje až ve 14 % případů, u pacientů po transplantaci ledviny je známa spíše z kasuistických sdělení (Kaplan et al., 2014).

Nepříznivý vliv inhibitorů mTOR na reprodukční zdraví je doložen u obou pohlaví. U mužů byla zjištěna snížená koncentrace testosteronu, azoospermie, snížené množství ejakulátu a poruchy erekce. U žen se vyskytly poruchy menstruačního cyklu a vznik ovariálních cyst.

Otevřenou otázkou pak je vliv dlouhodobého užívání inhibitorů mTOR u pacientů dětského věku. Léčba inhibitory mTOR je u pacientů s TSC s postižením CNS indikována již od tří let věku.

## Literatura

Andoh TF, Lindsley J, Franceschini N, et al. Synergistic effects of cyclosporine and rapamycin in a chronic nephrotoxicity model. *Transplantation* 1996;62:311–316.

Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E, et al. Everolimus for renal angiomyolipoma in patients with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangiomyomatosis (EXIST-2): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2013;381:817–824.

Bissler JJ, Kingswood JC, Radzikowska E, et al. Everolimus for renal angiomyolipoma in patients with tuberous sclerosis complex or sporadic lymphangiomyomatosis: extension of a randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant* 2015, pii: gfv249 (Epub ahead of print)

Bissler JJ, McCormack FX, Young LR, et al. Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangiomyomatosis. *N Engl J Med* 2008;358:140–151.

Cooper M, Wiseman AC, Zibari G, et al. Wound events in kidney transplant patients receiving de novo everolimus: a pooled analysis of three randomized controlled trials. *Clin Transplant* 2013;27:E625–635.

Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med* 2006;35:145–156.

Croze L, Tetaz R, Roustit M, et al. Conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors increases risk of de novo donor-specific antibodies. *Transp Int* 2014;8:775–783.

Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demibras A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007; 357: 2562–2575.

Flechner SM, Glyda M, Cockfield S. The ORION study: comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Am J Transpl* 2011;11:1633–1644.

Kaplan B, Quazi Y, Wellen JR. Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transpl Rev* 2014;28:126–133.

Knoll GA, Kokolo MB, Mallick R, et al. Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Br Med J* 2014;349:g7543.

Krueger DA, Northrup H. Tuberous sclerosis complex surveillance and management: recommendations of the 2012 international tuberous sclerosis complex consensus conference. *Pediatr Neurol* 2013;49:255–265.

Mota A, Arias M, Taskinen EI, et al. Sirolimus-based therapy following early cyclosporine withdrawal provides significantly improved renal histology and function at 3 years. *Am J Transplant* 2004; 4:953–961.

Pascual J, Srinivas TR, Chadban S, et al. TRANSFORM: a novel study design to evaluate the effect of everolimus on long-term outcomes after kidney transplantation. *Open Access J Clin Trials* 2014;6:45–54.

Somers MJG, Paul E. Safety considerations of mammalian target of rapamycin inhibitors in tuberous sclerosis complex and renal transplantation. *J Clin Pharmacol* 2014; 20:1–9.

Tran LH, Zupanc ML. Everolimus treatment in individuals with tuberous sclerosis complex: a review of the current literature. *Pediatric Neurol* 2015;53:23–30.

Walz G, Budde K, Mannaa M. Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2010;363:830–840.