

Další studie ukazující na možný vliv inhibice chemokinů CCL2 na vývoj diabetické nefropatie

Menne J, Eullberg D, Beyer D, et al.

C-C motif-ligand 2 inhibition with emapticap pegol (NOX-E36) in type 2 diabetic patients with albuminuria. Nephrol Dial Transplant 2017;32:307–315.

Protein atrahující monocyty (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1, podle nové terminologie CCL2) blokuje chemotaxi a aktivaci monocytů. Preklinické studie u diabetických myší ukázaly, že inhibice receptoru CCR2 pro CCL2 snižuje glykemii, snižuje inzulinorezistenci a albuminurii.¹ Protein atrahující monocyty také stimuluje infiltraci ledvin makrofágy a přispívá tím k zánětlivým změnám, které jsou pro diabetickou nefropatii charakteristické. Močová exkrece CCL2 je u žen diabetiček zvýšena ještě před vývojem nefropatie.^{2,3}

V *Postgraduální nefrologii* 3/2015 jsem měl možnost komentovat studii, která ukázala příznivý vliv perorálního inhibitoru CCR2 receptoru CCX140-B na albuminurii u proteinurických pacientů s diabetem 2. typu.⁴ Jak bude ještě dále diskutováno, příznivý vliv zejména vyšší dávky CCX140-B byl limitován vzestupem sérových koncentrací CCL2. Nabízí se tedy otázka, jak by bylo možno aktivaci systému CCL2-CCR2 využít ještě účinněji, eventuálně zda by nebyla nejlepší sekvenční blokáda systému CCL2-CCR2, např. na více úrovních.

Emapticap je CCL2 antagonistující L-RNA syntetický oligonukleotidový aptamer (spiegelmer) složený ze 40 L-nukleotidů (které se v přírodě nevyskytují), který váže CCL2 s vysokým stupněm afinity i specificity. Spiegelmer je syntetický oligonukleotid vytvořený z L-nukleotidů. Aptamery váží s vysokou afinitou a selektivitou různé cílové molekuly, příklady mohou být emapticap pegol (anti-CCL2), olaptased pegol (anti-CXCL12) a lexaptepid pegol (anti-hepcidin), které jsou nyní testovány v různých studiích fáze II.⁵

Emapticap se nehybridizuje se žádnými jinými úseky nukleových kyselin a neovlivňuje přímo imunitní odpověď. Ve studiích *in vivo* u jednostranně nefrektomovaných db/db myší s diabetem snížil emapticap infiltraci glomerulů makrofágy o 40 %, zmírnil rozvoj difúzní glomerulosklerózy a inhiboval pokles glomerulární filtrace.⁶ Vliv byl tedy u db/db myší podobný jako inhibice CCR2.^{1,7–9} Bezpečnost emapticapu byla prokázána u lidí ve studii fáze I.^{5,10}

Komentovaná studie fáze IIa randomizovaně rozdělila (emapticap vs. placebo v poměru 2 : 1) 76 pacientů s diabetem mellitus 2. typu (HbA_{1c} 6–10,5 % dle Diabetes Control and Complications Trial [DCCT]), kteří pocházeli z pěti evropských zemí včetně České republiky, k nejméně tři měsíce trvajícím podávání stabilní antidiabetické, antihypertenzní a hypolipidemické léčby zahrnující inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu a/nebo blokátory receptorů AT₁ pro angiotenzin II. Pacienti museli mít poměr albumin/kreatinin vyšší než 100 mg/g v ranní moči ve dvou ze tří po sobě jdoucích měření a odhadovanou glomerulární filtraci (eGFR) dle Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) více než 25 ml/min/1,73 m². Hlavními vylučovacími kritérii byla nekontrolovatelná hypertenze (> 180/110 mm Hg) a kardiovaskulární příhoda nebo akutní poškození ledvin v posledních třech měsících před randomizací. Kontraindikována byla také léčba aliskirinem, dvěma nebo více diuretiky, nesteroidními antirevmatiky a thiazolidindiony.

Primárním sledovaným ukazatelem byla změna poměru albumin/kreatinin v moči. Sekundárními sledovanými ukazateli byly glykemická kontrola, bezpečnost a tolerance.

Emapticap byl podáván podkožně v dávce 0,5 mg/kg dvakrát týdně po dobu 85 dní a poté následovalo 12týdenní observační období (bez léčby). Poměr albumin/kreatinin byl stanovován v době léčby každý týden až dva týdny a během dalšího sledování jednou za čtyři týdny. Dále byla jednou měsíčně stanovována hodnota glykovaného hemoglobinu (HbA_{1c}) a byly také sledovány koncentrace emapticapu.

Hodnocení bylo provedeno u všech pacientů zařazených do studie (analýza podle léčebného záměru, ITT) a dále byla provedena *post hoc* analýza, ze které byly vyloučeni všichni pacienti s významnými odchylkami od protokolu studie, s léčbou dvěma inhibitory systému renin-angiotenzin (RAS) a pacienti s hematurií a leukocyturií.

Stabilní koncentrace emapticapu bylo dosaženo po dvou týdnech léčby. Počet cirkulujících monocytů

klesl již týden po zahájení léčby o 15–20 % a zůstal snížen po celou dobu podávání empaticapu, ale již za čtyři týdny po ukončení podávání empaticapu se téměř vrátil k normě. Emapticap také podstatně snížil (čtyř- až pětinasobně) denzitu receptoru CCR2 na povrchu monocytů. Emapticap snížil na konci tříměsíční léčby poměr albumin/kreatinin v moči o 29 % ($p < 0,05$). Pokles poměru albumin/kreatinin v moči po třech měsících o 16 % zaznamenaný v placebové skupině byl statisticky nevýznamný. Jako statisticky nevýznamný byl ale hodnocen také rozdíl mezi oběma větvemi (15 %, $p = 0,221$). Vliv emapticapu na poměr albumin/kreatinin v moči byl výraznější na konci tříměsíčního období po ukončení jeho podávání (pokles o 40 % proti vstupní hodnotě – $p < 0,001$) a byl pak hraničně významně nižší ve srovnání s placebem (26 %, $p = 0,064$).

Samostatná *post hoc* analýza 49 pacientů (s vyloučením pacientů s hematurií, leukocyturií a dvojí blokádou systému RAS) ukázala po třech měsících ve větvi s emapticapem pokles poměru albumin/kreatinin v moči o 30 % proti vstupním hodnotám ($p < 0,05$) a o 32 % ve srovnání s placebovou větví ($p = 0,011$). K poklesu poměru albumin/kreatinin v moči o 50 % a více došlo u 31 % pacientů

léčených emapticapem a u 6 % pacientů léčených placebem ($p = 0,058$). Osm týdnů po skončení léčby dosahoval rozdíl v poměru albumin/kreatinin v moči mezi emapticapovou a placebovou větví 39 % ($p = 0,01$).

Rozdíl v hodnotách systolického a diastolického krevního tlaku mezi emapticapovou a placebovou větví nebyl statisticky významný. Emapticap snížil proti vstupním hodnotám statisticky významně HbA_{1c} (o 31 %, $p = 0,014$), zatímco v placebové větvi se hodnota HbA_{1c} nezměnila. Čtyři týdny po ukončení aktivní léčby byl rozdíl v hodnotách HbA_{1c} mezi emapticapovou a placebovou větví statisticky významný (–0,35 vs. +0,12 %, $p = 0,026$). Podávání emapticapu bylo velmi dobře tolerováno a nebyly zaznamenány žádné závažné nežádoucí účinky související s léčbou jak během podávání emapticapu, tak během následujícího sledování. Jedinými významnými nežádoucími účinky souvisejícími s léčbou byly mírné lokální reakce v místě podkožní aplikace, které byly hlášeny u 18 % pacientů léčených emapticapem a u 4 % pacientů užívajících placebo. Nebyly zaznamenány ani významné rozdíly v krevním tlaku, tělesné hmotnosti či ve sledovaných laboratorních parametrech.

KOMENTÁŘ

Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc., FASN, FERA

Komentovaná studie s inhibítorem CCL2 emapticapem tedy ukázala podobně jako studie s perorálním inhibítorem CCR2, že by účinná inhibice systému CCL2-CCR2 mohla bezpečně (a s dobrou tolerancí) přispět ke zmírnění inzulinové rezistence a současně snížit (nehemodynamickým) mechanismem albuminurii. Trend k poklesu albuminurie u pacientů léčených emapticapem se stal významným, pokud byli ze studie vyloučeni pacienti s hematurií, leukocyturií a duální blokádou RAS, a trend k poklesu HbA_{1c} byl statisticky významný čtyři týdny po ukončení podávání emapticapu. Vzhledem k popsanému pravděpodobnému mechanismu účinku je zřejmé, že doba podávání emapticapu i doba sledování pacientů mohla být příliš krátká a zmíněná pozorování by měla být vzata v úvahu při přípravě dalších studií.

Pomalý nástup účinku (rozdíl v albuminurii mezi emapticapem a placebem patrný až více než dva měsíce po zahájení léčby) a jeho přetrvávání po ukončení podávání emapticapu a nezávislost na snížení krevního tlaku a vstupním poklesu glomerulární filtrace ukazují, že účinek velmi pravděpodobně není hemodynamický, ale souvisí spíše s potlačením zánětlivých změn v glomerulech (a potenciálně i v renálním intersticiu),^{11–13} jak tomu nasvědčuje i pokles počtu cirkulujících monocytů, k němuž dochází dle studií na zvířatech v důsledku blokády

přestupu CCR2 pozitivních monocytů z kostní dřeně do krve.¹⁴ Migraci monocytů zřejmě brání i pozorované snížení denzity CCR2 na cirkulujících monocytech. Nedávné experimentální studie ukázaly na důležitost infiltrace monocytů/makrofágy v patogenezi diabetických orgánových komplikací a také na význam systému CCL2-CCR2 ve zprostředkování této infiltrace.¹⁵ Pro inhibici RAS je naopak příznačný rychlý nástup účinku (během dvou až čtyř týdnů), pokles krevního tlaku a akutní pokles glomerulární filtrace svědčící pro změny intrarenální hemodynamiky.

Pokles albuminurie navozený emapticapem a známý a prokázaný vztah mezi poklesem albuminurie a dlouhodobým renoprotektivním účinkem (pro který je zřejmě nezbytný minimálně 15% pokles albuminurie) ukazuje, že inhibice systému CCL2/CCR2 by měla být renoprotektivní.¹⁶ Významnou klinickou roli může hrát i příznivý vliv inhibice CCL2 na inzulinovou rezistenci zjištěný v experimentálních studiích⁷ a potvrzený pro emapticap i ve studiích komentované. I když mechanismus tohoto účinku není zcela jasný, může jít o inhibici zánětlivých změn v tkáni pankreatických ostrůvků nebo v tukové tkáni.

Je zřejmé, že dostupná data o inhibici systému CCL2-CCR2 u pacientů s diabetickou nefropatií je stále třeba vnímat jako předběžná a že je bude nutno ověřit v dalších větších studiích.

LITERATURA

1. Sullivan T, Miao Z, Dairaghi DJ, et al. CCR2 antagonist CCX140-B provides renal and glycemic benefits in diabetic transgenic human CCR2 knockin mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;305:F1288–F1297.
2. Fufaa GD, Weil EJ, Nelson RG, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 and hepcidin and early diabetic nephropathy lesions in type 1 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:599–606.
3. Gnudi L. A new chance to beat diabetic kidney disease: innate immunity and MCP-1: a matter of good and bad macrophages? *Nephrol Dial Transplant* 2015;30:525–527.
4. De Zeeuw D, Bekker P, Henkel E, et al. The effect of CCR2 inhibitor CCX140-B on residual albuminuria in patients with type 2 diabetes and nephropathy: a randomised trial. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2015;3:687–696.
5. Vater A, Klussmann S. Turning mirror-image oligonucleotides into drugs: the evolution of Spiegelmer therapeutics. *Drug Discov Today* 2015;20:147–155.
6. Ninichuk V, Clauss S, Kulkarni O, et al. Late onset of CCL2 blockade with the Spiegelmer mNOX-E36-30PEG prevents glomerulosclerosis and improves glomerular filtration rate in db/db mice. *Am J Pathol* 2008;172:628–637.
7. Kang YS, Lee MH, Song HK, et al. CCR2 antagonism improves insulin resistance, lipid metabolism, and diabetic nephropathy in type 2 diabetic mice. *Kidney Int* 2010;78:883–894.
8. Sayyed SG, Ryu M, Kulkarni O, et al. An orally active chemokine receptor CCR2 antagonist prevents glomerulosclerosis and renal failure in type 2 diabetes. *Kidney Int* 2011;80:68–78.
9. Seok SJ, Lee ES, Kim GT, et al. Blockade of CCL2/CCR2 signalling ameliorates diabetic nephropathy in db/db mice. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:1700–1710.
10. Eulberg D, Jarosch F, Vonhoff S, et al. Spiegelmers for therapeutic applications – use of chiral principles in evolutionary selection techniques. In: Klussmann S. (ed). *The Aptamer Handbook*. Weinheim: Wiley-VCH, 2006, 417–442.
11. Buter H, Navis G, Dullaart RP, et al. Time course of the antiproteinuric and renal haemodynamic responses to losartan in microalbuminuric IDDM. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:771–775.
12. Schjoedt KJ, Rossing K, Juhl TR, et al. Beneficial impact of spiro-lactone on nephrotic range albuminuria in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2006;70:536–542.
13. de Zeeuw D, Coll B, Andress D, et al. The endothelin antagonist atrasentan lowers residual albuminuria in patients with type 2 diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2014;25:1083–1093.
14. Kulkarni O, Pawar RD, Purschke W, et al. Spiegelmer inhibition of CCL2/MCP-1 ameliorates lupus nephritis in MRL-(Fas)lpr mice. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:2350–2358.
15. Tesch GH. Macrophages and diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2010;30:290–301.
16. Heerspink HJ, Kropelin TF, Hoekman J, et al. Drug-induced reduction in albuminuria is associated with subsequent renoprotection: a meta-analysis. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:2055–2064.