

Nová chimérická molekula ACE2-Fc poskytuje dlouhodobou kontrolu hypertenze a ochranu orgánů u myších modelů systémové aktivace systému renin-angiotenzin

Liu P, Wysocki J, Souma T, et al. Novel ACE2-Fc chimeric fusion provides long-lasting hypertension control and organ protection in mouse models of systemic renin angiotensin system activation.

Kidney Int 2018;94:114–125.

Autoři se zaměřili na molekulu angiotenzinu 1-7, u které byly prokázány částečně antagonistické účinky angiotenzinu II (ANGII). Angiotenzin 1-7 (ANG1-7) vzniká z ANGII pomocí angiotenzin konvertujícího enzymu typu 2 (ACE2). Působí na receptor Mas, jehož aktivace má účinky částečně opačné k účinkům ANGII. Je k dispozici rekombinantní ACE2, ale má extrémně krátký poločas, nehodí se tedy jako léčivo a je obtížné ho používat v experimentech *in vivo*.

Autoři proto vyvinuli chimérickou molekulu ACE2 spojenou s Fc fragmentem lidského imunoglobulinu (ACE2-Fc). Tato molekula využívá interakce mezi Fc fragmentem a neonatálním Fc receptorem (FcRn), který se nachází na endotelových a krevních buňkách. Nepodléhá potom obvyklému katabolismu jako ACE2 a je opakovaně recyklována v oběhu. Stejným způsobem již byly zkonstruovány chiméry pro koagulační faktory VIII a IX, které jsou schváleny pro léčbu hemofilii. Na základě znalostí o nich se dá předpokládat, že podobné molekuly budou mít poločas jeden až dva týdny.

Aktivita přeměny ANGII na ANG1-7 byla měřena pomocí koncentrace koncového c-terminálního rezidua ANG II. Čtyři hodiny po intravenózním podání dosahovala tato koncentrace přibližně 0,277 U/ml po aplikaci vehikula, 2,85 U/ml po podání rACE2 a 34,21 U/ml po podání rACE2-Fc. Jiným způsobem byla měřena aktivita po intraperitoneálním podání, které je u myších modelů standardem, a bylo zjištěno, že poločas eliminace je u rACE2 1,8 hodiny a u rACE2-Fc 174,2 hodiny. Maximální koncentrace rACE2-Fc dosahuje 3,5násobku rACE při intravenózním podání a dvojnásobku při intraperitoneálním podání.

Zmíněná molekula byla testována na několika myších modelech založených na zvýšené aktivitě ANGII. V prv-

ním pokusu byly myši předléceny placebem, rACE2 nebo rACE2-Fc 4 hodiny, 3 dny, 7 dní nebo 14 dní před podáním bolusu angiotenzinu II. Po bolusu ANGII se systolický tlak zvýšil na 162 mm Hg z původních 98 mm Hg, ale po rACE2-Fc jen na 123 mm Hg a tento vliv přetrvával i po předlécení 3 a 7 dní předem. Po 14 dnech už nebyl patrný; rACE2 už po 4 hodinách vykazoval jen minimální účinek (TK 153 mm Hg).

Dalším modelem byly myši transgenní pro reninový gen (RenTgMK). Tyto myši produkují v játrech velké množství reninu. Postupně se u nich rozvíjí hypertenze, albuminurie a fibróza orgánů. V cirkulaci mají 2,5krát vyšší koncentraci angiotenzinu II než netransgenní myši. Šestitýdenní jedinci byli léčeni buď podáváním rACE2-Fc, nebo aplikací vehikula jedenkrát týdně po dobu šesti týdnů. U transgenního i netransgenního kmene vedlo podání rACE2-Fc k výraznému poklesu plazmatické koncentrace ANGII. U kontrolních normotenzních zvířat se krevní tlak a albuminurie nezměnily ani přes výrazný pokles koncentrace ANGII v plazmě. Krevní tlak i albuminurie zůstaly u léčebných myší v normě. Histologické vyšetření srdce a ledvin prokázalo po podání rACE-Fc menší fibrózu obou orgánů oproti neléčeným transgenním myším, které se po léčbě nelišily od normotenzních kontrol.

Třetím modelem byla hypertenze u myší s implantovanou osmotickou minipumpou, jež po čtyři týdny dávkovala angiotenzin II. Tento postup vedl k 14násobnému vzestupu koncentrací ANGII. Myši ve věku 10 týdnů dostaly minipumpu a poté čtyři injekce rACE2-Fc nebo vehikula s odstupem jednoho týdne. U neléčených myší se vyvinula srdeční hypertrofie vyjádřená jako tloušťka septa echokardiograficky nebo jako poměr hmotnosti srdce k tělesné hmotnosti zvířete. Histologicky byla opět prokázána vý-

znamná fibróza a zvětšený průměr kardiomyocytů. Podání rACE2-Fc normalizovalo všechny z výše uvedených parametrů na hodnoty, které se nelišily od normotenzních kontrol.

Jako poslední parametr, jenž by mohl ovlivňovat účinnost podávání rACE2-Fc, byl zkoumán vznik protilátek

proti této molekule. Po šesti podáních s týdenním odstupem se skutečně vytvořily protilátky u normotenzních i hypertenzních zvířat, kterým byl podán rACE2-Fc. Po dalším podání téže látky se však její kinetika a aktivita nelišila, tyto protilátky tedy nejsou neutralizační. Žádná neutralizační aktivita protilátek nebyla prokázána ani *in vitro*.

KOMENTÁŘ

Doc. MUDr. Věra Čertíková Chábová, Ph.D.

Komentovaná práce je přínosná v několika hlavních aspektech. Prvním je léčebné využití angiotenzin konvertujícího enzymu 2. Angiotenzin konvertující enzym 2 štěpí angiotenzin II a snižuje tak jeho dostupnost. Výsledná molekula tohoto procesu je ANG1-7, který má vlastní receptor, jehož aktivace způsobuje vazodilataci a zvyšuje natriurézu. Oba mechanismy vedou ke snížení tlaku a ke zmírnění hypertenzního orgánového poškození. Na rozdíl od ACE, kde je k léčebnému účinku potřebná jeho inhibice, hodnotu ACE2 je nutno zvyšovat. Induktory ACE2 nejsou k dispozici, jedinou možností je tedy zatím ACE2 do organismu dodávat. Rekombinantní molekula je již dostupná, ale má velmi krátký poločas, její použití k léčbě je tedy obtížné.

Druhým zcela novým aspektem je proto využití chimérické molekuly ACE2 s Fc fragmentem imunoglobulinu G. Jak je i zmíněno v diskusi, takový postup už je schválen k léčbě hemofilii, kde je výhodou méně časté podávání infuzí, protože tyto chimérické faktory jsou stabilnější. Komentovaná práce ukázala, že i rACE-Fc má účinek trvající až sedm dní, a podávání je tak možné jedenkrát týdně. Pro terapii hypertenze je však intravenózní chronická léčba přece jen stále složitější než perorální podávání léků. Pro pacienty s rezistentní hypertenzí by ale mohla být řešením, které na rozdíl od například denervací renálních tepen je reverzibilní a nevyžaduje složité instrumentarium jako karotická stimulace.

Zkoumání role ACE2 a angiotenzinu 1-7 u hypertenze už samo o sobě novinkou není. V experimentech se zkoumá jeho vliv na systémovou¹ i plicní² hypertenzi. Dále byl studován u diabetických komplikací³ a malignit,⁴ určitou roli hraje i v imunologii⁵ apod. U lidí byly prokázány asociace genetikých polymorfismů nebo koncentrací ACE2 s různými kardiovaskulárními onemocněními.

Skupina z Louisiana State University vytvořila ACE navázaný na netoxickou podjednotku cholera toxinu a uzavřený do rostlinné buňky, čímž překonala degradaci ve střevě a umožnila vstřebání po perorálním podání.⁶ V experimentu byl tento postup účinný. Perorální přípravky ACE2 však ne-

byly zatím podle dostupných informací dále testovány. Pokud jde o parenterální přípravky, společnost GlaxoSmithKline zahájila v únoru 2018 studii NCT03177603 s rekombinantním humánním ACE2 u pacientů s plicní hypertenzí.⁷ Jde zatím o fázi I klinického hodnocení a není řešeno, jak by se lék podával dlouhodobě. Je ovšem pravda, že existují možnosti kontinuálního podávání pomocí nějakého vhodného zařízení, podobného například inzulinové pumpě.

Molekula rACE2-Fc je v tomto směru nadějnější. Fc fragment je z humánního imunoglobulinu, podávání lidem by tedy neměla bránit imunologická bariéra. Aplikace jedenkrát týdně by byla jistě jednodušší, i když intravenózní injekce je stále nutná. V této chvíli je však ještě velké množství neznámých:

- Molekula byla testována pouze u hypertenze závislé na angiotenzinu II, a nikoliv na jiných modelech.
- Není jasné, zda je efekt dán snížením dostupnosti ANGII, nebo zvýšením koncentrace ANG1-7. U normotenzních zvířat nepochybně nastávají obě situace, ale nebyl zaznamenán žádný účinek na krevní tlak.
- Není jasné, jaké by bylo dávkování u lidí.
- Zatím nemáme ani představu, jaké by mohly být krátkodobé nebo dlouhodobé nežádoucí účinky (kromě případné hypotenze). Vzhledem k pleiomorfním účinkům (od metabolismu přes ovlivnění imunity po angiogenezi) se dají očekávat jak překvapení příjemná, například nižší incidence nádorů, tak nepříjemná.
- Molekula nepochybně podněcuje tvorbu protilátek, i když nebylo prokázáno, že by tím byla ovlivněna účinnost. U lidí tomu však může být jinak. Jde o jiný živočišný druh a léčba hypertenze by trvala určitě déle než šest týdnů, jak tomu bylo v komentované práci.

Zkušenosti s podáváním ACE2 u pacientů trpících plicní hypertenzí a použití podobných chimérických molekul v jiných indikacích snad co nejdříve ukážou, zda rACE2-Fc je přírodně vhodnou cestou k nové třídě antihypertenziv.

LITERATURA

1. Mendoza A, Lazartigues E. The compensatory renin-angiotensin system in the central regulation of arterial pressure: new avenues and new challenges. *Ther Adv Cardiovasc Dis* 2015;9:201–208.
2. Shenoy V, Qi Y, Katovich MJ, Raizada MK. ACE2, a promising therapeutic target for pulmonary hypertension. *Curr Opin Pharmacol* 2011;11:150–155.
3. Ola MS, Alhomida AS, Ferrario CM, Ahmad S. Role of Tissue Renin-angiotensin System and the Chymase/angiotensin-(1-12) Axis in the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. *Curr Med Chem* 2017;24:3104–3114.
4. Xu J, Fan J, Wu F, et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/Mas Receptor Axis: Pleiotropic Roles in Cancer. *Front Physiol* 2017;8:276.

5. Crowley SD, Rudemiller NP. Immunologic Effects of the Renin-Angiotensin System. *J Am Soc Nephrol* 2017;28:1350–1361.
6. Shenoy V, Kwon KC, Rathinasabapathy A, et al. Oral delivery of Angiotensin-converting enzyme 2 and Angiotensin-(1-7) bioencapsulated in plant cells attenuates pulmonary hypertension. *Hypertension* 2014;64:1248–1259.
7. A Dose-escalation Study in Subjects With Pulmonary Arterial Hypertension (PAH) – Full Text View – ClinicalTrials.gov. Home – ClinicalTrials.gov [online]. Dostupné z: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03177603?term=Glaxo&cond=hypertension&rank=3>