

Novinky v léčbě Alportova syndromu

Doc. MUDr. Jana Reiterová, Ph.D.

Klinika nefrologie 1. LF UK a VFN v Praze

SOUHRN

Alportův syndrom (AS) je dědičná glomerulopatie, jež se projevuje mikroskopickou hematurií a proteinurií. K selhání funkce ledvin dochází u mladých pacientů, nejčastěji ve třetí dekádě života. Je způsobena mutacemi v genech *COL4A3*, *COL4A4* s autozomálně recesivním nebo dominantním přenosem nebo mutacemi v genu *COL4A5* s X-vázaným přenosem.

Všichni pacienti s AS by měli od dětství užívat inhibitory RAS (systému renin-angiotenzin), které zpomalují progresi onemocnění. Na základě výsledků studie DAPA-CKD a další menší studie předpokládáme pozitivní efekt dapagliflozinu i u pacientů s AS. Nyní probíhají studie u AS s blokátory endotelinového receptoru (atrasentanem a sparsentanem). Přípravek snižující hodnoty lipidů R3Ro1 je nyní podáván ve studii u pacientů s AS a fokálně segmentální glomerulosklerózou (FSGS). Studie s hydroxychlorochinem u dětí s AS probíhá nyní v Číně. Nedávno byla dokončena studie s bardoxolonem, který u pacientů s AS vedl ke zpomalení poklesu glomerulární filtrace. Zásadní bude pro pacienty nalezení zodpovědné mutace, protože do budoucna bude léčba individualizována podle typu mutace cestou převedení na méně závažné změny na úrovni RNA a proteinu.

KLÍČOVÁ SLOVA: Alportův syndrom – bardoxolon – dapagliflozin – genetika – terapie

Úvod

Alportův syndrom (AS) je nejčastější dědičná glomerulopatie, která se projevuje mikroskopickou hematurií, postupně se přidává proteinurie a zhoršuje se renální funkce. K selhání ledvin dochází často u mladých pacientů ve třetí a čtvrté dekádě života. Strukturní abnormality glomerulární bazální membrány (GBM) jsou způsobeny mutacemi genů *COL4A3* a *COL4A4* na 2. chromozomu a genu *COL4A5* na chromozomu X. Prevalence AS se odhaduje na 1/5 000 až 1–9/100 000 obyvatel. Patogenní varianta genu *COL4A5* byla nalezena u 1/2 320 jedinců a varianty *COL4A3* a *COL4A4* u 1/106 jedinců v populaci bez jednoznačné renální choroby.¹ V nedávné studii bylo zjištěno, že jedna třetina dědičných monogenních nefropatií je spojena s mutacemi v genech *COL4*.²

Necelých 80 % případů tvoří X-vázané formy AS (XLAS) způsobené mutacemi v genu *COL4A5*, 5 % případů tvoří autozomálně recesivní formy (ARAS) způsobené mutacemi v genech *COL4A3* a *COL4A4*. Nejhorší prognózu mají rozsáhlé delece a nonsense mutace genu *COL4A5*, kdy dochází k selhání ledvin do 25 let. Formy s autozomálně dominantním přenosem (ADAS) mají také mutace v genech *COL4A3* a *COL4A4*, k selhání ledvin dochází většinou později než u XLAS a ARAS. U pacientů s ADAS lze před-

pokládat horší prognózu u pacientů s proteinurií, fokálně segmentální glomerulosklerózou (FSGS) v renální biopsii a u pacientů s poruchou sluchu. Přestože ženy přenašečky XLAS mají většinou mírné klinické formy onemocnění, je doporučeno je hodnotit jako pacientky s AS, ne jako přenašečky. Diagnóza tenkých bazálních membrán by již neměla být používána.³ Dále mohou mít pacienti mutaci v genu *COL4A4* a *A3*, jedná se o tzv. digenické mutace. Pokud jsou lokalizovány na různých chromozomech (trans-pozice), mají nemocní obdobnou prognózu jako pacienti s ARAS, pokud se mutace nacházejí na jednom chromozomu (cis-pozice), mají nemocní prognózu jako pacienti s ADAS.⁴ Mutace *COL4* byly identifikovány u 38 % pacientů s FSGS a pozitivní rodinnou anamnézou.⁵ Tito pacienti by měli být klasifikováni jako pacienti s AS a imunosupresivní léčba je u nich bez efektu.

Současné terapeutické možnosti, klinické studie

Alportův syndrom vyžaduje spolupráci nefrologa, patologa, klinického a molekulárního genetika. Důležitá je podrobná rodinná anamnéza, i když klinický průběh může být variabilní i v rámci jedné rodiny. Přesné zjištění konkrétních mutací u pacientů povede v budoucnu k individualizaci léčby. Všichni pacienti s AS by měli dodržovat

režimová opatření, omezit solení, mírně omezit příjem živočišných bílkovin, vést zdravý životní styl. Pacienti by již od dětského věku měli být léčeni inhibitory angiotenzin konvertujícího enzymu (ACEI). Jedná se většinou o mladé pacienty bez komorbidit, a proto by mělo být zvažováno zařazení do dostupných klinických studií.

Inhibice systému renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS)

ACEI ramipril u myších modelů s ARAS vedl ke snížení proteinurie, v ledvinách ke zmírnění fibrózy a celkově ke zlepšení přežití ve srovnání s neléčenými myšími modely. Podávání ramiprilu významně oddálilo nástup renálního selhání u 174 mužů s XLAS ve srovnání se 109 neléčenými muži s XLAS během 20leté studie.⁶ Na základě studie EARLY PROTECT je nyní doporučeno podávat ramipril u všech dětí s AS starších dvou let s mikroskopickou hematurií s mikroalbuminurií nebo bez mikroalbuminurie. Časné podávání ramiprilu snižuje riziko progresu až o 50 %. Efekt ACEI byl na základě Evropského registru pacientů s AS zjištěn i u heterozygotů s AS. Blokátor AT₁ losartan je u dětí, které netolerují ramipril, také bezpečný a účinný. Nyní začíná nová studie FIONA OLE u dětí s chronickým onemocněním ledvin a proteinurií, kde bude k terapii ACEI nebo blokátorem AT₁ přidán nesteroidní selektivní antagonist mineralkortikoidního receptoru finerenon.

Inhibitory SGLT2 a metformin

Inhibitory sodíko-glukózového kotransportéru 2 (SGLT2) vedou ke snížení vazodilatace aferentní arterioly v glomerulu, a tím dochází ke snížení intraglomerulárního tlaku, které je následováno snížením proteinurie.⁷ Ve studii DAPA-CKD, jež zahrnuje 4 304 diabetiků i nediabetiků, bylo i šest pacientů s AS.⁸ Dapagliflozin významně zpomalil pokles odhadované glomerulární filtrace (eGFR), oddálil nástup terminálního selhání ledvin (ESRD) a snížil kardiovaskulární rizika. V další malé studii u pacientů s ARAS a dapagliflozinem došlo také k významnému snížení proteinurie.⁹ Inhibitory SGLT2 můžeme zkusit nyní podávat i pacientům s AS, protože jsou dostupné pro pacienty do stadia CKD3 a s poměrem protein/kreatinin v moči (PCR) > 0,2 g/g kreatininu.

Biguanid metformin snižuje v intersticiu ledvin zánět a fibrózu. Podávání metforminu zpomalilo progresi renální insuficience a prodloužilo přežití u myši s AS.¹⁰ Metformin je kontraindikován u pacientů s CKD4 pro riziko laktátové acidózy. V Číně nyní začíná studie s metforminem u dětí (10–17 let) s AS. Vstupní dávka metforminu bude 500 mg denně, následně dle tolerance bude zvýšena až na 1 500 mg denně. Metformin bude podáván až dva roky a budou sledovány proteinurie a eGFR.

Bardoxolon

Bardoxolon metyl je semisyntetický triterpenoid aktivující transkripční faktor Nrf2, který ovlivňuje expresi stovek genů, jež se podílejí na regulaci zánětu, oxidačního stresu a buněčného metabolismu. Studie s bardoxolonem probí-

hají nebo byly dokončeny u řady dalších renálních chorob, u diabetické nefropatie, IgA nefropatie, FSGS a autozomálně dominantní polycystické choroby ledvin (ADPKD). Studie BEACON u diabetiků byla předčasně pozastavena pro zvýšený výskyt případů srdečního selhání.¹¹

U pacientů s AS byly nedávno publikovány výsledky multicentrické dvojité zaslepené, placebem kontrolované studie CARDINAL u 157 pacientů s AS ve věku 12–70 let. Sedmasedmdesát pacientů dostávalo bardoxolon, průměrná eGFR dosahovala 62,7 ml/min/1,73 m² a průměrný poměr exkrece albuminu/kreatininu (ACR) byl 141 mg/g. Pacienti ve skupině bardoxolonu měli lépe zachovanou eGFR po 48 a 100 týdnech léčby. Průměrný pokles eGFR po 100 týdnech činil –1,0 ml/min/1,73 m² u pacientů na bardoxolonu a –8,4 ml/min/1,73 m² u pacientů na placebo.¹² Nárůst mikroalbuminurie při podávání bardoxolonu je připisován zlepšené glomerulární filtraci. Byl popsán i ve studii BEACON a po šesti měsících léčby mikroalbuminurie klesla. Nejčastějším nežádoucím účinkem byl vzestup hodnoty transamináz. K potvrzení pozitivního vlivu bardoxolonu na zachování renální funkce u AS by měly následovat další studie.

Inhibitory receptoru A pro endotelin (ETAR) a inhibitory receptoru AT₁ pro angiotenzin II (ARB)

Sparsentan, duální inhibitor ETAR/ARB, snížil proteinurii a prodloužil přežití u myších modelů s AS.¹³ Nyní probíhá klinická studie EPIK (NCT05003986) u dětských pacientů s různými glomerulonefritidami (uPCR > 1 g/g). Do této studie jsou zařazováni i pacienti s AS. Atrasentan, selektivní inhibitor ETAR, pozitivně ovlivnil proteinurii a renální riziko u pacientů s diabetickou nefropatií, i když jeho podávání bylo často doprovázeno otoky a anémií.¹⁴ Nyní je zkoušen ve studii AFFINITY (NCT04573920), kam jsou zařazováni pacienti s glomerulonefritidami a proteinurií, tedy i pacienti s AS.

Anti-miRNA-21 terapie

MikroRNA (miRNA) jsou krátké nekódující úseky RNA, které regulují genovou expresi mRNA. Zvýšený výskyt miRNA-21 po akutním nebo chronickém poškození ledvin je spojen s výraznějšími zánětlivými změnami následovanými fibrózou tubulointersticia. Oligonukleotidy blokující miRNA-21 vedly u myších modelů k ochraně renálních parametrů a lepšímu přežití. Zvýšená exprese miRNA-21 byla popsána i u pacientů s AS a vyšší exprese byla spojena s horším klinickým průběhem AS.¹⁵ V rámci klinické studie HERA dostávali pacienti s AS od roku 2019 každý týden podkožní injekci s lademirsensem (anti-miRNA-21). Studie byla v roce 2022 ukončena, protože po předběžném hodnocení nebyl zjištěn žádný vliv na proteinurii a renální funkce.

Přípravky snižující koncentraci cholesterolu v buňkách

V kůře ledvin animálních modelů s AS byla zjištěna akumulace esterifikovaného cholesterolu a triglyceridů.

U myších modelů s AS byl prokázán pozitivní efekt statinů na proteinurii.¹⁶ Nyní probíhá studie s malou molekulou R3Ro1 (NCT05267262) u pacientů s AS a FSGS. Tato molekula zvyšuje množství funkčních transportérů ABCA1 v buňkách. Tyto transportéry závislé na ATP zvládají vyloučit nadbytek cholesterolu z buněk.

Hydroxychlorochin

Hydroxychlorochin, antimalarikum, inhibuje produkci cytokinů přes toll-like receptory. Hydroxychlorochin se využívá u léčby SLE, u pacientů s IgA nefropatií vedl k obdobné redukci proteinurie jako kortikosteroidy.¹⁷ V Číně nyní začíná studie s hydroxychlorochinem u 50 dětských pacientů s AS. Jako primární cíl sledování byla překvapivě zvolena redukce erytrocyturie, pokles proteinurie a ovlivnění eGFR představují sekundární cíle této studie.

Budoucí možnosti léčby

Molekuly umožňující přechíst terminační kodony

V přítomnosti nesmyslné (nonsense) mutace na začátku genů *COL4* vznikají kratší řetězce $\alpha 3$, $\alpha 4$ a $\alpha 5$ kolagenu IV bez domény NC1, a proto nemůže dojít k tvorbě heterotrimerů kolagenů, které jsou nezbytné pro funkční glomerulární bazální membránu. Dnes již existují molekuly, které jsou schopny přechíst terminační kodony (UGA, UAG, UAA) na úrovni RNA. Na buněčných kulturách od pacientů s AS s nonsense mutacemi je pak zkoumáno, zda tyto mutace projdou při translaci po působení specifických ribozomálních selektivních glykosidů.¹⁸ Tyto molekuly jsou nyní zkoušeny v rámci klinické studie fáze 2 u pacientů s cystickou fibrózou a cystinózou. U pacientů s AS a nonsense mutacemi nyní také začne studie fáze 2 se subkutánně podávanou molekulou ELX-02.

Přeskočení exonu

Přeskočení exonu je způsob sestřihu RNA používaný k tomu, aby buňky přeskakovaly mutované exony, což vede ke zkrácení, ale stále funkčnímu proteinu navzdory genetické mutaci. Vznikají tak in-frame delece na úrovni RNA, což vede k menšímu poškození než například terminační kodon s následným předčasným ukončením translace bílkovin. Speciální oligonukleotidy se většinou vážou do oblastí následného sestřihu. Vadný exon je tedy vystřižen spolu s introny. Tato terapie je používána například u Duchenneovy svalové dystrofie. U AS byl zjištěn mírnější fenotyp s pozdějším renálním selháním u ani-

málního modelu po přeskočení mutovaného exonu 21 genu *COL4A5*.¹⁹

Chaperony

Chaperony jsou proteiny, které napomáhají správnému sbalování polypeptidového řetězce do vyšších struktur a skládání podjednotek bílkovin do nadmolekulárních celků. Zabraňují tomu, aby byl nesprávně sbalený protein odstraněn v endoplazmatickém retikulu. Formace řetězců $\alpha 3$, $\alpha 4$ a $\alpha 5$ kolagenu IV obsahují mnoho pórů, kam se mohou chaperony navázat a ovlivňovat skládání a stabilitu kolagenu IV. Chaperony jsou užitečné hlavně u pacientů se záměnnými (missense) mutacemi, které tvoří asi 40 % mutací u AS. Přispívají ke stabilizaci všech tří helixových struktur, a tím ke stabilnější GBM. Chaperony jsou již běžně používány např. u pacientů s Fabryho chorobou. U pacientů s XLAS zvyšoval chaperon PBA (fenylbutyrová kyselina) expresi řetězce $\alpha 5$ kolagenu IV v buněčné linii fibroblastů.²⁰

Úpravy genomu

Genová terapie u AS je zatím testována na animálních modelech. U myšího modelu AS transgenový systém nahradil chybějící kolagen IV v GBM. Nyní jsou studovány různé technologie genových editací na buněčných kulturách podocytů. Tzv. CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) a s nimi asociovaný protein 9 vedly ke korekci mutací ve 44 % genu *COL4A3* a v 58 % genu *COL4A5*.²¹ Jedná se o opravu dsDNA po cíleném zlomu, který je proveden sgRNA (single guided) a specifickou endonukleázou. Donorová DNA je pak užita jako templát pro syntézu bez mutace. Velmi obtížná je hlavně manipulace s podocyty, dále by tyto změny musely být provedeny velmi časně, nejlépe již během vývoje plodu. Další otázkou je pak možnost reaktivace zdravé kopie genu *COL4A5*, která by mohla zlepšit prognózu u heterozygotních žen s X-vázanou formou AS.

Závěr

Všichni pacienti s AS by od raného dětství měli být léčeni ACEI. Inhibitory SGLT2 jsou bezpečné a efektivní léky, avšak další studie u AS jsou nutné. Bardoxolon zachovává déle renální funkci, další studie u AS jsou ale zase nevyhnutelné. Nové léky ovlivňující poškození tubulárních buněk, zánět a fibrózu v intersticiu nesplnily pozitivní očekávání, ovšem řada studií ještě probíhá. Do budoucna se jeví jako nadějně individuální léky dle typu mutace, které mohou ovlivnit různými mechanismy genovou expresi.

LITERATURA

- Gibson J, Fieldhouse R, Chan MMY, et al. Genomics England Research Consortium. Prevalence estimates of predicted pathogenic *COL4A3*-*COL4A5* variants in a population sequencing database and their implications for Alport syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2021;32:2273–2290.
- Hays T, Groopman EE, Gharavi AG. Genetic testing for kidney disease of unknown etiology. *Kidney Int* 2020;98:590–600.
- Kashtan CE, Ding J, Garosi G, et al. Alport syndrome: a unified classification of genetic disorders of collagen IV $\alpha 3(\alpha 4)$: a position paper of the Alport Syndrome Classification Working Group. *Kidney Int* 2018;93:1045–1051.

4. Savige J, Renieri A, Ars E, et al. Digenic Alport syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2022;8:2273–2290.
5. Gast C, Pengelly RJ, Lyon M, et al. Collagen (COL4A) mutations are the most frequent mutations underlying adult focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrol Dial Transplant* 2016;31:961–970.
6. Gross O, Friede T, Hilgers R, et al. Safety and efficacy of the ACE-inhibitor Ramipril in Alport syndrome: the double-blind, randomized, placebo-controlled, multicentric phase III EARLY PRO-TECT Alport trial in pediatric patients. *ISRN Pediatr* 2012;2012:436046.
7. Vallon V. The mechanisms and therapeutic potential of SGLT2 inhibitors in diabetes mellitus. *Ann Rev Med* 2015;66:255–270.
8. Heerspink HJL, Stefánsson BV, Correa-Rotter R, et al. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2020;383:1436–1446.
9. Song Z, Li Y, Zhou X, et al. Efficacy of dapagliflozin in adult autosomal recessive Alport syndrome. *Kidney Int Rep* 2022;7:2116–2117.
10. Omachi K, Kaseda S, Yokota T, et al. Metformin ameliorates the severity of experimental Alport syndrome. *Sci Rep* 2021;11:7053.
11. de Zeeuw D, Akizawa T, Audhya P, et al. Bardoxolone methyl in type 2 diabetes and stage 4 chronic kidney disease. *N Engl J Med* 2013;369:2492–2503.
12. Warady BA, Pergola PE, Agarwal R, et al. Effects of Bardoxolone methyl in Alport syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* 2022;17:1763–1774.
13. Dominic C, Brianna D, Duane D, et al. The dual ETAR/ATR1 blocker sparsentan slows renal disease, improves lifespan and attenuates hearing loss in Alport mice: comparison with losartan. *Nephrol Dial Transplant* 2020;35:23.
14. Heerspink HJL, Parving HH, Andress DL, et al. Atrasentan and renal events in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease (SONAR): a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2019;393:1937–1947.
15. Rubel D, Boulanger J, Craciun F, et al. Anti-microRNA-21 therapy on top ACE inhibition delays renal failure in Alport syndrome mouse models. *Cells* 2022;11:594.
16. Koepke ML, Weber M, Schulze-Lohoff E, et al. Nephroprotective effect of the HMG-CoA-reductase inhibitor cerivastatin in a mouse model of progressive renal fibrosis in Alport syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1062–1069.
17. Liu LJ, Yang YZ, Shi SF, et al. Effect of hydroxychloroquine on proteinuria in IGA nephropathy: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2019;74:15–22.
18. Omachi K, Hirofumi K, Roberge M, et al. Aminoglyco-side-induced premature termination codon readthrough of COL4A5 nonsense mutations that cause Alport syndrome. *bioRxiv* 2021.
19. Yamamura T, Horinouchi T, Adachi T, et al. Development of an exon skipping therapy for X-linked Alport syndrome with truncating variants in COL4A5. *Nat Commun* 2020;11:2777.
20. Wang D, Mohammad M, Wang Y, et al. The chemical chaperone, PBA, reduces ER stress and autophagy and increases collagen IV alpha5 expression in cultured fibroblasts from men with x-linked Alport syndrome and missense mutations. *Kidney Int Rep* 2017;2:739–748.
21. Daga S, Donati F, Capitani K, et al. New frontiers to cure Alport syndrome: COL4A3 and COL4A5 gene editing in podocyte-lineage cells. *Eur J Hum Genet* 2020;28:480–490.