# Antagonisté chemokinových receptorů – nová slibná léčba diabetické nefropatie?

*Sayyed SG, Ryu M, Kulkarni OP, et al. An orally active chemokine receptor CCR2 antagonist prevents glomerulosclerosis and renal failure in type 2 diabetes. Kidney Int 2011;80:68–78.*

Diabetická nefropatie (DN) je nejčastější příčinou terminálního selhání ledvin, a to i přesto, že u řady nemocných jsou glykémie uspokojivě kompenzované a že je u nich účinně blokován systém RAAS. Histologicky je pro pokročilejší stadia DN charakteristická glomerulosklerózа, která je výsledkem zvýšené akumulace extracelulární matrix a ztráty podocytů. V poslední době se předpokládá, že v pozdějších fázích vývoje histologických změn hraje roli i lokální zánět. Toto zjištění podporují i některé výsledky ze studií na zvířatech, které ukazují, že podání mykofenolát mofetilu, metotrexatu či radioterapie vedou k redukci albuminurie a ústupu glomerulosklerózy u potkanů se streptozotocinovou nefropatií (zvířecí model DN) (Yozai, 2005; Utimura, 2003). Přesný imunitní podklad intrarenální inflamace není dosud znám, klíčovou roli zde ale zřejmě hrají makrofágy. Blokáda makrofágů může působit protektivně na progresi nefropatií včetně DN. Tato blokáda by však neměla být plošná, ale zaměřená jen na podtyp M1, který je zodpovědný za zvýšenou produkci prozá-

nětlivých cytokinů a volných kyslíkových radikálů. Makrofágy M2 jsou naopak zdrojem produkce protizánětlivých cytokinů, např. interleukinu 10 a transformujího růstového faktoru β (TGFβ). Makrofágy a monocyty se prostřednictvím svého povrchového receptoru CCR2 vážou na CC-chemokiny. U pacientů s DN bylo prokázáno, že mají v moči vyšší koncentrace CC-chemokinu, který je označován jako monocyty-chemoatrahující protein 1 (MCP-1;CCL2). Tento protein, zvýšeně exprimovaný mesangiálními buňkami ledvin při hyperglykémii, zprostředkovává pomocí receptoru CCR2 na povrchu monocytů jejich migraci z kostní dřeně do oběhu, odkud se dostávají do tkání včetně glomerulů. Myši s deficitem CCL2 a s diabetem 1. i 2. typu vykazují nižší počet makrofágů v renálním parenchymu a mají menší poškození glomerulosklerózou i lepší glomerulární filtraci (GF) než diabetické myši bez deficitu. Blokáda působení CCL2 v ledvinách inhibicí receptoru CCR2 na povrchu monocytů by tedy mohla vést ke zpomalení progrese DN.

RO5234444 je látka určená pro perorální podávání, která je schopna blokovat buňky CCR2+. Cílem komentované studie bylo posoudit, zda podávání RO5234444 dokáže redukovat počet makrofágů v renální tkáni myší s experimentálně navozenou DN (db/db) a současně zabránit vzniku diabetické glomerulosklerózy. Od podání RO5234444 se také očekávalo snížení proteinurie a zlepšení GF.

U myší samčího pohlaví typu db/db byla provedena unilaterální nefrektomie za účelem zvýšení glomerulární hyperfiltrace a akcelerace glomerulosklerózy. Od 16. do 24. týdne věku byla část myší krmena různě velkou dávkou RO5234444, a to tak, aby byla dosažena $IC_{50}$ (taková dávka antagonisty, aby došlo k 50% inhibici sledovaného cíle; v tomto případě 50% redukci počtu makrofágů, ale bez ovlivnění počtu neutrofilů). K ověření účinnosti RO5234444 byla vyšetřována inhibice chemotaxe a současně i internalizace receptoru.

Výsledky studie ukázaly, že exprese CCR2 mRNA byla vyšší u myší, které byly zabity po šesti měsících, v porovnání s těmi, které byly vyšetřovány po šesti týdnech; uninefrektomované myši měly současně výrazně zvýšenou expresi mRNA CCR2 v porovnání se skupinou bez nefrektomie, a to jak v šestém týdnu, tak v šestém měsíci. Uninefrektomované myši, které byly od čtvrtého měsíce krmeny RO5234444 (v dávce 100 mg/kg) měly v porovnání s uninefrektomovanými jedinci krmenými jen placebem významně snížený počet monocytů cirkulujících v periferní krvi; koncentrace glukózy a tělesná hmotnost léčbou nebyly ovlivněny.

Blokáda CCR2 vedla k redukci počtu makrofágů v glomerulech o 65 % a v intersticiu o 50 %. U těchto myší byla rovněž významně snížena četnost výskytu glomerulosklerózy. Léčba RO5234444 také zvyšovala počet podocytů, které jsou u uninefrektomovaných diabetických myší oproti zdravým sníženy zhruba o 30 %. Důvodem je blokáda apoptózy podocytů. Z hlediska funkčních parametrů vedlo podávání RO5234444 u uninefrektomovaných myší k signifikantnímu zlepšení GF v porovnání s jedinci léčenými placebem ($p < 0,05$) a současně také ke snížení poměru albumin/kreatinin ($p < 0,05$; redukce zhruba o 50 %).

Závěrem autoři konstatovali, že blokáda CCR2 významně snížila počet monocytů v renální tkáni, ale neovlivnila počet infiltrujících neutrofilů. Snížila také množství makrofágů a apoptotických podocytů v glomerulech. Léčba tedy byla spojena s nálezem většího počtu intaktních podocytů a redukcí glomerulosklerózy v glomerulech, vedla ke snížení albuminurie a významnému zvýšení GF. Tato nadějná preklinická data by v brzké budoucnosti měla být následována studiemi na pacientech s diabetickou nefropatií.

## KOMENTÁŘ

**Doc. MUDr. Romana Ryšavá, CSc.**

*Chemokiny jsou nízkomolekulární heparin-vázající molekuly secernované jednak buňkami imunitního systému, jednak i dalšími buňkami různých tkání. Jsou to polypeptidy o molekulové hmotnosti 8 až 15 kDa, které jsou tvořeny 70–400 aminokyselinami a mají schopnost chemotakticky působit na buňky imunitního systému. Dnes je známo více než 50 chemokinů, které se dělí do čtyř skupin podle počtu a pozice cysteinových zbytků na $NH_2$-terminálním konci polypeptidu. Tyto čtyři skupiny chemokinů se odlišují jak strukturně, tak i funkčně. Každá skupina má schopnost chemotaxe jiných typů leukocytů: CC-chemokiny jsou chemotaktické především pro monocyto-makrofágy a lymfocyty, zatímco CXC-chemokiny jsou chemotaktické hlavně pro neutrofily. Chemokiny se účastní patogeneze mnoha autoimunitních zánětlivých onemocnění. MCP-1 (CCL2) byl nalezen například v synoviální tekutině pacientů s revmatoidní artritidou, mozkomíšním moku nemocných trpících roztroušenou sklerózou nebo lavážní tekutině z dýchacích cest u pacientů s aktivním bronchiálním astmatem (Koch, 1992, 1994; Kanad, 2002; Alam, 1996). V poslední době se ukázalo, že i u obézních nemocných se vyskytuje zvýšené množství CCR2+ makrofágů v adipocytech, což v tukové tkáni spouští imunitní proces, podobně jako je tomu při inzulinové rezistenci (Ito, 2008). V patogenezi mnoha infekčních onemocnění se chemokiny uplatňují nejen jako chemoatraktanty buněk imunitního systému, ale i jako koreceptory pro vstup virů do buněk. Každá skupina chemokinů interaguje s rodinou receptorů asociovaných s trimerními G-proteiny, které jsou exprimovány především na povrchu leukocytů.*

*Receptor CCR2 patří také mezi G-proteiny, má sedm transmembránových domén a specificky působí na vychytávání monocytů z kostní dřeně a jejich migraci z intravaskulárního do extravaskulárního kompartmentu. Podání RO5234444 vede k inhibici CCR2, a tím je také vysvětleno, proč myši léčené tímto inhibitorem měly snížené monocyty v periferní krvi. Současně to vedlo k situaci, že monocyty z cirkulace se neatrahovaly do renální tkáně glomerulů a výsledkem bylo snížení infiltrace ledvin těmito buňkami.*

*Podávání RO5234444 vedlo ke snížení albuminurie a zvýšení GF v porovnání s uninefrektomovanými neléčenými diabetickými myšmi, současně byla redukována glomerulosklerózа. I když není zcela jasné, zda glomerulosklerózа u neléčených myší byla způsobena především přítomností diabetu či redukcí funkčního parenchymu po nefrektomii, důležité je, že byla u léčených myší menší zejména z důvodu redukce zánětlivých změn, které glomerulosklerózu doprovázejí.*

*Důležitá je i skutečnost, že RO5234444 je látka s malou molekulovou hmotností, která je schopna po perorálním podání blokovat specifický receptor, což by výrazně mohlo urychlit klinické studie i u lidí.*

**Literatura**

Alam R, York J, Boyars M, Stafford S, Grant JA, Lee J, Forsytie P, Sim T, Ida N. Increased MCP-1, RANTES and MIP-1a in bronchoalveolar lavage fluid of allergic asthmatic patients. Am J Respir Crit Care Med 1996,153:1398–1404.

Ito A, Suganami T, Yamauchi A, et al. Role of CC chemokine receptor 2 in bone marrow cells in the recruitment of macrophages into obese adipose tissue. J Biol Chem 2008;283:35715–35723.

Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, et al. Macrophage inflammatory protein 1-α: A novel chemotactic cytokine in rheumatoid arthritis. J Clin Invest 1994;93:921–928.

Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, et al. Macrophage inflammatory protein 1-α: A novel chemotactic cytokine in rheumatoid arthritis. J Clin Invest 1994;93:921–928.

Koch AE, Kunkel SL, Harlow LA, Johnson B, Evanoff HL, Haines GK, Burdick MD, Pope RM, Strieter RM. Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. J Clin Invest 1992;90(3):772–779.

Mahad DJ, Howell SLJ, Woodroofe MN. Expression of chemokines in the CSF and correlation with clinical disease activity in patients with multiple sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2002;72:498–502.

Utimura R, Fujihara CK, Mattar AL, et al. Mycophenolate mofetil prevents the development of glomerular injury in experimental diabetes. Kidney Int 2003;63:209–216.
Yozai K, Shikata K, Shikata M, et al. Methotrexate prevents renal injury in experimental diabetic rats via anti-inflammatory actions. J Am Soc Nephrol 2005;16:3326–3338.