



Łukasz Jankowski, Magdalena Durlik

Klinika Medycyny Transplantacyjnej, Nefrologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Inhibitory hydroksylazy prolinowej czynników indukowanych niedotlenieniem (HIF-PHI) — przełom w leczeniu niedokrwistości u chorych z przewlekłą chorobą nerek?

Hypoxia — inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors (HIF-PHI) — a breakthrough in treatment of anemia in patients with chronic kidney disease?

ABSTRACT

Anemia is the common complication of chronic kidney disease (CKD). Insufficient secretion of erythropoietin by damaged kidneys and disorders of iron management (including increased hepcidin concentration) play a major role in its pathophysiology. Classical treatment of anemia in patients with CKD bases on the correction of iron deficiencies and administration of erythropoiesis stimulating factors (ESAs) — analogues of human erythropoietin. In 1992 Semenze and Wang for the first time

discovered the molecule activating gene expression for erythropoietin — the hypoxia-induced HIF-1 transcription factor, which paved the way for research into new ways of treating anemia in patients with CKD. In the article the current state of knowledge regarding the mechanism of action and the clinical usage of new drugs — hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors (HIF-PHI) — in the treatment of anemia in patients with CKD was described.

Forum Nefrol 2020, vol 13, no 3, 116–120

Key words: anemia, ferrum, chronic kidney disease, hypoxia inducible factor, HIF

WSTĘP

Przewlekła choroba nerek (PChN) jest drugą co do częstości, po nadciśnieniu tętniczym, chorobą przewlekłą występującą w populacji polskiej. Szacuje się, że może dotyczyć nawet 1/6–1/5 dorosłych Polaków, z czego aż 90% może nie być świadomych jej obecności [1]. Udowodniono, że osoby z PChN są narażone na zwiększone ryzyko powikłań sercowo-naczyniowych, jak również przedwczesnego zgonu. Jednym z powikłań PChN rzutujących

na jakość i długość życia chorych jest niedokrwistość, której częstość występowania waha się od około 10% u pacjentów w początkowym stadium choroby, aż do 70% u osób ze schyłkową niewydolnością nerek, a zaawansowanie niedokrwistości jest wprost proporcjonalne do zaawansowania choroby podstawowej [2].

Etiologia niedokrwistości u pacjentów z PChN jest wieloczynnikowa. Do głównych przyczyn niedokrwistości u tych chorych zalicza się niedostateczne wydzielanie erytropoetyny przez niewydolne nerki, skrócenie czasu

Adres do korespondencji:

lek. Łukasz Jankowski
Klinika Medycyny Transplantacyjnej,
Nefrologii i Chorób Wewnętrznych
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Nowogrodzka 59,
02–006 Warszawa
tel.: 22 502 12 32, faks: 22 502 21 26
e-mail: kl.med.trans.skdj@uckwum.pl

przeżycia erytrocytów oraz zaburzenia gospodarki żelazem, spowodowane jego niedoborem, a także zaburzenia gospodarki żelazem, wtórne np. do stanu zapalnego (poprzez zwiększenie stężenia hepcydyny, co skutkuje zmniejszonym wchłanianiem żelaza z przewodu pokarmowego i jego zmniejszonym uwalnianiem z wątroby i makrofagów). Wśród innych przyczyn wymienia się m.in. krwawienia (w tym tzw. krwawienia ukryte), hemolizę, niedobory witaminowe, wtórną nadczynność przytarczyc, nieadekwatną dializoterapię, zwiększoną częstość zakażeń oraz stan zapalny związany ze stresem oksydacyjnym [3].

Zazwyczaj u chorych z PChN stwierdza się niedokrwistość normochromiczną, normocytową, typu chorób przewlekłych. Wiadomo, że niedokrwistość u osób z PChN wiąże się — oprócz typowych, pogarszających jakość życia objawów, takich jak osłabienie, pogorszenie tolerancji wysiłku, bóle głowy, bezsenność — także ze zwiększoną częstością hospitalizacji, koniecznością przetoczeń preparatów krwiopochodnych, większą częstością zdarzeń sercowo-naczyniowych, jak również z większym ryzykiem zgonu [4].

Historycznie podstawę leczenia niedokrwistości u chorych z PChN stanowiły jedynie wlewy żelaza oraz transfuzje krwi. Dopiero wynalezienie, a następnie dopuszczenie do leczenia w 1989 roku pierwszego czynnika stymulującego erytropoezę (ESA, *erythropoiesis stimulating agent*) — epoetyny alfa — zrewolucjonizowało leczenie niedokrwistości u chorych z PChN [5]. Obecnie to ESA razem z leczeniem preparatami żelaza jest podstawą terapii niedokrwistości u tych chorych. W obserwacjach długoterminowych wykazano jednak, że dążenie do uzyskania wysokich stężeń hemoglobiny (Hb) przy zastosowaniu ESA może skutkować zwiększeniem ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych, a leki te mogą wykazywać potencjał prozakrzepowy. Niewyjaśniony jak dotąd pozostaje także możliwy wpływ ESA na progresję nowotworu u chorych onkologicznych [6]. Z tych powodów poszukiwane są dalsze możliwości terapii niedokrwistości w PChN, w tym stosowanie nowych cząsteczek, np. inhibitorów hydroksylazy prolinowej czynników indukowanych niedotlenieniem (HIF-PHI, *hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors*).

BUDOWA I FUNKCJA CZYNNIKÓW INDUKOWANYCH NIEDOTLENIEM

Wiadomo, że niedotlenienie tkanek organizmu stymuluje mechanizmy obronne, mające

na celu zniwelowanie skutków niekorzystnych dla ustroju. Jednym z takich mechanizmów jest stymulujący wpływ niedotlenienia na erytropoezę. Pogłębione badania nad patofizjologicznym mechanizmem tego oddziaływania na poziomie komórki zaowocowały odkryciem tzw. czynników indukowanych niedotlenieniem (HIFs, *hypoxia-inducible factors*) — czynników transkrypcyjnych, prowadzących — poprzez zmiany w ekspresji wielu genów — do zmniejszenia zużycia tlenu, promowania jego dostawy i inicjalizacji mechanizmów antyoksydacyjnych, a także prowadzących do utrzymania homeostazy organizmu, pomimo niedoborów tlenu [7]. Czynniki te mają również wpływ na metabolizm komórki, angiogenezę, regulację proliferacji i żywotności komórki. Obecnie najlepiej zbadanymi HIFs są cząsteczki HIF-1 i HIF-2, pod względem budowy będące heterodimerami. W budowie HIFs wyróżnia się dwie podjednostki: HIF- α i HIF- β , które są produkowane w komórkach ustroju w sposób stały. Znane są 3 typy podjednostek HIF- α , spośród których za regulację erytropoezy odpowiada w głównej mierze HIF-2 α .

Okres półtrwania podjednostek HIF w warunkach prawidłowego dostępu tlenu jest zróżnicowany — stężenie HIF- β pozostaje na stałym poziomie, podczas gdy dla labilnej podjednostki HIF- α okres półtrwania w warunkach normoksji wynosi poniżej 5 minut [8]. W warunkach tych podjednostka HIF- α ulega szybkiej degradacji — jej reszty prolinowe podlegają hydroksylacji przez 3 specyficzne enzymy — hydroksylazy prolinowe (PH, *prolyl hydroxylases*) HIF (HIF-PH), a następnie cała hydroksylowana podjednostka HIF- α jest rozpoznawana przez białka von Hippel-Lindaua, ubikwitynowana i niszczone w proteasomach. Jednym z substratów koniecznych do reakcji hydroksylacji przeprowadzanej przez HIF-PH jest tlen, drugim α -ketoglutaran, a kofaktorami dla tej reakcji są żelazo i askorbinian. W warunkach niedotlenienia dochodzi do zahamowania hydroksylacji HIF- α , podjednostka HIF- α ulega akumulacji, a następnie trafia do jądra komórkowego, gdzie — jako heterodimer z podjednostką HIF- β — wywiera wpływ na ekspresję licznych genów, w tym m.in. genu dla erytropoetyny [7, 9]. Aktywacja ekspresji genów jest wywołana połączeniem HIF z sekwencją DNA nazywaną fragmentem reaktywnym dla niedotlenienia (HRE, *hypoxia reactive element*) i stanowi skomplikowany proces wymagający kofaktorów, z których do najważniejszych zalicza się białka p300 i CBP [10].

▶▶ Okres półtrwania podjednostek HIF w warunkach prawidłowego dostępu tlenu jest zróżnicowany — stężenie HIF- β pozostaje na stałym poziomie, podczas gdy dla labilnej podjednostki HIF- α okres półtrwania w warunkach normoksji wynosi poniżej 5 minut ◀◀

▶▶ W warunkach niedotlenienia dochodzi do zahamowania hydroksylacji HIF- α , podjednostka HIF- α ulega akumulacji, a następnie trafia do jądra komórkowego ◀◀

▶▶ Aktywacja ekspresji genów jest wywołana połączeniem HIF z sekwencją DNA nazywaną fragmentem reaktywnym dla niedotlenienia (HRE, *hypoxia reactive element*) i stanowi skomplikowany proces wymagający kofaktorów, z których do najważniejszych zalicza się białka p300 i CBP ◀◀

W warunkach normoksji szybka degradacja HIF- α decyduje o zmniejszonej ekspresji genu dla erytropoetyny (EPO), utrzymując stężenie EPO w organizmie na poziomie około 10 mJ/ml, a także wywierając pośrednio wpływ na szereg białek transportowych dla żelaza w jelitach [11].

W warunkach niedotlenienia nie dochodzi do degradacji HIF, a jego akumulacja stymuluje produkcję endogennej EPO zarówno przez nerki (w tym również u chorych na PChN), jak i przez wątrobę, a także wpływa modyfikująco na gospodarkę żelazem, poprawiając wykorzystanie zasobów żelaza i jego wchłanianie z przewodu pokarmowego oraz ułatwiając jego transport do szpiku. W konsekwencji obserwuje się zwiększenie ekspresji receptora dla transferyny, obniżenie stężenia ferrytyny i wysycenia transferyny (TSAT, *transferrin saturation*), zwiększenie pobierania i zużywania żelaza przez niedojrzałe formy erytrocytów, przyspieszenie ich proliferacji i dojrzewania w szpiku, a także zmniejszenie stężenia hepcydyny, przy zwiększeniu stężenia ceruloplazminy [3, 12].

MECHANIZM DZIAŁANIA INHIBITORÓW HYDROKSYLAZY PROLINOWEJ HIF (HIF-PHI)

Działanie badanych obecnie HIF-PHI opiera się na zasadzie antagonizmu kompetycyjnego z jednym z substratów reakcji hydroksylacji — α -ketoglutaranem. Uniemożliwienie hydroksylacji reszt prolinowych podjednostki HIF- α rozpoczyna jego akumulację i kaskadę zmian tożsamyh z mechanizmem indukowanym niedotlenieniem. W przypadku chorych z PChN i niedokrwistością efektami tej sytuacji są stymulacja erytropoezy, poprawa w zakresie stężeń hemoglobiny we krwi, a co się z tym wiąże — postulowana poprawa jakości życia i zmniejszenie niepożądanych skutków niedokrwistości u tych chorych. Co ważne, udowodniono, że u pacjentów z PChN wydzielanie EPO przez uszkodzone nerki jest zachowane i może być indukowane w mechanizmie inhibicji HIF-PH, a uzyskany wzrost stężenia EPO jest fizjologiczny, w przeciwieństwie do nagłych wzrostów i spadków EPO przy zastosowaniu ESA. Uzyskiwany korzystny efekt zachodzi przy indukcji niższych stężeń endogennej EPO niż przy stosowaniu ESA.

Obecnie w badaniach klinicznych znajduje się kilka cząsteczek HIF-PHI, m.in. roksadustat, wadadustat, daprodustat, molidustat oraz cząsteczek JTZ-951. Leki te dostępne są

w formie doustnej, a ich mechanizm działania opiera się na inhibicji wszystkich 3 izoform enzymu hydroksylazy prolinowej (roksadustat), izoformy 2 i 3 (daprodustat) albo jedynie izoformy 2 (molidustat). Najlepiej zbadanym lekiem z tej grupy jest roksadustat, który w grudniu 2018 roku został zarejestrowany w Chinach do stosowania we wskazaniu „niedokrwistość” u chorych dializowanych. Doniesienia dotyczące bezpieczeństwa stosowania i skuteczności tego leku są obiecujące. Wykazano, że roksadustat powoduje efekt nie gorszy niż epoetyna- α , zarówno u pacjentów przewlekle dializowanych, jak i u chorych u których rozpoczynano dializy *de novo* — to zarówno u chorych dializowanych otrzewnowo, jak i hemodializowanych. Wykazano brak istotnych interakcji leku z pożywieniem, jak również brak jego interakcji ze stosowanymi lekami przeciwwkrzepliwymi, w tym warfaryną. Na farmakokinetykę leku niewielki wpływ wywierało pogorszenie czynności wątroby [13]. Wciąż trwające badania pozwolą ustalić skuteczność i bezpieczeństwo leku u chorych nieleczonych dializami.

POTENCJALNE ZAGROŻENIA ZWIĄZANE ZE STOSOWANIEM HIF-PHI

Mechanizm regulacji HIFs w komórce nie jest skierowany jedynie na ekspresję genu dla erytropoetyny, ale uczestniczy też w wielu innych procesach biologicznych i szlakach metabolicznych organizmu.

Dane uzyskane z badań na modelach zwierzęcych sugerują, że przewlekła aktywacja HIFs może niekorzystnie wpływać na metabolizm, w tym na gospodarkę węglowodanową i metabolizm cholesterolu [3, 14]. Proponowanym sposobem leczenia jest zatem stosowanie leków stabilizujących HIFs w trybie przerywanym, co pozwoliłoby na uniknięcie działań niepożądanych związanych z ich przewlekłym przyjmowaniem. Początkowe obawy związane z leczeniem HIF-PHI były również spowodowane możliwą stymulacją angiogenezy poprzez wpływ na stężenie czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) co mogłoby wywoływać dalsze niekorzystne następstwa, takie jak: promowanie wzrostu nowotworu, powikłania sercowo-naczyniowe lub postęp powikłań okulistycznych cukrzycy. W świetle obecnych danych wpływ taki nie został jednak potwierdzony [15]. Pierwsze z badanych cząsteczek będących HIF-PHI były podejrzewane o potencjał hepatotoksyczny, choć ostatecznie nie potwierdzo-

►► Działanie badanych obecnie HIF-PHI opiera się na zasadzie antagonizmu kompetycyjnego z jednym z substratów reakcji hydroksylacji — α -ketoglutaranem ◀◀

►► Obecnie w badaniach klinicznych znajduje się kilka cząsteczek HIF-PHI, m.in. roksadustat, wadadustat, daprodustat, molidustat oraz cząsteczek JTZ-951 ►►

no związku między wystąpieniem niewydolności wątroby a przyjmowaniem leku. Pojawiają się też doniesienia o możliwym wpływie hipertensyjnym, szczególnie u chorych z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym.

PODSUMOWANIE

Leki z grupy HIF-PHI stanowią obiecującą grupę leków, mogącą zrewolucjonizować leczenie niedokrwistości u chorych z PChN. Blokując hydroksylację reszt prolinowych podjednostki α HIFs, leki te doprowadzają do akumulacji heterodimerów HIF w jądrze komórki, wywołując reakcję analogiczną do odpowiedzi komórki na niedotlenienie, m.in. zwiększone wydzielanie EPO, przyspieszenie dojrzewania i zwiększenie wytwarzania erytrocytów, obniżenie stężenia hepcydyny i korzystny wpływ na gospodarkę żelazową. Obecnie trwa kilkanaście badań klinicznych (w tym badania III fazy) różnych cząsteczek mogących znaleźć zastosowanie w terapii niedokrwistości, a jedna z cząsteczek — roksadustat — została już

dopuszczona do stosowania na terytorium Chin u chorych dializowanych. Przewagę HIF-PHI nad dotychczasowymi sposobami terapii stanowi z pewnością możliwość przyjmowania doustnego, a także fizjologiczny profil wydzielania EPO po ich zastosowaniu. Do zagrożeń można zaliczyć możliwy, choć dotychczas niepotwierdzony, wpływ na wzrost nowotworu czy postulowaną większą częstość powikłań sercowo-naczyniowych i metabolicznych przy przewlekłym stosowaniu.

Obecny stan wiedzy na temat tych cząsteczek pozwala sądzić, że HIF-PHI mogłyby stanowić w przyszłości wartościowe uzupełnienie standardowych form leczenia niedokrwistości, a być może nawet stać się pełnowartościową alternatywą dla dotychczas stosowanej terapii, szczególnie u chorych opornych na ESA. Możliwe, że leki te mogłyby być wykorzystywane również w innych schorzeniach, w których dochodzi do zmian o typie odwracalnego niedotlenienia — reperfuzji. Aby tak się stało, potrzebne są jednak dalsze badania na ten temat.

STRESZCZENIE

Jednym z częstych powikłań przewlekłej choroby nerek (PChN) jest niedokrwistość, w której patofizjologii główną rolę odgrywają niedostateczne wydzielanie erytropoetyny przez uszkodzone nerki, jak również zaburzenia gospodarki żelazem (w tym zwiększenie stężenia hepcydyny). Klasyczne leczenie niedokrwistości u chorych z PChN opiera się na wyrównywaniu niedoborów żelaza oraz podawaniu czynników stymulujących erythropoezę (ESA), będących analogami ludzkiej erytropoetyny. Odkrycie przez Semenę i Wanga w 1992 roku cząsteczki aktywującej ekspre-

sję genu dla erytropoetyny — indukowanego niedotlenieniem czynnika transkrypcyjnego HIF-1 — otworzyło drogę do badań nad nowymi sposobami terapii niedokrwistości u tych chorych. W artykule opisano obecny stan wiedzy na temat mechanizmu działania i możliwości klinicznego zastosowania nowych leków — inhibitorów hydroksylazy prolinowej czynników indukowanych niedotlenieniem (HIF-PHI) — w leczeniu niedokrwistości u chorych z PChN.

Forum Nefrol 2020, tom 13, nr 3, 116–120

Słowa kluczowe: niedokrwistość, żelazo, przewlekła choroba nerek, czynniki indukowane niedotlenieniem, HIF

1. Gellert R. Epidemiologia chorób nerek. W: Więcek A. (red.). Choroby nerek. Kompendium. Warszawa, PZWL 2020.
2. Lankhorst C.E., Wish J.B. Anemia in renal disease: diagnosis and management. *Blood Rev.* 2010; 24: 39–47.
3. Bonomini M., Del Vecchio L., Sirilli V., Locatelli F. New treatment approaches for the anemia of CKD. *Am. J. Kidney Dis.* 2016; 67: 133–142.
4. Donderski R., Kardymowicz A., Manitus J. Niedokrwistość nerkopochodna. Wybrane aspekty diagnostyki i terapii. *Chor. Serca Naczyń* 2009; 6: 82–93.
5. Coyne D.W. Anemia in chronic kidney disease treating the numbers, not the patients. *JAMA Intern. Med.* 2014; 174: 708–709.
6. Del Vecchio L., Locatelli F. Investigational hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors (HIF-PHI) for the treatment of anaemia associated with chronic kidney disease. *Expert Opin. Investig. Drugs* 2018; 27: 613–621.
7. Stachurska A., Florczyk U., Jozkowicz A., Dulak J., Loboda A. Nowe oblicza czynników indukowanych przez hipoksję — HIF-1 i HIF-2 a stres oksydacyjny. *Postepy Biochem.* 2010; 56: 156–164.
8. Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 5510–5514.
9. Fishbane S., Spinowitz B. Update on anemia in ESRD and earlier stages of CKD: core curriculum 2018. *Am. J. Kidney Dis.* 2018; 71: 423–435.
10. Freedman S.J., Sun Z.Y.J., Poy F. i wsp. Structural basis for recruitment of CBP/p300 by hypoxia-inducible factor-1 alpha. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002; 99: 5367–5372.
11. Locatelli F., Fishbane S., Block G.A., Macdougall I.C. Targeting hypoxia-inducible factors for the treatment of anemia

Piśmiennictwo

- in chronic kidney disease patients. *Am. J. Nephrol.* 2017; 45: 187–199.
12. Gupta N., Wish J.B. Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors: a potential new treatment for anemia in patients with CKD. *Am. J. Kidney Dis.* 2017; 69: 815–826.
 13. Dhillon S. Roxadustat: first global approval. *Drugs* 2019; 79: 563–572.
 14. Rankin E.B., Rha J., Selak M.A. i wsp. Hypoxia-inducible factor 2 regulates hepatic lipid metabolism. *Mol. Cell Biol.* 2009; 29: 4527–4538.
 15. Seeley T.W., Sternlicht M.D., Klaus S.J., Neff T.B., Liu D.Y. Induction of erythropoiesis by hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase inhibitors without promotion of tumor initiation, progression, or metastasis in a VEGF-sensitive model of spontaneous breast cancer *Hypoxia (Auckl.)* 2017; 5: 1–9.