

CHOROBY RZADKIE

MUKOWISCYDOZA – perspektywy medycyny personalizowanej

dr n. med. Łukasz Minarowski

II Klinika Chorób Płuc i Gruźlicy, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku



Fot. iStockphoto

Wprowadzenie

Mukowiscydoza (CF) jest autosomalną recesywną chorobą genetyczną spowodowaną mutacją genu regulatora przewodnictwa przez błonowy mukowiscydozy (*CFTR*). Gen *CFTR* koduje nabłonkowy kanał jonowy przewodzący jony chlorkowe i wodorowęglanowe oraz reguluje nabłonkowe kanały sodowe [1]. Białko CFTR ulega ekspresji na wysokim poziomie w błonie szczytowej komórek nabłonkowych [2, 3]. W ramach nadrodziny transporterów kasyety wiążącej ATP (klasa III, podrodzina C) receptor CFTR sprzęga hydrolizę

ATP z transportem zewnątrzkomórkowym chlorków i innych anionów organicznych [2]. Objawy mukowiscydozy wynikają z zajęcia narządów wydzielania zewnętrznego zawierających gruczoły śluzowe (płuca, wątroba, trzustka i jelita), powodując postępującą niewydolność wielonarządową [4–8]. W płucach nieprawidłowa funkcja białka CFTR powoduje wytwarzanie gęstego śluzu, zmniejszenie klirensu śluzowo-rzęskowego, przewlekły stan zapalny błony śluzowej układu oddechowego, przewlekłą kolonizację dolnych dróg oddechowych charakterystycznymi patogenami (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

aureus, *Haemophilus influenzae*) i w konsekwencji przewlekłą niewydolność oddechową [9]. Wraz z nieuniknionym postępowaniem choroby pacjenci często wymagają bardziej intensywnej terapii, która przed opracowaniem leków modulujących CFTR była ukierunkowana tylko na objawy [10]. Mukowiscydoza jest najczęstszą chorobą genetyczną w populacji kaukaskiej, na całym świecie zdiagnozowano 70 000–100 000 pacjentów [11]. Zidentyfikowano ok. 2000 mutacji białka CFTR i sklasyfikowano je w klasach funkcjonalnych I, II, III, IV, V i VI (tab. 1) [12]. Przyjmuje się, że mutacje klasy I, II i III prowadzą do klasyczne-

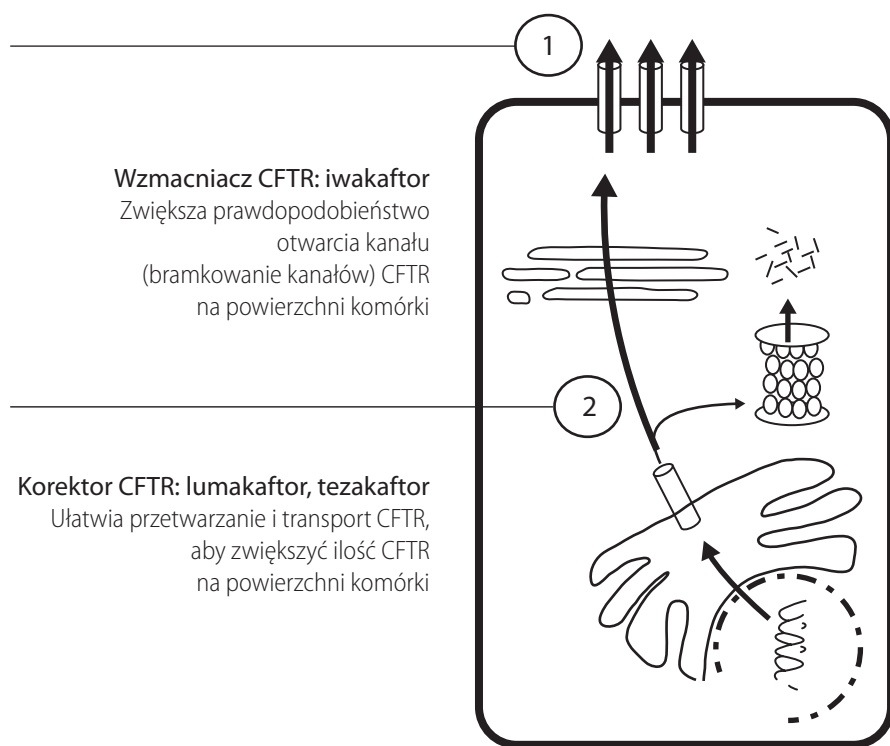
go fenotypu CF z niewydolnością trzustki i niefunkcyjnym CFTR (tzw. mutacje ciężkie), podczas gdy mutacje IV, V i VI wytwarzają częściowo funkcjonalną CFTR i są związane z łagodniejszą postacią choroby (tzw. mutacje lekkie) [12, 13]. W tabeli 1 przedstawiono sześć klas mutacji CFTR, przykłady każdej mutacji oraz wpływ na funkcję białka CFTR. Mimo że wprowadzenie przełomowego leczenia modulatorami CFTR poprawiło jakość życia dużej liczby chorych na CF z niektórymi mutacjami CFTR, to nadal istnieje potrzeba opracowania skutecznego leczenia dla pozostałych chorych, których mutacje CFTR nie są celem działania małych cząsteczkowych modulatorów. Choć leki modulujące CFTR są skuteczne w zwalczaniu podstawowej przyczyny CF, to nie zapewniają całkowitego wyleczenia. Z drugiej strony obecnie skuteczność terapii genowej, która może trwale skorygować, a nawet zapobiec CF w przyszłości, jest niska mimo opracowania wielu wektorów wirusowych lub niewirusowych przenoszących geny.

Modulatory białka CFTR

Klonowanie genu *CFTR* było punktem zwrotnym w leczeniu mukowiscydozy [1, 14, 15]. Początkowo duże nadzieje pokładano w opracowaniu skutecznej terapii genowej, ponieważ: (i) mukowiscydoza jest spowodowana zaburzeniem działania jednego genu, (ii) dostarczanie leków do płuc wydaje się łatwe i nieinwazyjne (np. aerozoloterapia), (iii) informacja o genotypie pacjenta nie jest potrzebna (w założeniu „wymieniamy” wadliwy gen), (iv) przyczyna patofizjologii choroby nie musi być całkowicie poznana [1, 14, 15]. Obecnie wiadomo, że po pierwsze transfer genów do płuc jest nieefektywny, po drugie kluczowe znaczenie ma zrozumienie czynników przenoszących geny, po trzecie na obecnym poziomie wiedzy terapia genowa może jedynie ustabilizować chorobę płuc [16]. Główną przewagą koncepcyjną terapii genowej nad modulatorami białka CFTR jest to, że mogłaby ona potencjalnie leczyć wszystkie klasy mutacji powodujących mukowiscydozę, w przeciwieństwie do iwakaftoru, który jest specyficzny dla rzadkiej mutacji G551D klasy III, lub połączenia iwakaftor + lumakaftor/tezakaftor dla bardziej powszechnych mutacji klasy II, np. F508del [8, 16]. Realnie płuco jest trudnym celem terapii genowej ze względu na skuteczne bariery wewnątrz- i zewnątrzkomórkowe, które chronią je przed wdychanymi środkami przenoszącymi geny. W szczególności błona jądrowa stanowi istotną barierę dla niewirusowych metod przenoszenia genów. Ponadto bariery pozakomórkowe obejmują

Tabela 1. Klasy mutacji genu *CFTR*

Klasa mutacji	Wpływ na białko CFTR	Fenotyp CF	Przykład mutacji
I	całkowita utrata funkcji	niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki, choroba oskrzelowo-płucna	1078delT, 1717-1G→A, 3659delC, 621 +1G→T
II	nieprawidłowa lokalizacja	niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki, choroba oskrzelowo-płucna	G85E, F508del, I507del, R560T, N1303K
III	nieprawidłowa regulacja działania	niewydolność zewnątrzwydzielnicza trzustki, choroba oskrzelowo-płucna	G178R, S549N, S549R, G551D, G551S, G970R, G1244E, S1251N, S1255P, G1349D
IV	zmieniona przewodność	łagodne objawy	R117H, R334W, R347P
V	zmniejszona synteza	łagodne objawy	2789 + 5G→A, 3849 + 10KbC→T, A455E
VI	upośledzony obrót komórkowy	łagodne objawy	120del23, N287Y



Rycina 1. Rodzaje modulatorów białka CFTR: wzmacniacz CFTR (1) i korektor CFTR (2) współpracują ze sobą, aby zwiększyć ekspresję CFTR na powierzchni komórki lub poprawić jego funkcję [38]

m.in. śluz, klirens śluzowo-rzęskowy i mechanizm odpowiedzi immunologicznej [17]. Nabłonek składa się z wysoce zróżnicowanych komórek, które są powoli i stale zastępowane komórkami progenitorowymi [18]. Dlatego skuteczne metody dostarczania genów muszą na trwałe zmieniać genotyp komórek progenitorowych, w innym przypadku należy systematycznie powtarzać terapię genową [19].

W związku z ww. problemami terapia lekami doraźnie zmieniającymi funkcję białka CFTR (modulatorami) wydaje się prostsza, skuteczniejsza i co najważniejsze – tańsza do opracowania oraz wdrożenia. W ostatnich 15 latach postęp w opracowywaniu precyzyjnej terapii dla pacjentów z mukowiscydozą jest znaczący. Stosowanie tych leków może zmienić przebieg choroby, a nawet zatrzymać jej postęp.

Znajomość genotypu pacjentów (określenie mutacji obu alleli genu *CFTR*) w Polsce jest kluczowa dla zaplanowania odpowiedniej polityki lekowej. Ze względu na dużą liczbę mutacji genu *CFTR* (ponad 2200 mutacji zarejestrowanych w CFTR Muta-

tion Database) wskazanie jednej kombinacji mutacji, dla których modulatory CFTR byłyby refundowane, będzie niekorzystne dla pacjentów. Obecnie wiemy, że mutacje w obrębie poszczególnych klas wykazują podobieństwo w mechanizmach translacji czy transkrypcji, a także dojrzewania transkryptu genu *CFTR*. Badania funkcjonalne skuteczności modulatorów CFTR w obrębie poszczególnych klas (np. na organoidach) pozwolą prawdopodobnie na powiększenie docelowej grupy osób z CF o różnym genotypie, przez co zwiększy się liczba potencjalnych leczonych, a koszty leczenia obniżą.

Iwakaftor jest pierwszym zatwierdzonym przez FDA i EMA lekiem wzmacniającym działanie białka CFTR o udowodnionej skuteczności klinicznej, powodującym znaczną poprawę czynności płuc w porównaniu z placebo u pacjentów z CF z mutacją zmiany sensu G551D (mutacja klasy III występująca u ok. 4–6 proc. osób z CF) [20]. Przeprowadzone dotychczas badania doprowadziły do zatwierdzenia iwakaftoru w leczeniu osób z mukowiscydozą o ge-

notypie G1244E, G1349D, G178R, G551S, S1252N, S1255P, S549N, S549R i R117H [60, 61]. Niestety, efekty monoterapii iwakaftorem u pacjentów z bardziej powszechną homozygotyczną mutacją F508del, która powoduje nieprawidłowe składanie białka CFTR (mutacja klasy II, występująca u ok. 40 proc. osób z CF), są ograniczone.

W 2015 r. lek Orkambi, który stanowi połączenie iwakaftoru ze wzmacniaczem czynności CFTR – lumakaftorem, uzyskał aprobatę FDA. W 2018 r. korektor drugiej generacji, tezakaftor, uzyskał aprobatę w połączeniu z iwakaftorem [18]. Strategia łączenia korektora CFTR, który zwiększa ekspresję wadliwego białka CFTR na powierzchni komórki, oraz modulatora zwiększającego aktywność kanału CFTR, skutecznie poszerza możliwość leczenia w populacji chorych na CF [21]. Trwają kolejne badania mające na celu zwiększenie ilości wewnątrzkomórkowego białka CFTR, stabilizację CFTR na powierzchni błony komórkowej oraz stymulację innych kanałów chlorkowych lub hamowanie nabłonkowego kanału sodowego ENaC [22].

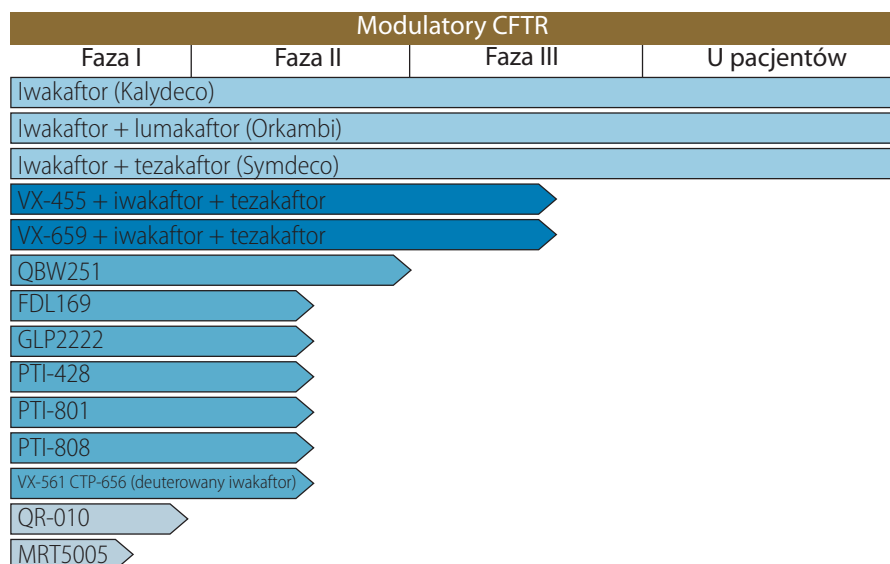
Tezakaftor jest korektorem CFTR nowej generacji, podobnym do lumakaftoru, który ułatwia przetwarzanie i transport CFTR, zwiększając ilość funkcjonalnego CFTR na powierzchni komórki [24]. Wyniki badań stosowanych oddzielnie modulatorów CFTR, iwakaftoru i tezakaftoru, u pacjentów homozygotycznych i heterozygotycznych pod kątem CFTR F508del wykazały poprawę ppFEV1 średnio o 4,0 punktu procentowego w porównaniu z placebo ($p < 0,0001$) i średnią poprawę ppFEV1 o 6,8 punktu procentowego w porównaniu z placebo ($p < 0,0001$), odpowiednio [22–24]. Badanie fazy II trzech różnych schematów potrójnej kombinacji leków (iwakaftor + tezakaftor + VX-445/VX-659) u pacjentów z heterozygotyczną mutacją F508del i z jedną mutacją o zachowanej funkcji resztkowej (MF, mutacje klas III–VI) wykazało średnią bezwzględną poprawę ppFEV1 odpowiednio o 13,3 i 13,8 punktu procentowego w grupie F508del-MF ($p < 0,001$) [25, 26]. U pacjentów w heterozygotycznej grupie F508del, którzy już otrzymywali tezakaftor + iwakaftor, dodanie VX-445 i VX-659 spowodowało wzrost odsetka przewidywanego FEV1 odpowiednio o 11,0 i 9,7 punktu ($p < 0,001$) [27, 28]. We wszystkich badaniach dotyczących tezakaftoru schematy podwójnej lub potrójnej kombinacji były ogólnie dobrze tolerowane. Na podstawie wyników dotychczasowych badań program badania modulatorów CFTR nowej generacji został przyspieszony i otrzymał zgodę FDA na połączenie tezakaftoru + iwakaftoru u osób z CF w wieku 12 lat i starszych, które mają dwie kopie mutacji F508del lub jedną mutację F508del i jedną MF, która reaguje na tezakaftor + iwakaftor. Dlatego efekt dodania tezakaftoru u heterozygotycznych pacjentów z F508del jest większy niż efekt obserwowany w przypadku samego iwakaftoru, co sugeruje dalsze zwiększenie efektu w porównaniu z monoterapią iwakaftorem w heterozygotycznych mutacjach F508del i mutacjach reagujących na iwakaftor. Po-

łączenie lumakaftoru + iwakaftoru było do 2018 r. jedyną terapią u pacjentów homozygotycznych pod względem F508del genu *CFTR*. Obecnie dostępne jest również połączenie tezakaftoru + iwakaftoru o korzystniejszym profilu bezpieczeństwa.

Zakres oddziaływania leczenia przyczynowego modulatorów CFTR wykracza daleko poza wpływ na parametry układu oddechowego. Wydaje się logiczne i uzasadnione, aby leki te były stosowane u chorych z CF, zanim dojdzie do nieodwracalnych zmian narządowych w układzie oddechowym (rozstrzenie oskrzeli z przewlekłą kolonizacją bakteryjną) i pokarmowym (zewnątrzwydzielnicza niewydolność trzustki, marskość wątroby). Modulatory CFTR zmniejszają stężenie jonów Cl^- w pocie, zwiększają masę ciała oraz BMI pacjenta. Chorzy, którzy byli nimi leczeni, zgłaszali również poprawę jakości życia. Korzystny wpływ na ww. parametry jest tym większy, im wcześniej rozpoczyna się leczenie (np. u dzieci).

Od czasu wprowadzenia terapii skojarzonej iwakaftorem z lumakaftorem pojawiło się kilka nieznanych dotąd problemów, które mogą ograniczać skuteczność terapii skojarzonej modulatorami CFTR z powodu antagonistycznych interakcji lek-lek [29, 30]. Pacjenci otrzymujący leczenie skojarzone iwakaftorem z lumakaftorem wykazywali jedynie niewielką poprawę czynności płuc i zaostżeń płucnych [73]. Dostępne wyniki badań wykazały, że lumakaftor jest indukto-rem enzymów metabolizujących leki przez cytochrom P450, a paradoksalnie iwakaftor jest substratem CYP3A4 – może to powodować zmniejszenie stężenia iwakaftoru w osoczu poniżej progu terapeutycznego [31–35]. Ponadto przedłużona ekspozycja na iwakaftor przeciwdziałała funkcji korektora lumakaftoru poprzez destabilizację dojrzalej glikoformy CFTR z mutacją F508del i obniżenie jej ekspresji powierzchniowej [35, 36]. Wyżej wspomniane problemy nie zostały zaobserwowane w odniesieniu do tezakaftoru, co pozwala mieć nadzieję na lepsze wyniki leczenia. Objawy niepożądane u chorych otrzymujących modulatory CFTR obejmowały bóle głowy, zakażenia górnych dróg oddechowych, biegunkę, eozynofilię obwodową; nie obserwowano niekorzystnego wpływu modulatorów CFTR na parametry życiowe, wyniki badań laboratoryjnych inne niż eozynofilia obwodowa lub zaburzenia rytmu serca.

Liczne nowe cząsteczki skierowane na CFTR są obecnie w fazie badań klinicznych (ryc. 2). Dotychczas tylko iwakaftor w monoterapii i połączenie lumakaftoru z tezakaftorem zostało zatwierdzone przez FDA lub EMA. Chociaż monoterapia iwakaftorem radykalnie poprawiła życie bardzo małej części chorych na CF, nieustającym wyzwaniem jest osiągnięcie podobnego sukcesu w całej tej grupie. Dlatego konieczna jest precyzyjna medycyna translacyjna w celu zidentyfikowania optymalnych kombinacji leczenia dla pacjentów z CF (homozygot F508del oraz z innymi rzadkimi mutacjami *CFTR*) [37, 38]. ■



Rycina 2. Schemat procesu opracowywania leku w fazie klinicznej I–IV dla związków przywracających funkcję CFTR (adaptacja: <https://www.cff.org/Trials/Pipeline>) [38]