

Budoucnost farmakologické léčby

Aleš Linhart

**II. interní klinika
kardiologie a angiologie**
**Komplexní
kardiovaskulární centrum**
VFN a 1. LF UK
Praha



Terapeutické cíle u kardiomyopatií

- Sarkomerické kardiomyopatie
 - Ovlivnění mechanismů kontrakce a relaxace
 - Ovlivnění iontových kanálů
 - Modifikace buněčného metabolismu
 - Ovlivnění genetických mechanismů
- Nesarkomerické kardiomyopatie
 - Lysosomální poruchy – enzymatická substituční terapie
 - TTR amyloidóza – stabilizace tetramerů, genetická léčba
 - DMD – genetická léčba
 - Friedreichova ataxie – ovlivnění oxidativního stresu

Missense mutace

Defektní protein

Haploinsuficience

Toxicita defektního proteinu

Heterogenita postižení svalového vlákna

MYBPC3

Zvýšená senzitivita myofilament k Ca^{2+}

Porucha homeostázy Ca^{2+}

Zvýšená aktivita ATPázy

Zvýšená síla kontrakce

Porucha efektivity kontrakce

Zvýšená energetická náročnost kontrakce

Hemodynamické a mechanické stimuly

Aktivace pro-apoptotických stimulů

Aktivace trofických stimulů

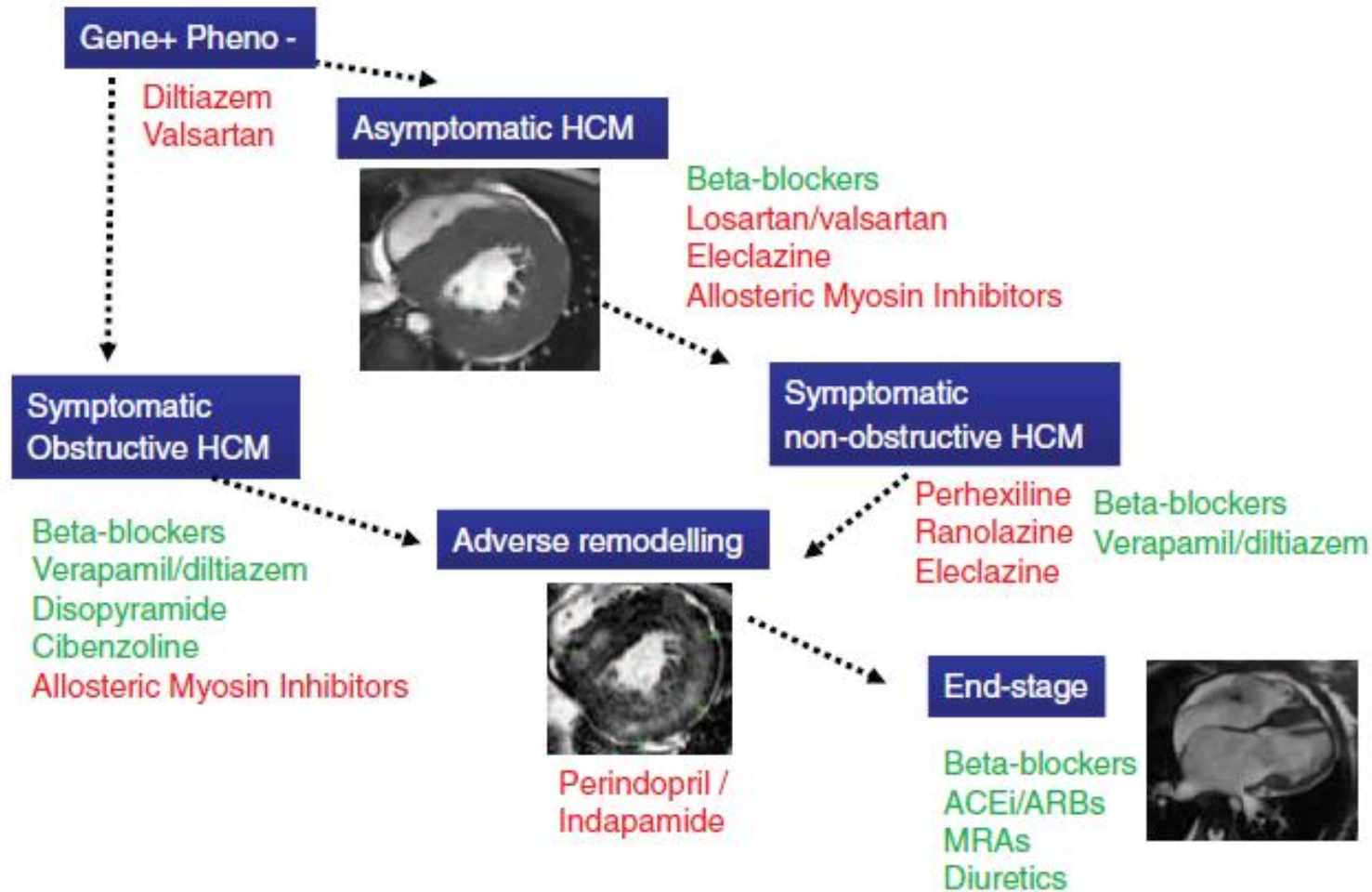
Aktivace neurohormonálních stimulů

Fibróza

Hypertrofie

Pharmacological treatment of hypertrophic cardiomyopathy: current practice and novel perspectives

Enrico Ammirati^{1*}, Rachele Contri², Raffaele Coppini³, Franco Cecchi³,
Maria Frigerio¹, and Iacopo Olivetto^{3*}



OVLIVNĚNÍ SENZITIVITY KE KALCIU

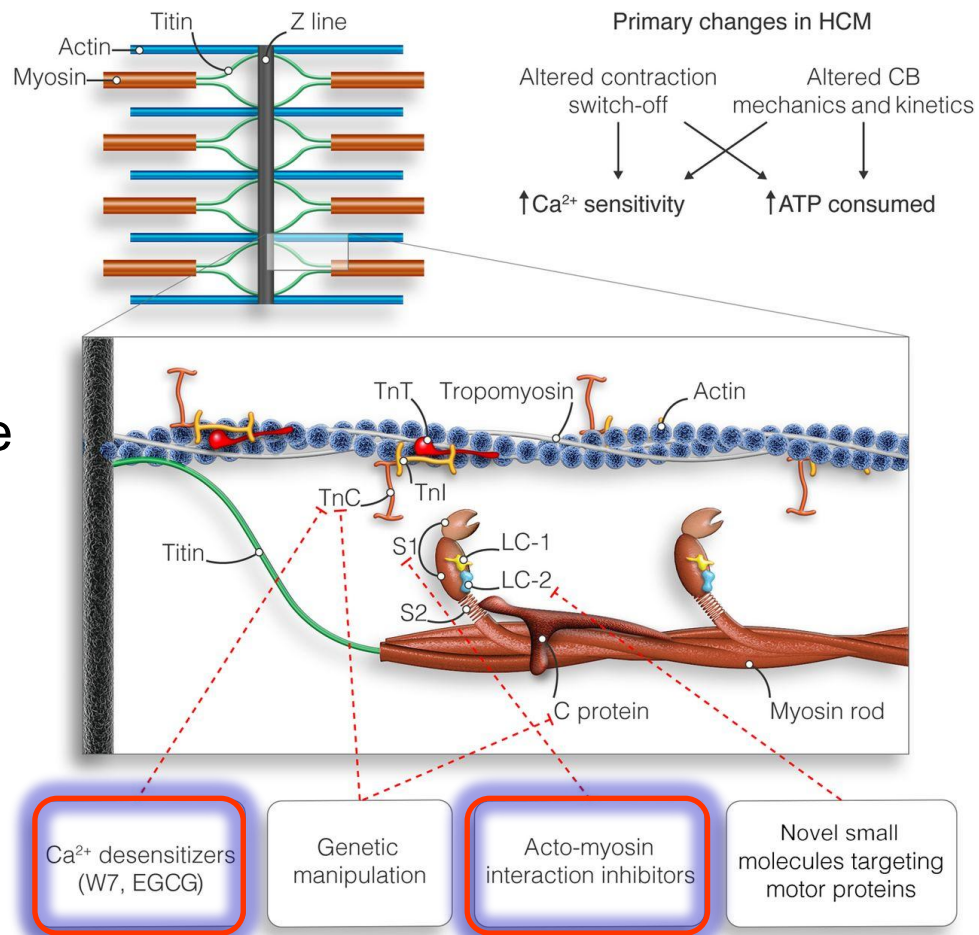
Ovlivnění zvýšené senzitivity myofilament k Ca^{2+}

- Tenká filamenta – troponin C -Kalciové de-senzitizéry

- Blebbistatin
- Antagonisté kalmodulinu
- Flavonoidy ze zeleného čaje
- Nebivolol (nikoli jiné BB)

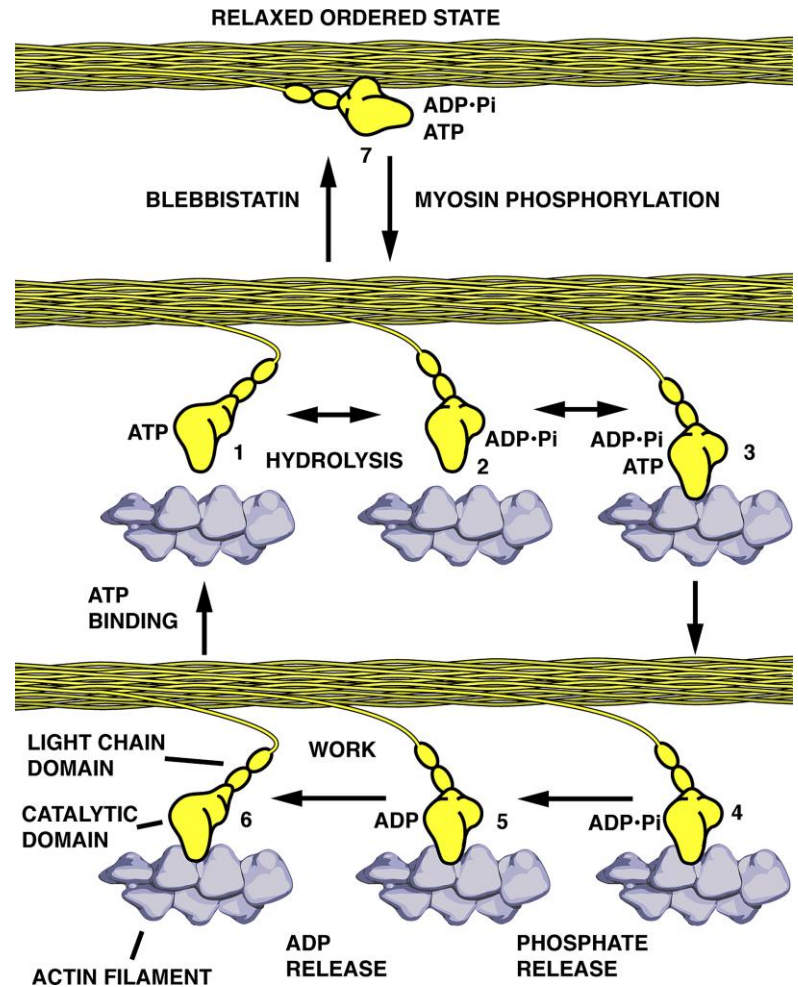
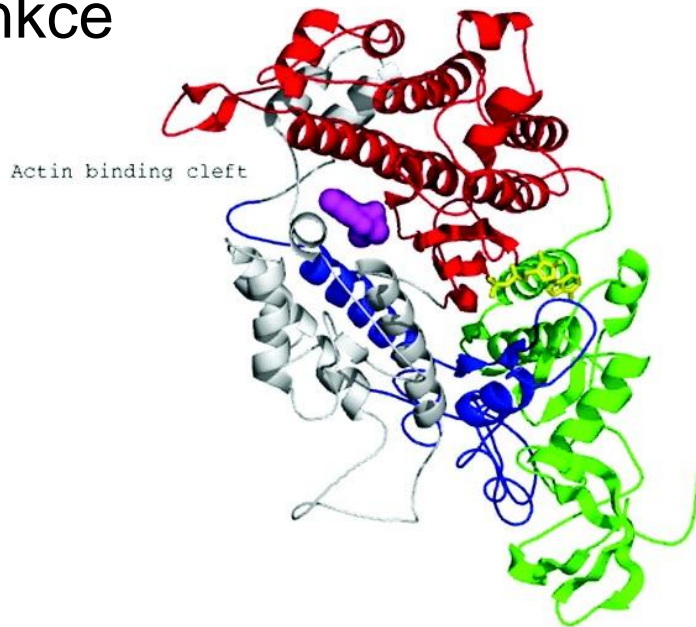
- Inhibitory aktino-myozinové interakce

- Blebbistatin
- 2,3-butanedione monoxime



Blebbistatin

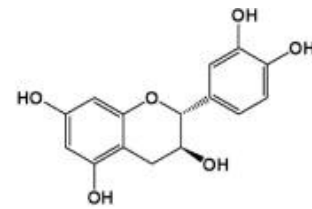
- Malá molekula inhibující muskulární a nemuskulární myosin II
- Blokuje myosin II ve stavu odděleném od aktinu
- Zlepšení diastolické funkce



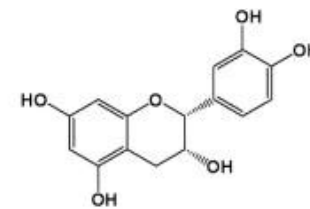
Mihály Kovács et al. J. Biol. Chem. 2004;279:35557-35563

Aktivní polyfenoly obsažené v zeleném čaji (katechiny)

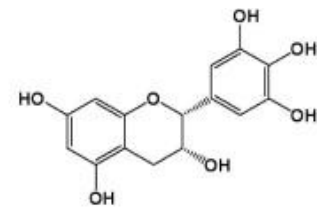
- ECG a EGCG – fungují jako Ca desenzitizéry
- Klíčová role galloylové skupiny
- **Účinkují primárně na úrovni cTnC**
- **EGCG zlepšuje diastolickou funkci**
- Antioxidační, protizánětlivé a vasodilatační účinky



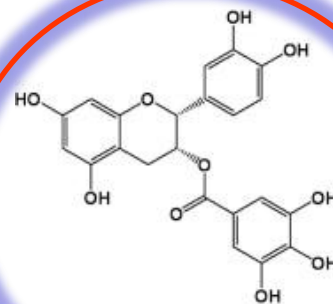
(+)-Catechin (C)



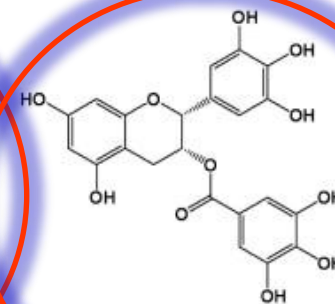
(-)-Epicatechin (EC)



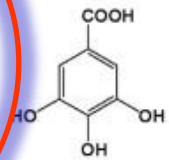
(-)-Epigallocatechin (EGC)



(-)-Epicatechin-3-gallate (ECG)



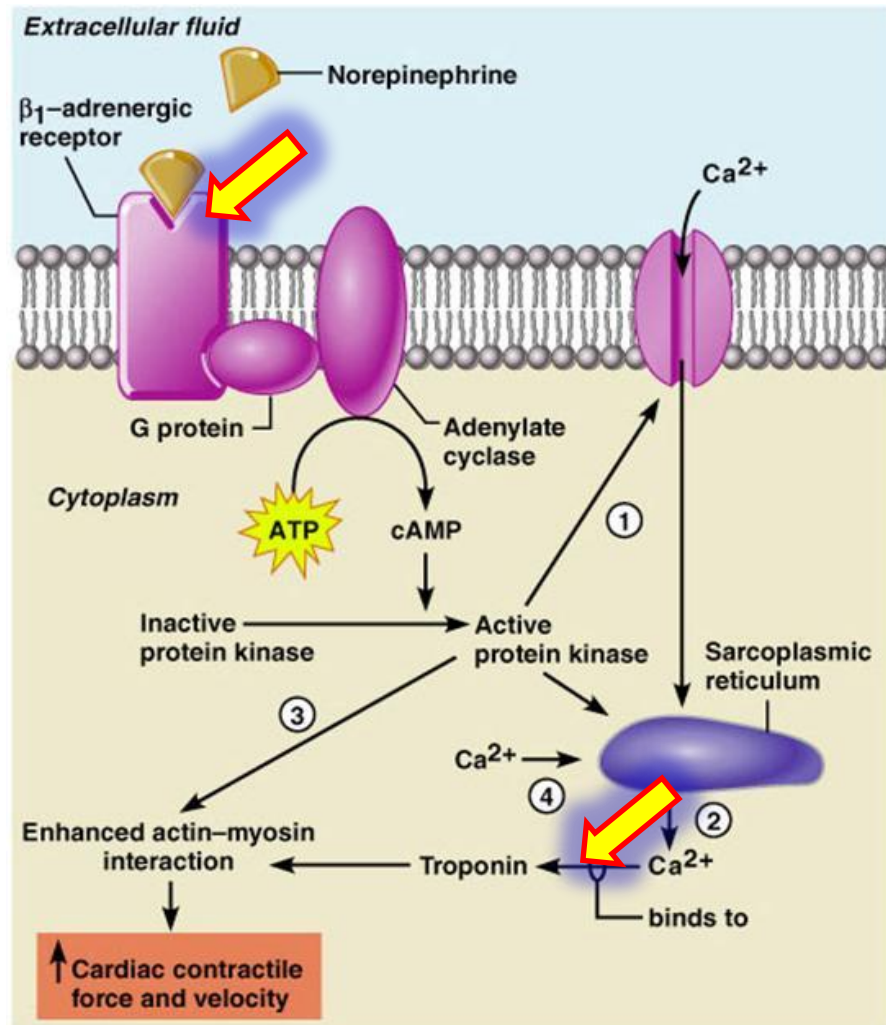
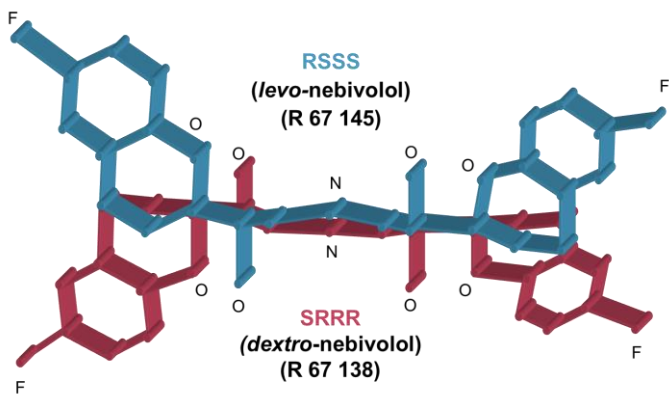
(-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)



Gallic acid (GA)

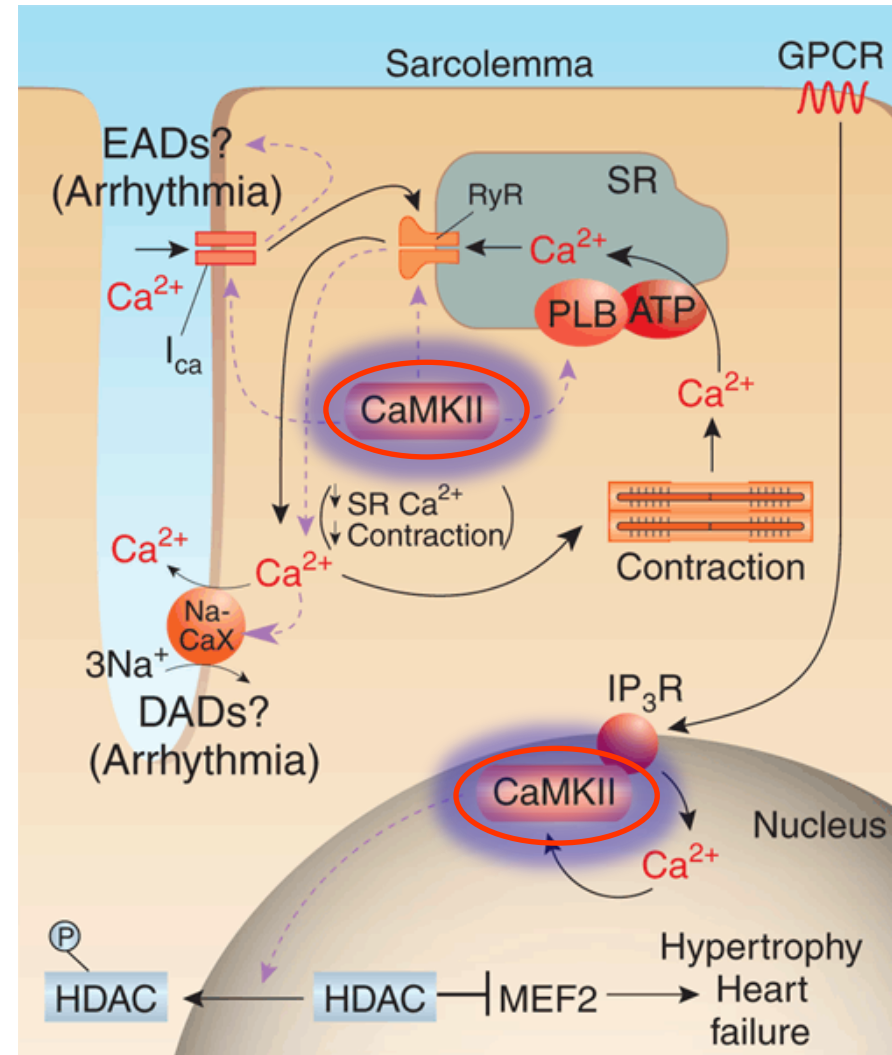
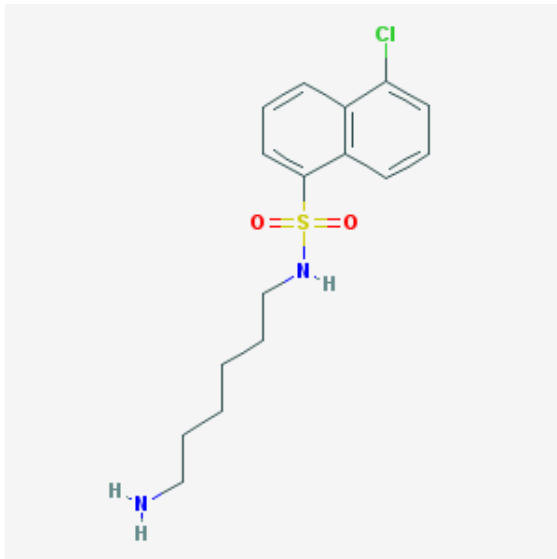
Nebivolol

- V experimentu prokázána desenzitizace myofilament
- Propranolol ani carvedilol tento efekt nevykazují
- Efekt je nejsilnější v situacích spojených se zvýšeným oxidativním stresem



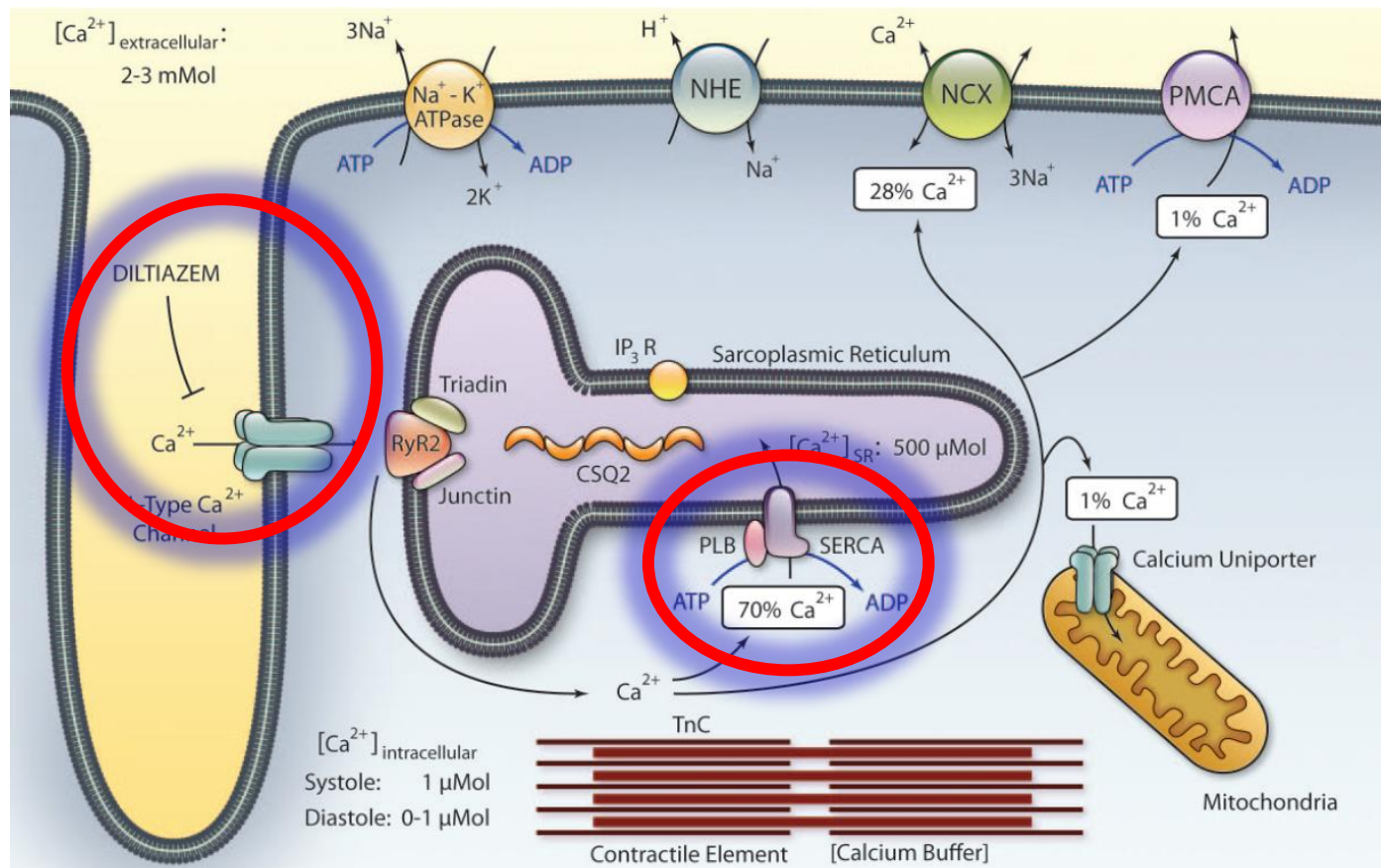
Antagonisté kalmodulinu –inhibice kontrakcí

- P.o. podávané malé molekuly
- **Inhibice Ca²⁺/kalmodulin-dependentní protein kinázy II**
- Mohou interagovat i cTnC (W7)
- N-(6-aminohexyl)-5-Chloro-1-naphthalenesulfonamide (**W7**)



Ovlivnění metabolismu kalcia v buňkách

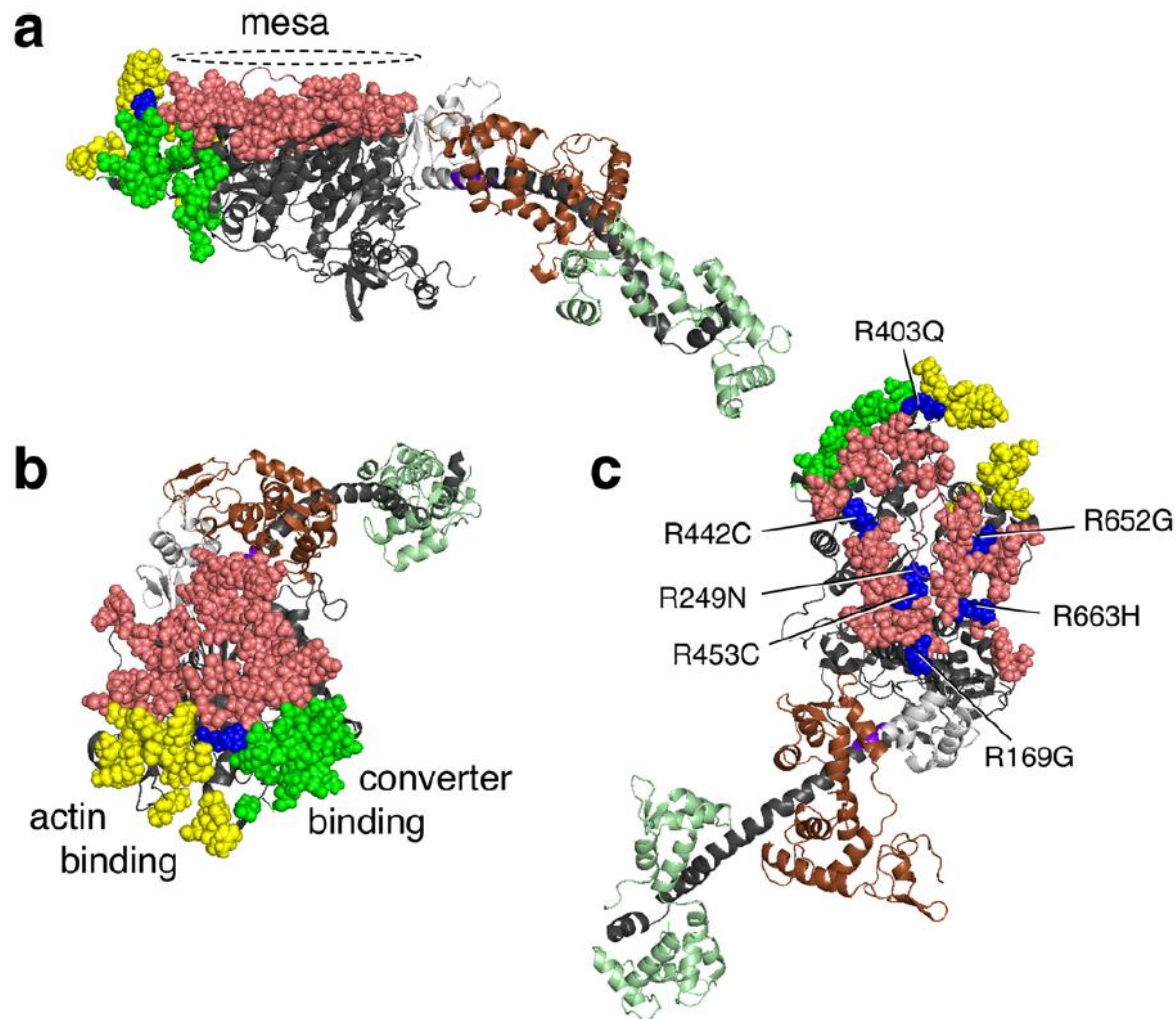
- Genotyp + / LVH - – profylaktická léčba diltiazemem
- Modifikace
 - **SERCA 2A / Phospholamban**



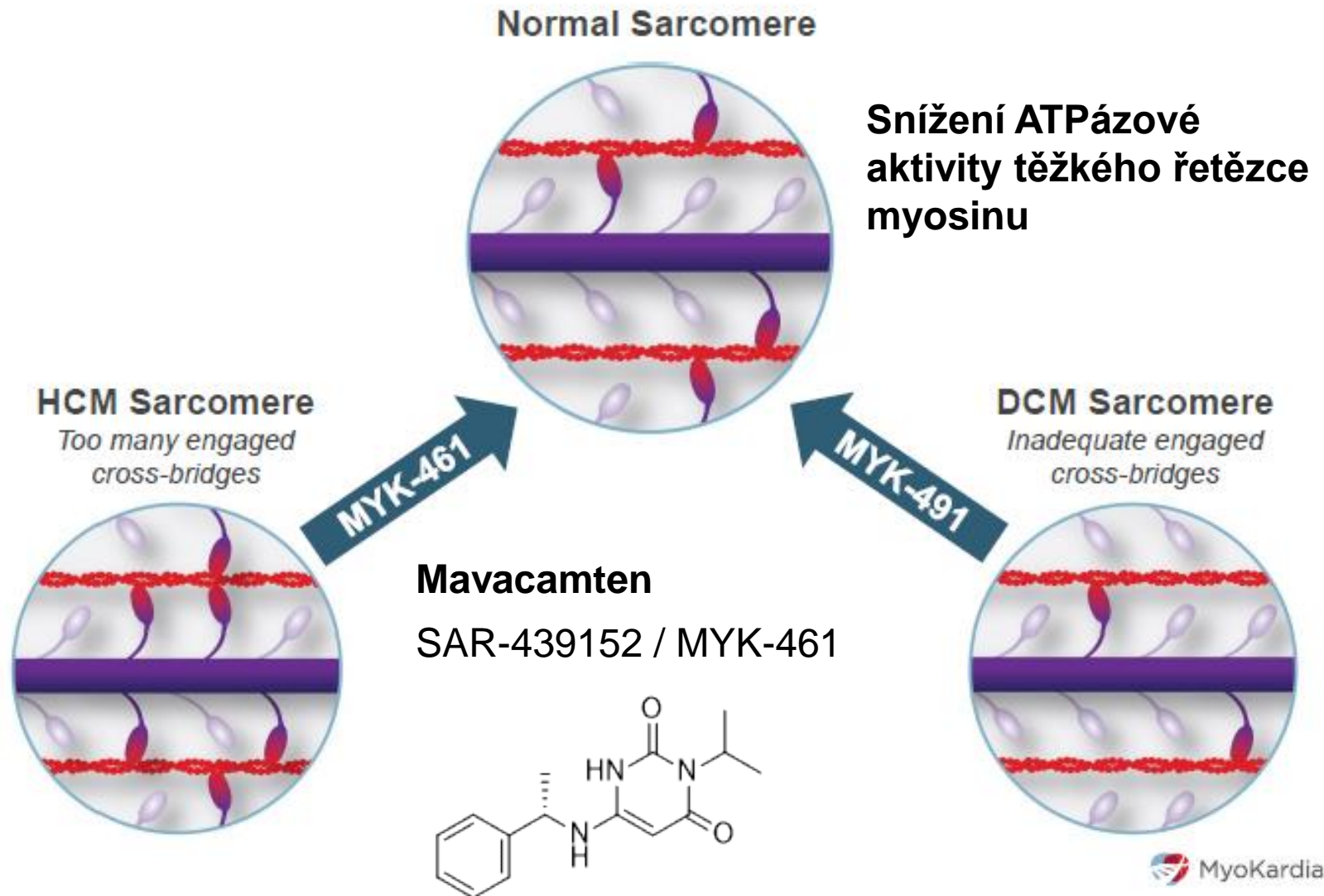
Ashrafian H. et al. Circ Res. 2011;109:86-96.

MYOSINOVÉ INHIBITORY

HKMP a „mesa“ myosinu



MyoKardia's Product Candidates are Designed to Correct the Underlying Causal Defects

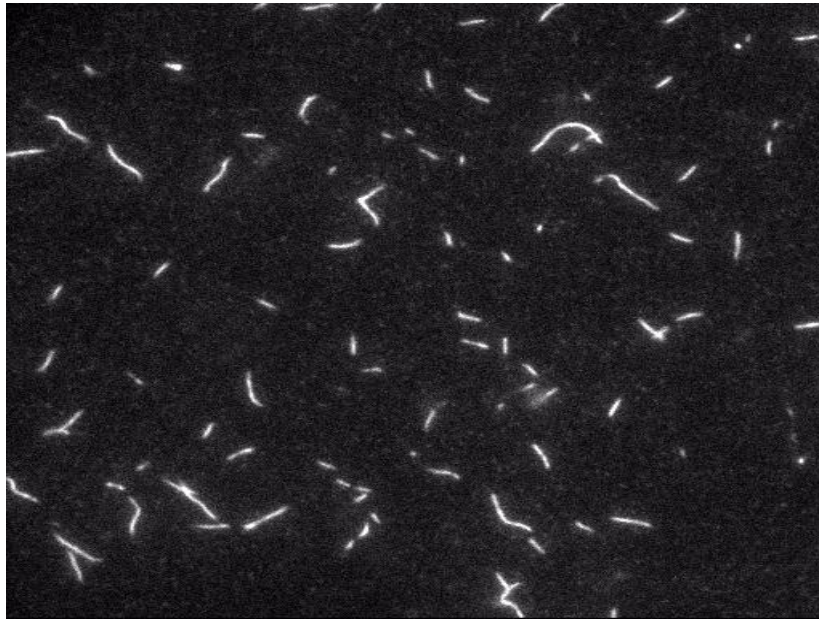


Proprietary Assays Measuring Changes in Velocity and Force of Contraction

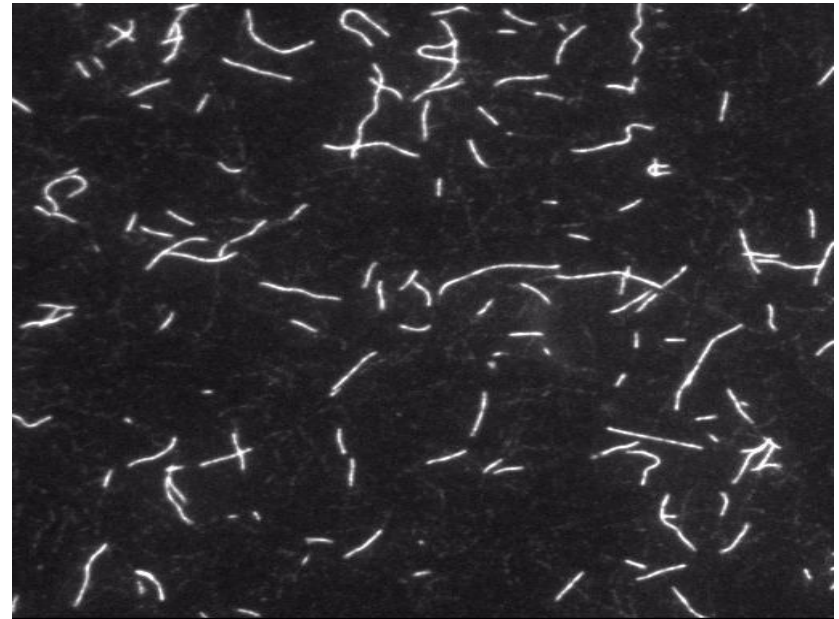


fluorescently-labeled actin being moved by myosin “motor” fixed to well

Control



MyoKardia Compound Reduces Contraction



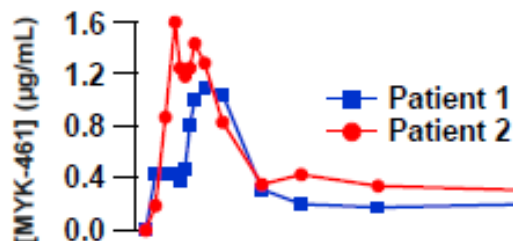
Source: Unpublished Company data

Courtesy: I. Olivotto, Florence, Italy

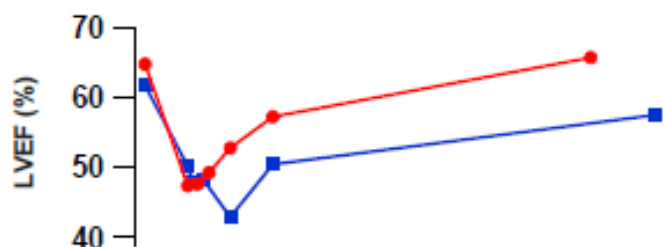
Single Dose Trial Experience Suggests Linkage Between Reductions in Contractility and LVOT Obstruction, Each Caused by MYK-461



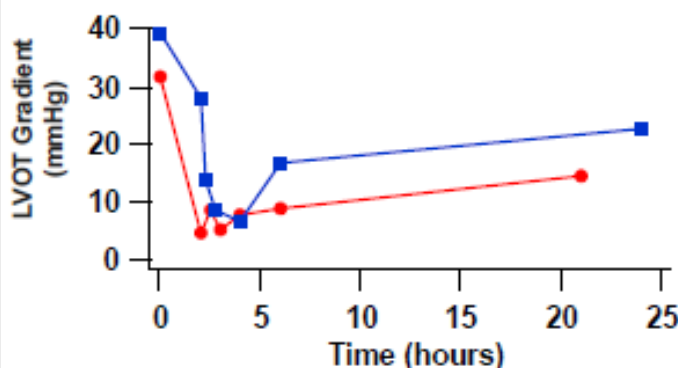
Drug Exposure (PK)



Contractility



LVOT Obstruction



Conclusions

- Both patients' gradients reduced following single dose of MYK-461
- Time course of drug exposure corresponds to temporal pattern of reduction in contractility (LVEF) and LVOT gradient
- Consistent with literature and MYOK pre-clinical experiments that reduction in contractility leads to reducing outflow tract gradients
- Further exploration of relationship among contractility, LVOT gradient and other measures in PIONEER-HCM and beyond

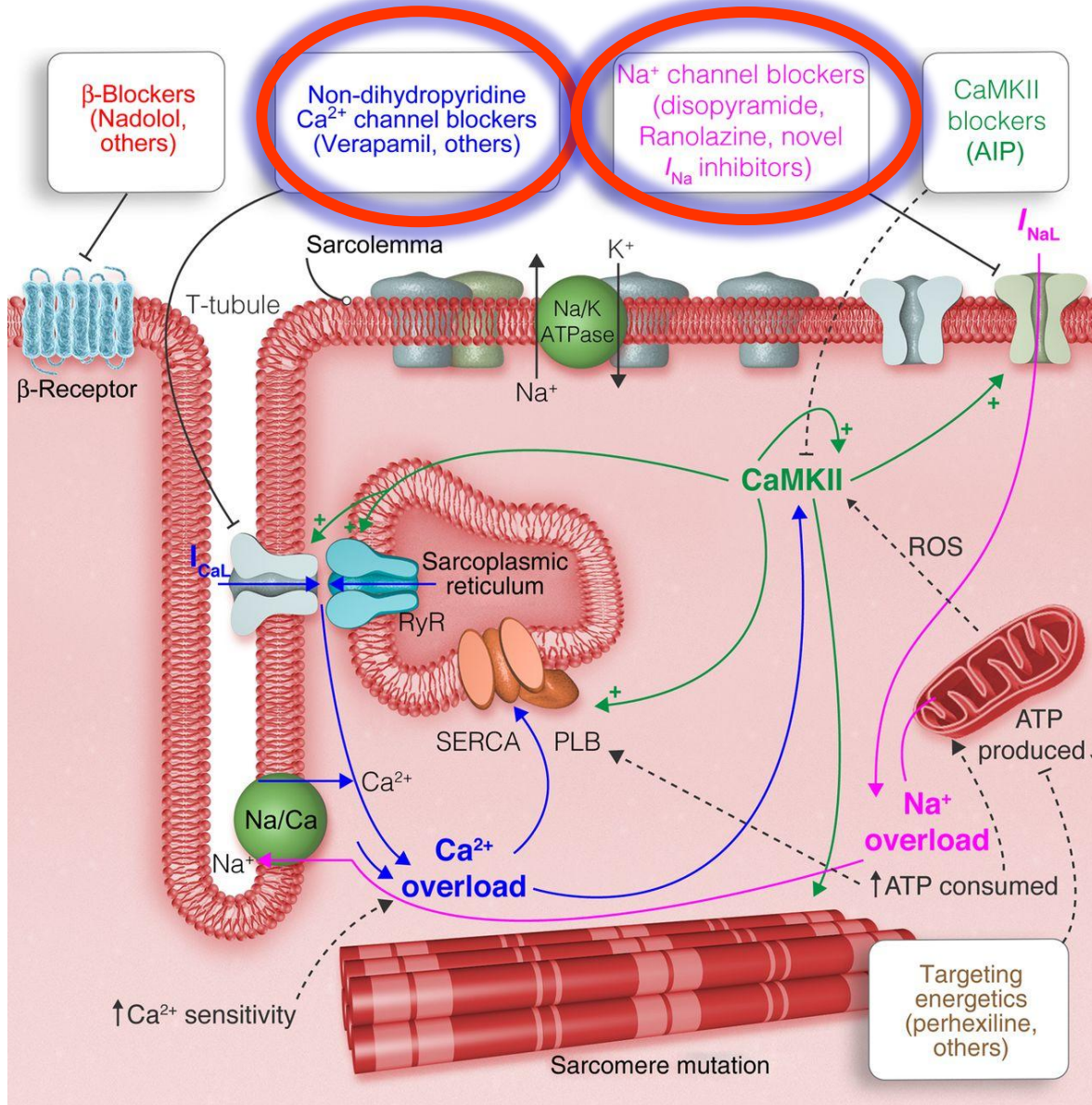
Phase 2 PIONEER-HCM

	Baseline, mean (SD) n=11	Week 12, mean (SD) n=10	Change from BL to WK 12	p-value
Post-Exercise Peak LVOT Gradient, mmHg	125 (60.0)	19 (12.9)	-112 (63.8)	0.002
Peak VO ₂ , mL/kg/min	20.7 (7.44)	24.6 (8.78)	+3.5 (3.25)	0.004

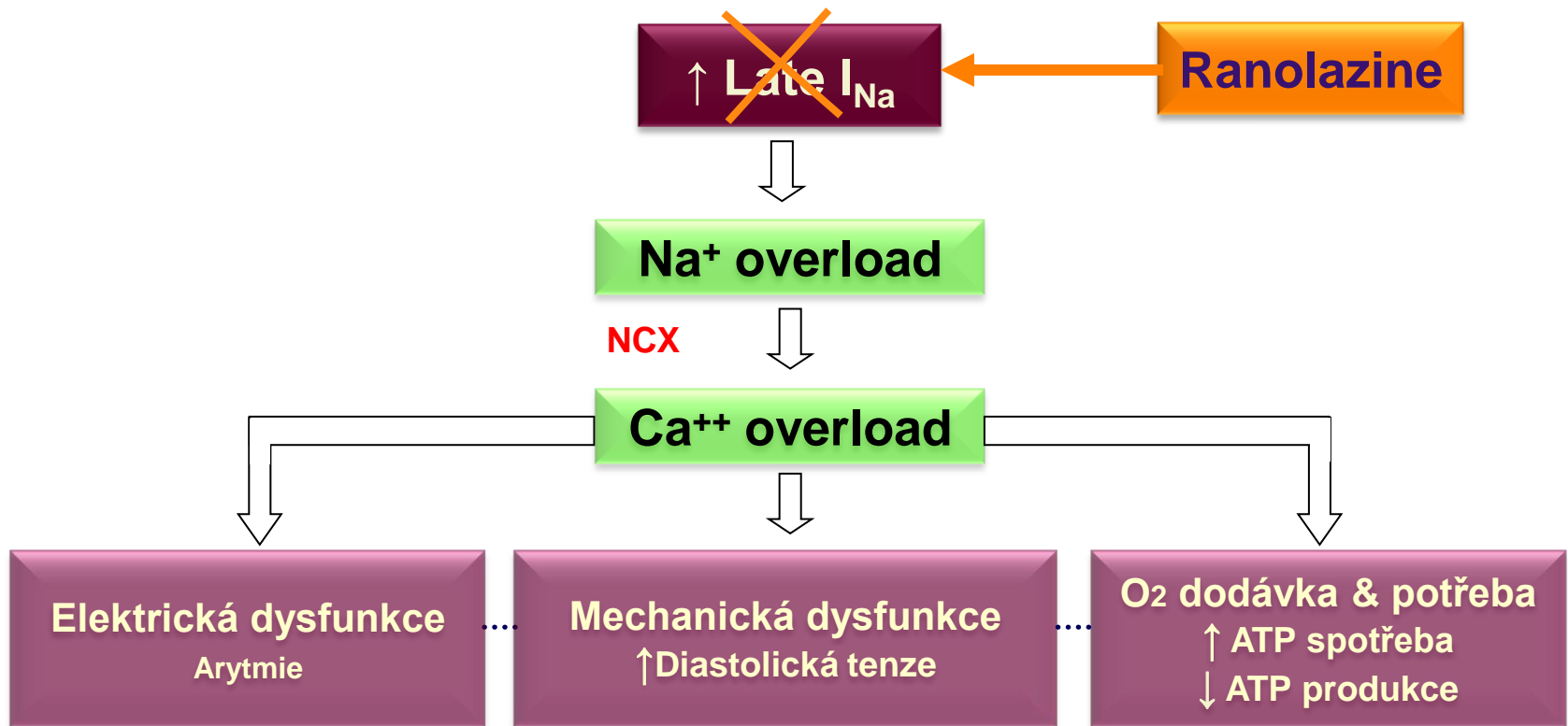
- Expected EXPLORER – HCM n=200
- Phase 2 MAVERICK-HCM – non-obstructive HCM

OVLIVNĚNÍ IONTOVÝCH KANÁLŮ

Ovlivnění iontových kanálů



Blokáda pozdního Na kanálu - Ranolazine



NCX: sodium-calcium exchanger

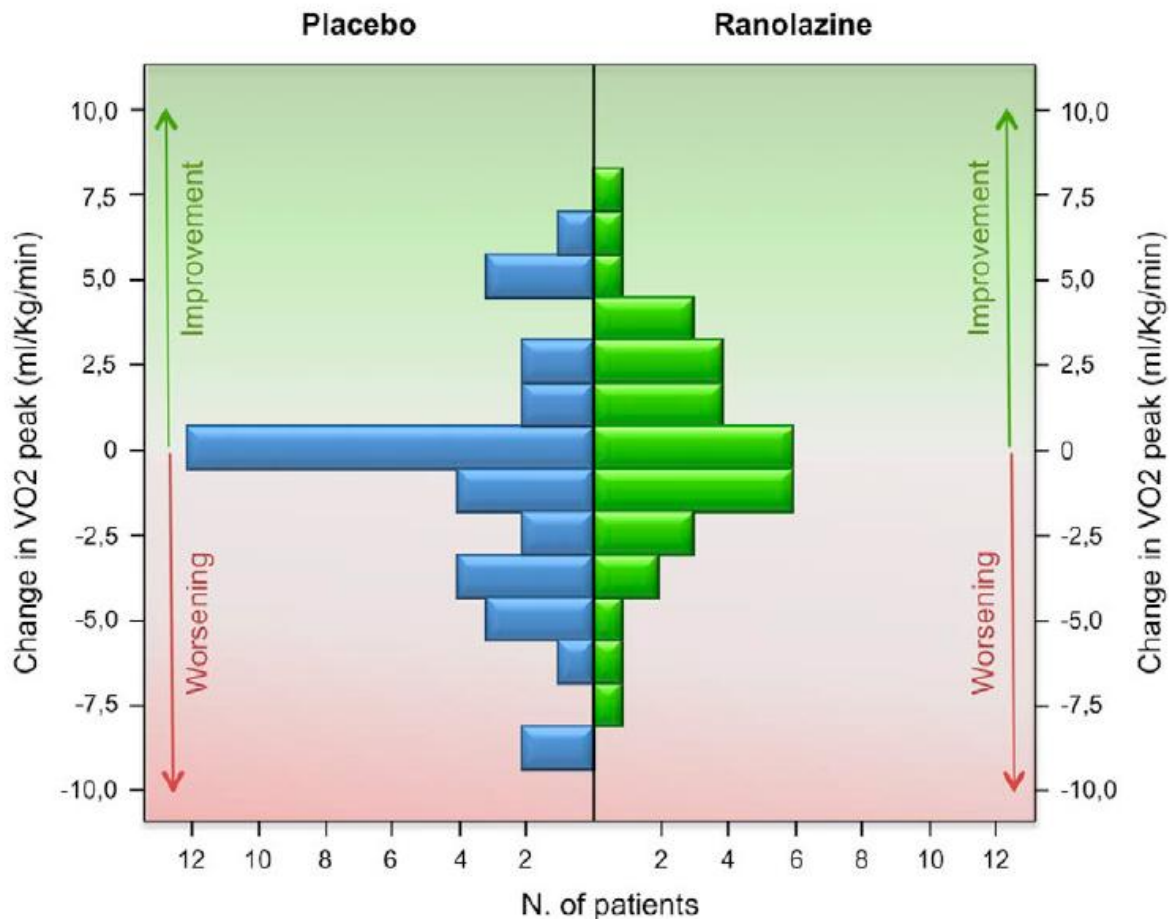
V animálním experimentu HKMP zlepšení diastolické funkce

EudraCT Number: 2011-004507-20

RANOLAZINE IN PATIENTS WITH SYMPTOMATIC HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY: A PILOT STUDY
ASSESSING THE EFFECTS ON EXERCISE CAPACITY, DIASTOLIC FUNCTION AND SYMPTOMATIC STATUS

Ranolazin - randomizovaná 5měsíční studie u symptomatických nemocných s HKMP (n=80)

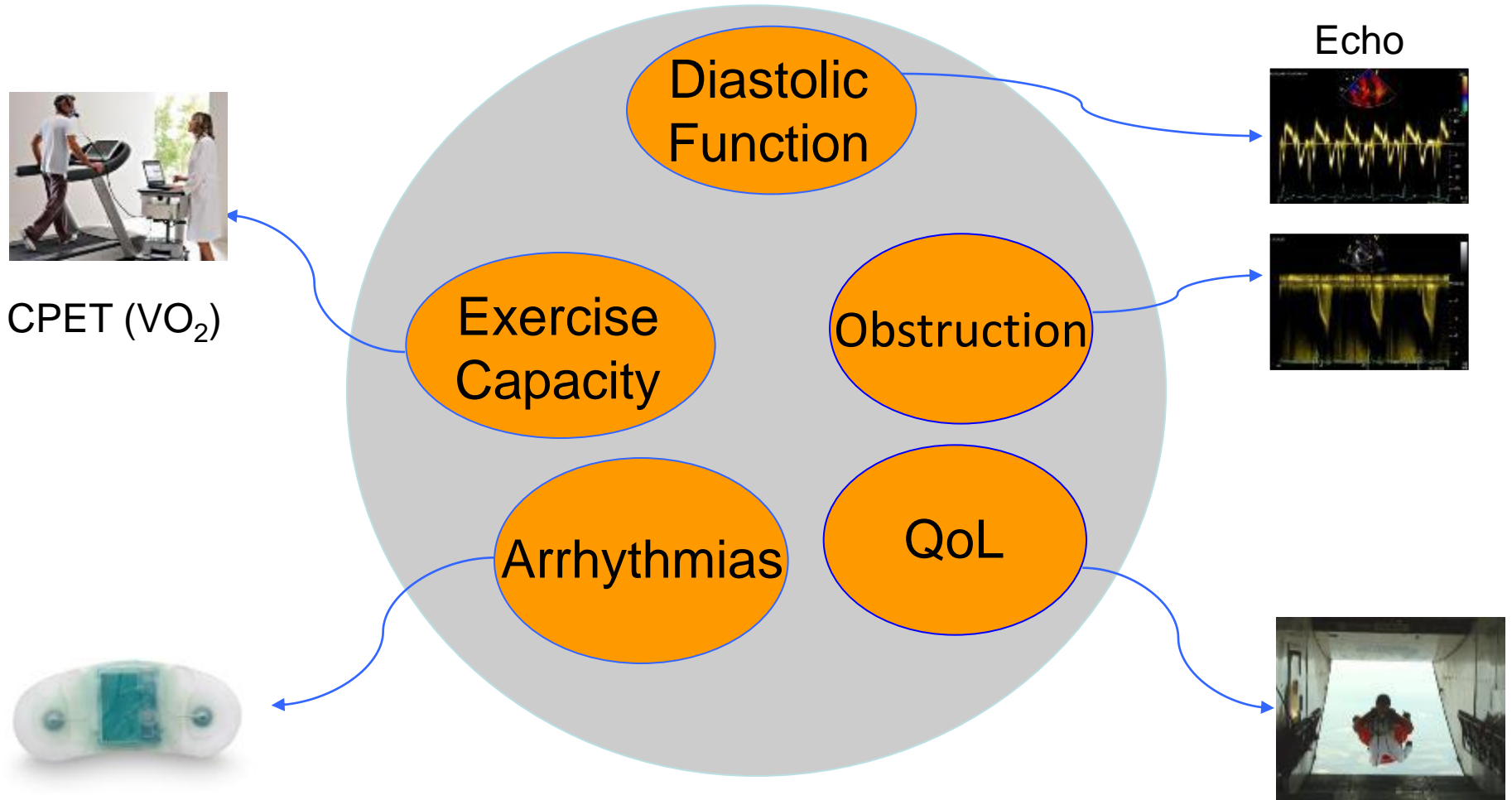
RESTYLE-HCM



LIBERTY-HCM

Impact of Late sodium current Inhibition on Exercise capacity in subjects with symptomatic HCM

(GS-6615)

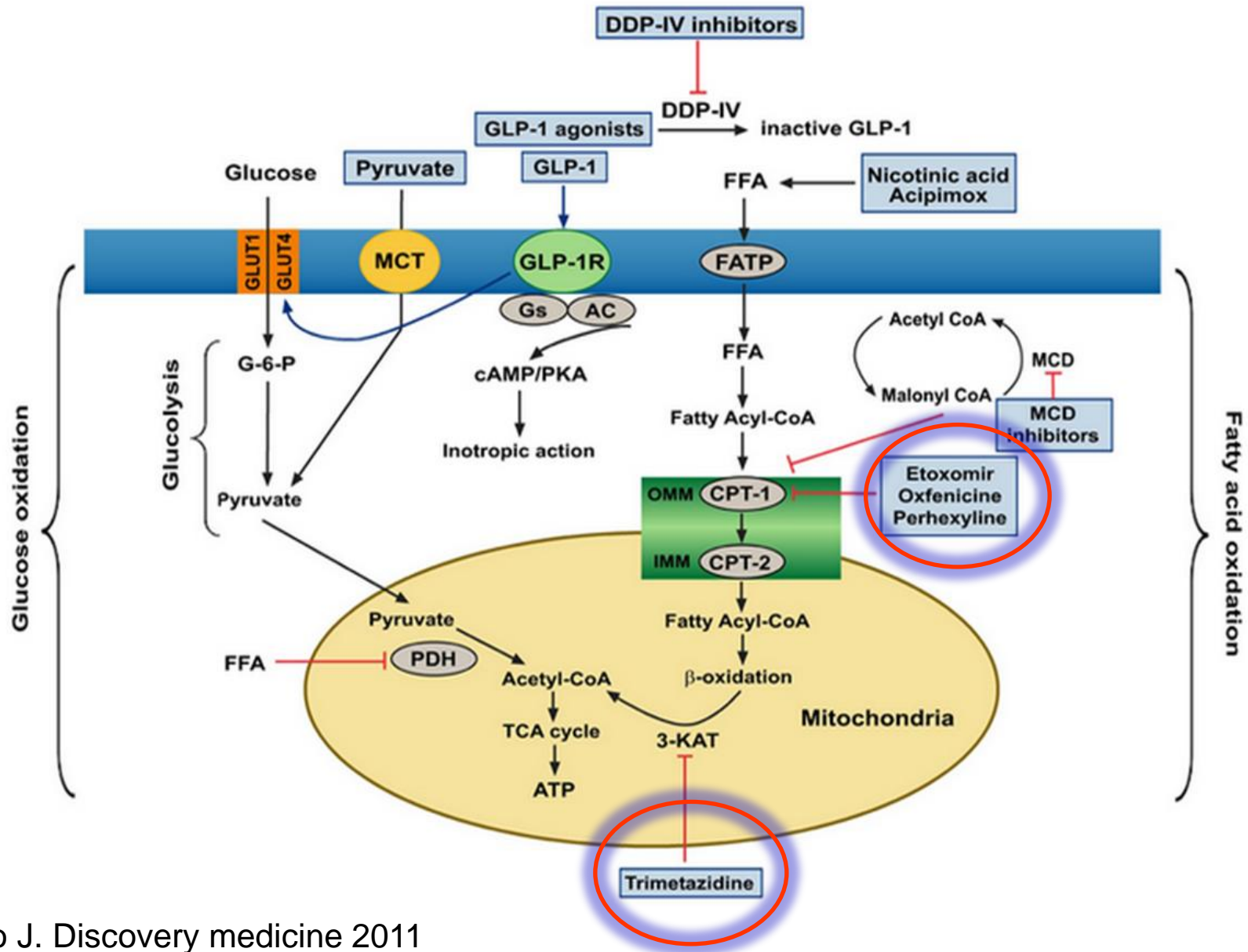


Gilead announcement...

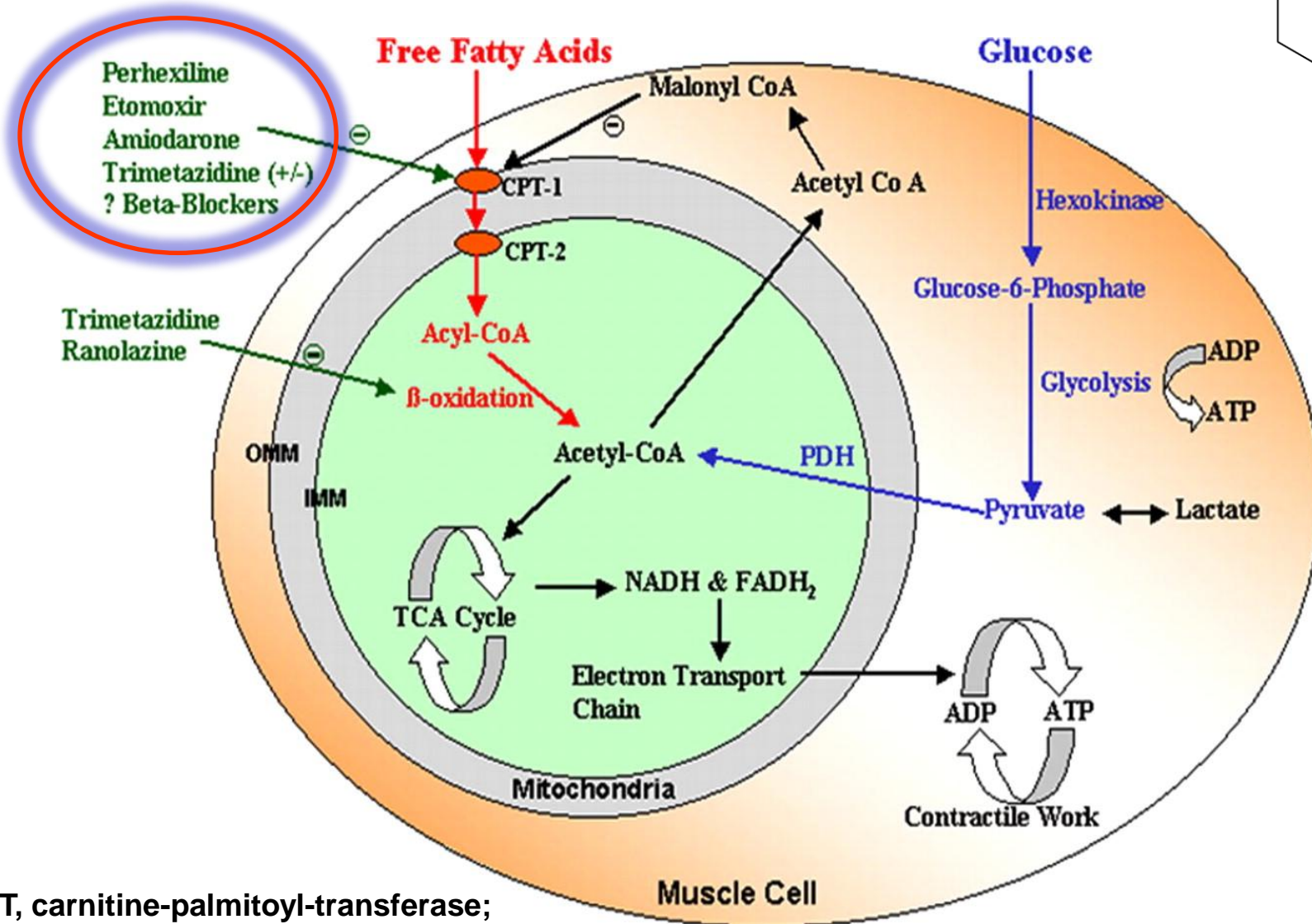
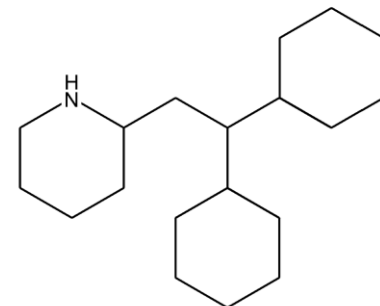
- “After a thorough analysis of clinical information that has occurred since our announcement last month, Gilead has determined that **the totality of the data do not support continuation of the eleclazine development program.** Therefore, all ongoing trials including hypertrophic cardiomyopathy and long QT-3 syndrome will be stopped. Unfortunately, we are not able to comment further at this time. However, we are committed to sharing the data with the HCM community at a future scientific meeting and we would be happy to provide further information at that time.”

MODULACE ENERGETICKÉHO METABOLISMU

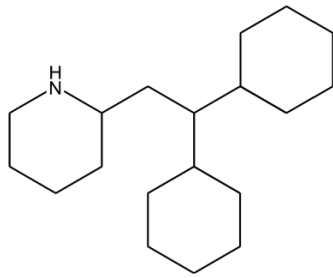
Ovlivnění energetického metabolismu



Perhexiline



CPT, carnitine-palmitoyl-transferase;
 PDH, pyruvate dehydrogenase



Perhexiline (Pexsig®)

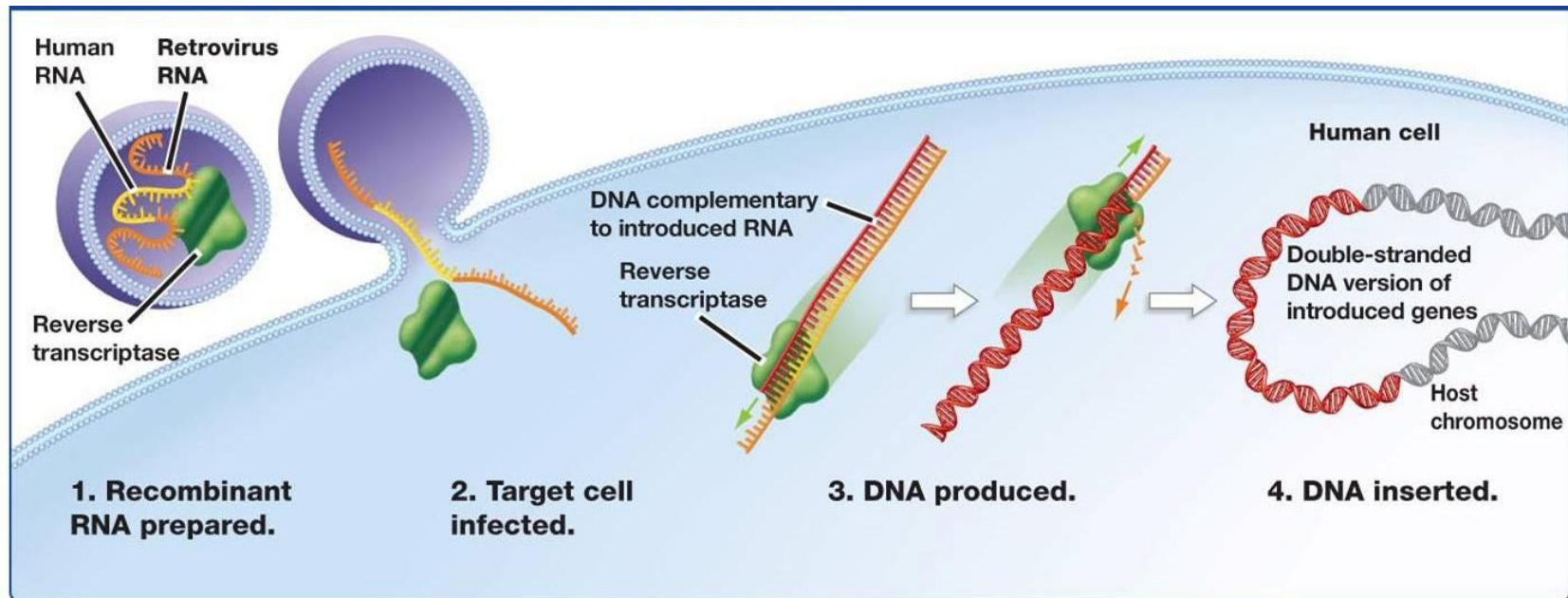
- Užíván široce v 70tých letech jako antianginózní lék
- Randomizované studie potvrzující symptomatickou úlevu
- **Inhibice CPT-1 (karnitin-palmytoyl transferáza)**
- **Posun k utilizaci glukózy a laktátu**
- Dokumentovány případy hepatotoxicity u pomalých metabolizérů (P450) v důsledku akumulace fosfolipidů
- „phospholipidosis –mediated“ hepatitida a periferní neuropatie
- Použití limitováno na nemocné s refrakterní AP (AU,NZ)

Perhexiline randomized trial

- **Efficacy, Safety, and Tolerability of Perhexiline in Subjects With Hypertrophic Cardiomyopathy and Heart Failure**
- Heart Metabolics Limited
- **Perhexiline 25/100 mg vs. placebo**

GENOVÁ LÉČBA A GENETICKÉ MANIPULACE

Klasické schéma genové terapie

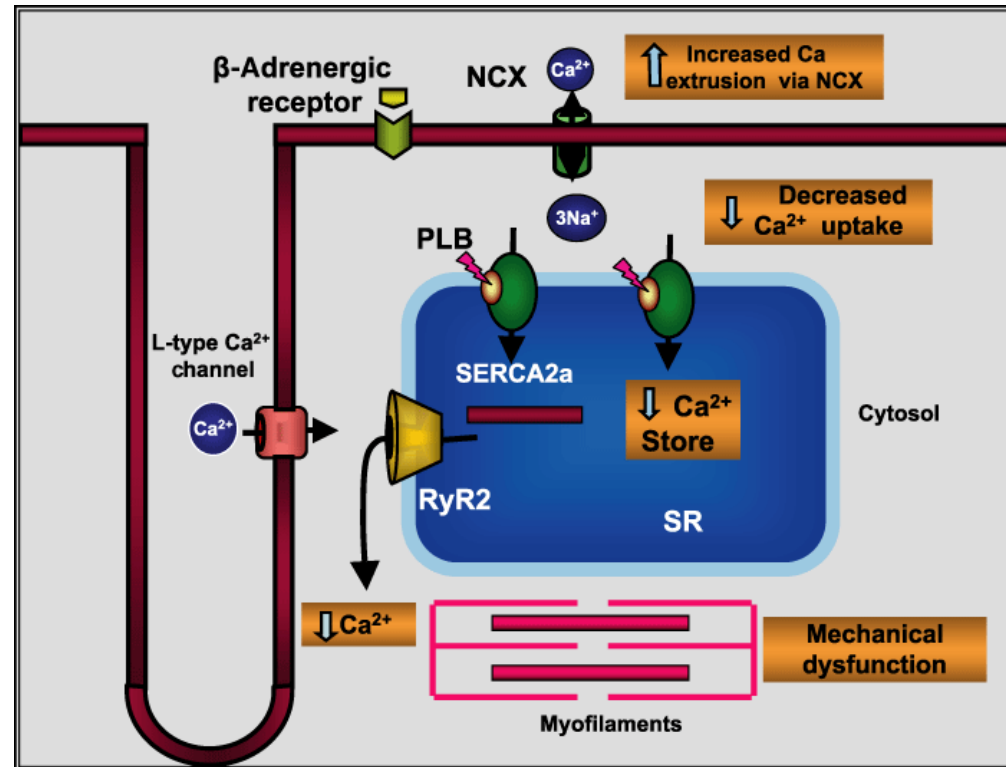


© 2011 Pearson Education, Inc.

- Omezeně efektivní
- Neschopnost dodat velké geny (>5 kb)
- Obtížné zajištění exprese v cílových buňkách (asociace s promotérem jiných genů)
- Může být atraktivní u stavů, kde protein zcela chybí (MYBPC3)
- Imunitní odpověď, tumorigeneze

Genetická manipulace s mechanismy kontrakce – SERCA 2a genová léčba (Mydicar®)

- **AAV vektor,**
intrakoronárně
- Schopný infikovat
terminálně diferencované,
nedělící se buňky
- **Indukce genu pro**
sarkoplasmatickou
retikulární Ca²⁺ ATPázu
- Dokončena studie fáze II
u systolického srdečního
selhání

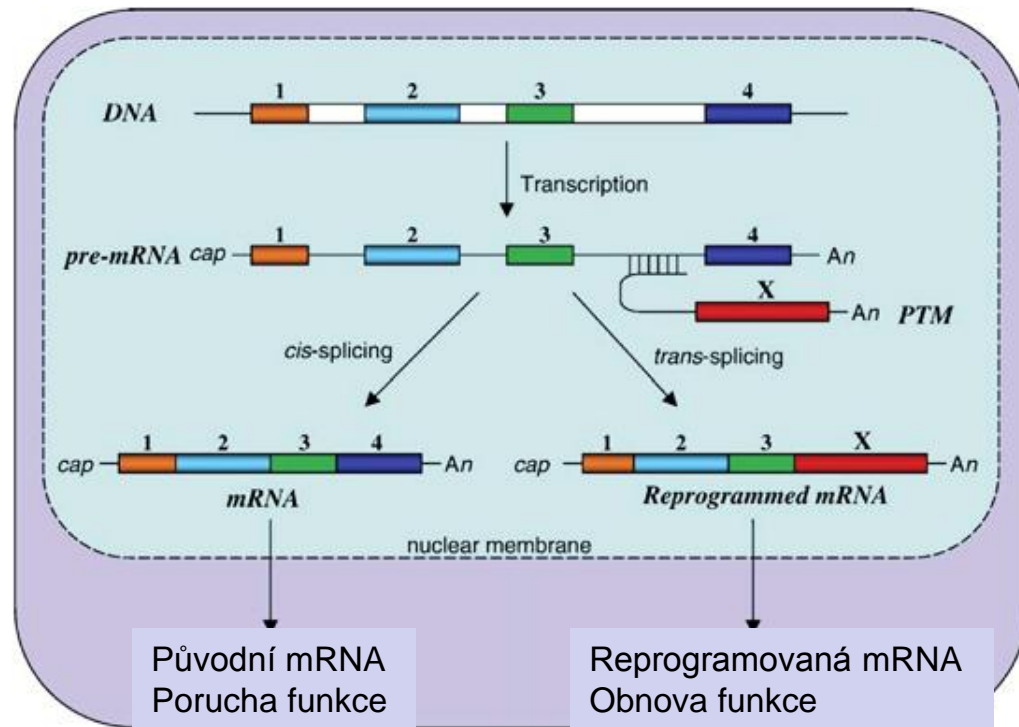


SERCA2a = sarcoplasmic endoplasmic
reticulum calcium (Ca^{2+}) ATPase

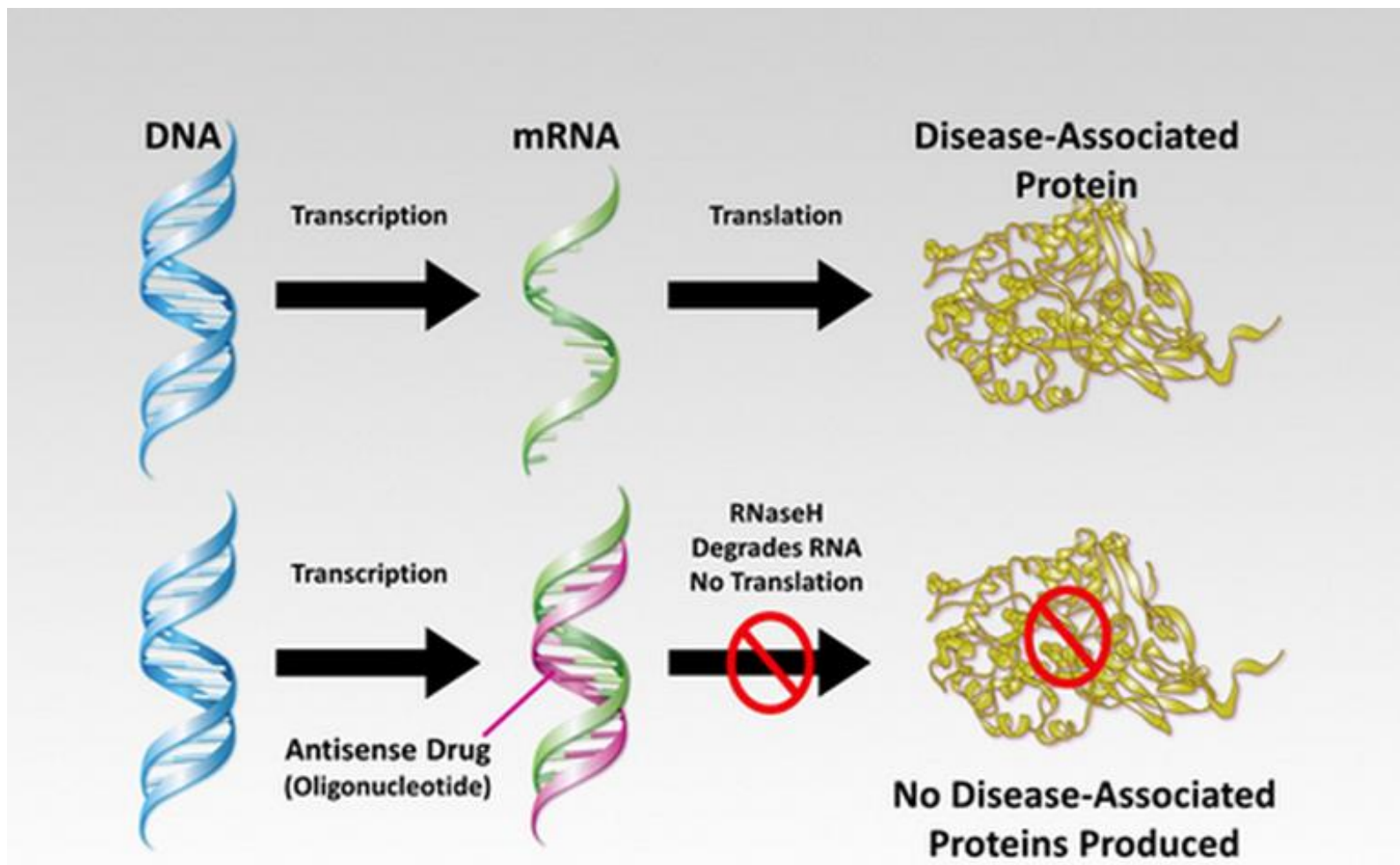
Molecular Therapy (2008) 16 6, 1002–1004
Br J Pharmacol. 2014 Jan;171(1):38-54.

Spliceosome-Mediated pre-RNA *Trans*-Splicing - SmaRT

- RNA –reparace nebo reprogramování
- **RNA – splicing – formování definitivní mRNA z pre mRNA** (obsahuje i přepis intronů)
- RNA splicing je katalyzován spliceosomem
- Spliceosom obsahuje enzymatický komplex a malé ribonukleoproteinové částice
- **PTM je arteficiálně vytvořená RNA (pre-trans-splicing molecule)**
- Dodání do buněk adeno- asociovaným virovým vektorem

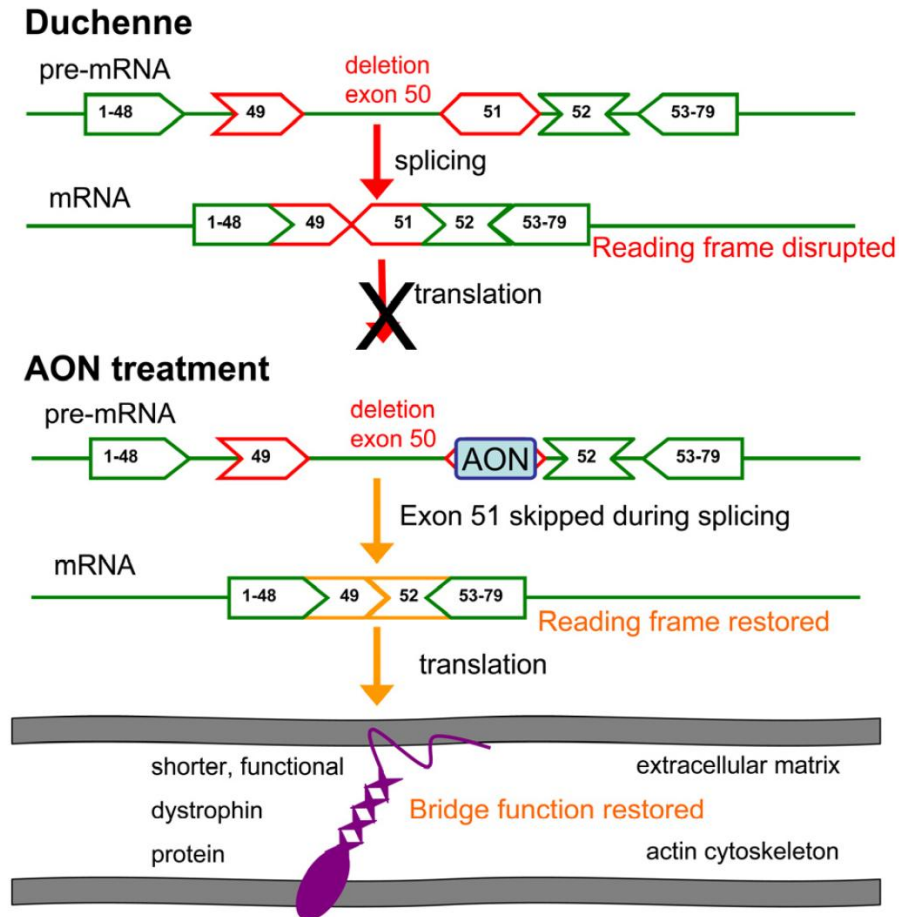


Využití antisense oligonukleotidů



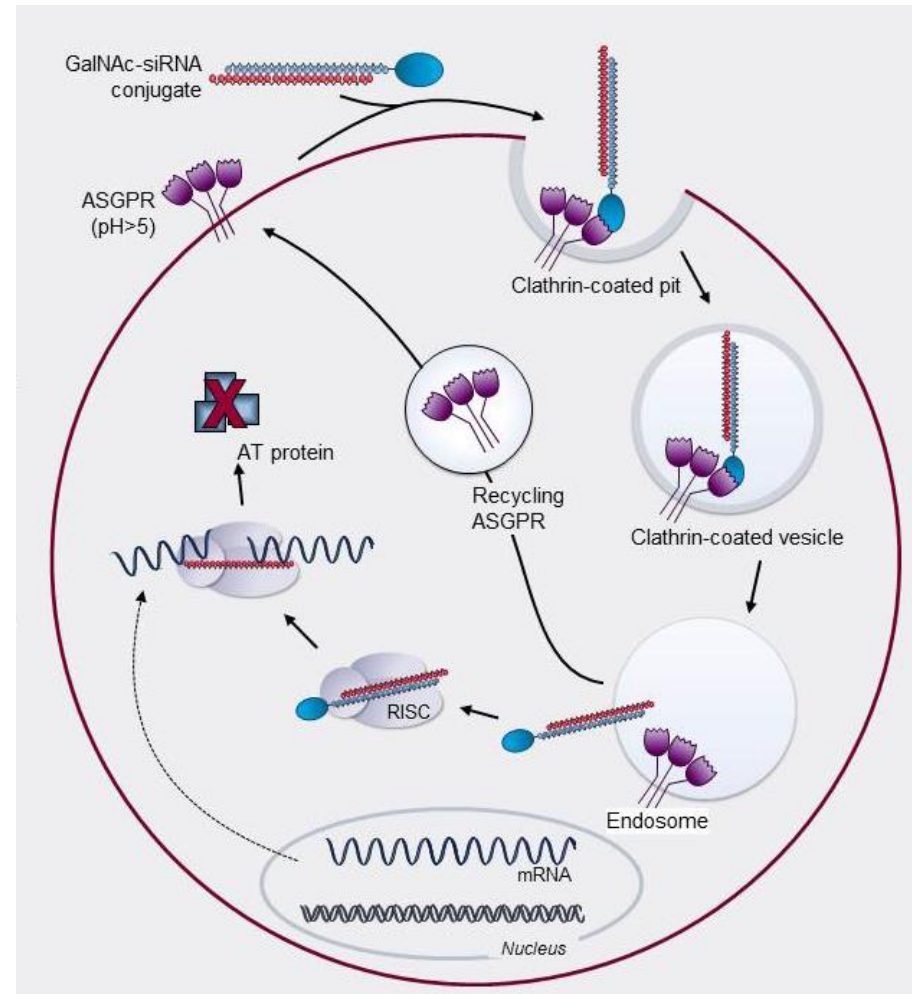
Exon skipping

- U DMD většina mutací mimo funkční oblasti genu
- Nelze použít pro mutace v klíčových oblastech genu (vazebná místa pro dystroglykan a aktin)
- Antisense oligonukleotidy
- Problém s dostupností v buňkách (muscle-homing peptides, cell-penetrating peptides)
- V experimentu zvyšují hladiny modifikovaných proteinů až o 60%
- První klinické studie proti různým exonům již dokončeny



siRNA – Small Interfering RNA

- DS-RNA
- Posttranskripční silencing komplementární mRNA
- Vektor – Gal-Nac-siRNA
- **Revusiran / Patisiran (Alnylam Pharmaceuticals®) s.c.**
- Cílí mRNA mutovaného a normálního TTR
- ENDEAVOUR – III. fáze klinického testování – plán 200 nemocných – placebem kontrolovaný trial

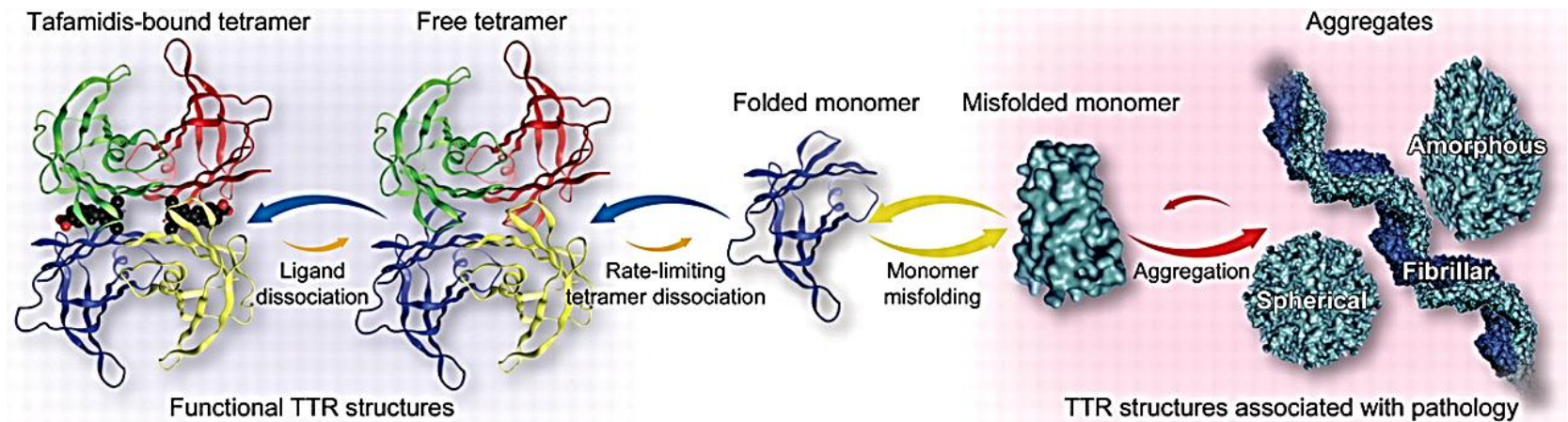
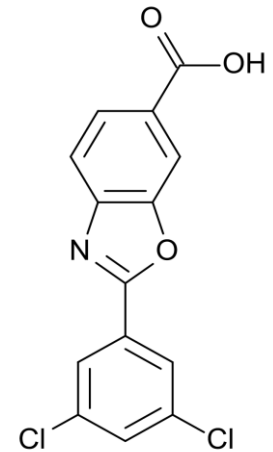


GalNAC ligand – umožňuje průnik do buněk vysokou afinitou k ASGPR
ASGPR – asialoglykoprotein receptor
(vychytává endocytózou sérové glykoproteiny do buňky)

OVLIVNĚNÍ METABOLICKÝCH KARDIOMYOPATIÍ

Tafamidis (Vyndaquel®)

- Léčba hereditární TTR amyloidózy s polyneuropatií (schválen EMA)
- Stabilizace tetramerické formy transthyretinu
- Studie u FAP (familiární polyneuropatie) s pozitivním efektem.
- studie u TTR amyloidotické kardiomyopatie (NCT01994889) –n=400 (FN USA, VFN, IKEM)



Other TTR amyloid Rx in development

- **Tetramer stabilizers**

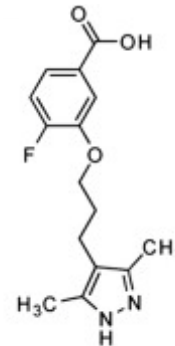
- **Tafamidis**, AG10, diflunisal

- **Silencers**

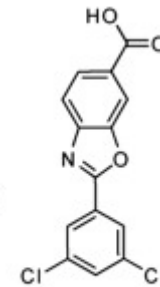
- siRNA – **revusiran**, **patisiran**
- **ISIS-TTR Rx** - antisense oligonucleotide (ASO)
 - binds to mRNA variant and wild-type forms of TTR inside liver cells

- **Degraders**

- **Monoclonal anti-SAP** (serum amyloid P component) **antibodies** inhibiting fibrillation and promoting phagocytosis of TTR aggregates
- **Doxycycline/ TUDCA** (tauroursodeoxycholic acid) - ↓ NT-proBNP



AG10



Tafamidis

Castaño A et al. Heart Fail Rev 2015 Mar;20(2):163-78.

Hosoi A et al. J Biol Chem. 2016 Nov 25;291(48):12509-12515.

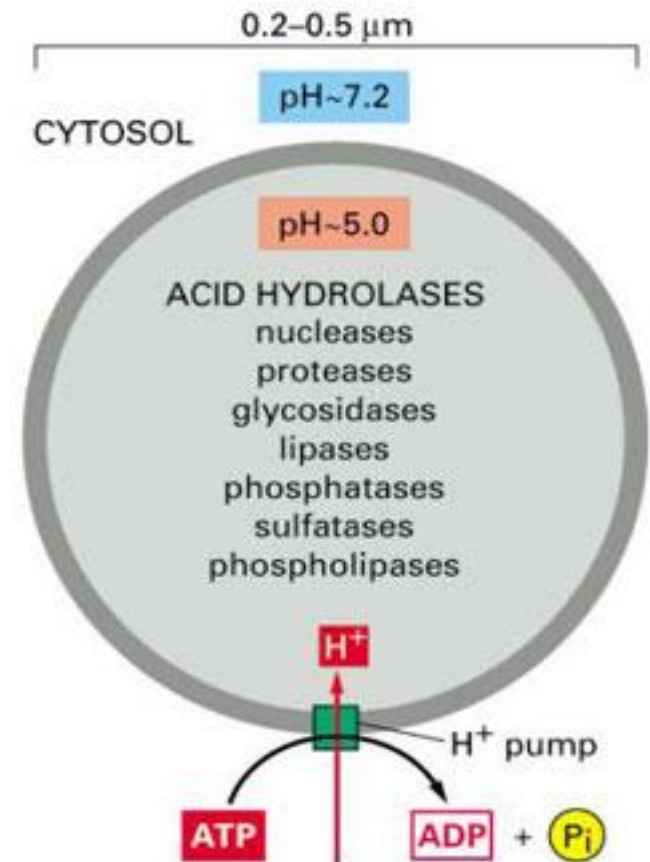
Penchala SC et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Jun 11; 110(24):9992-9997.



ENZYMATICKÁ SUBSTITUČNÍ TERAPIE

Lysosomální střádavá onemocnění

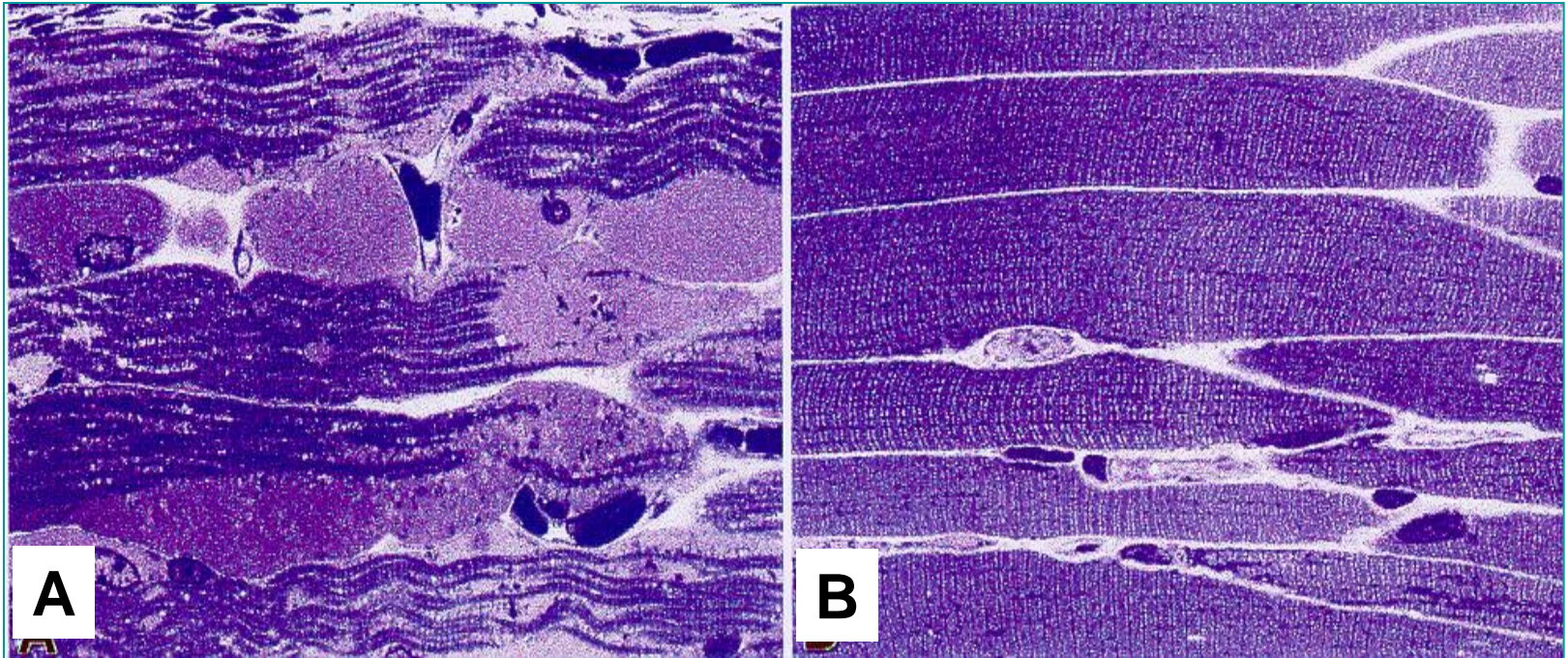
- Heterogenní skupina ~50 vrozených poruch metabolismu
- Genetický defekt způsobující:
 - Defekt lysosomálního enzymu (kyselé hydrolázy)
 - Koenzymu / aktivátorového proteinu
 - Receptoru
 - Membránového proteinu / transportéru
- Lysosomální akumulace specifických substrátů



Enzymatická substituční léčba - LSD

Onemocnění	Produkt (generický název)	Výrobce
Fabryho choroba	Fabrazyme® (agalsidase beta)	Genzyme Corporation
	Replagal® (agalsidase alfa)	Shire Human Genetic Therapies, Inc.
Gaucherova choroba 1. typu	Cerezyme® (imiglucerase)	Genzyme Corporation
	VPRIV™™ (velaglucerase alfa)	Shire Human Genetic Therapies, Inc.
	Elelyso™ (taliglucerase)	Pfizer Labs
Glykogen-střádavá choroba II. typu – Pompeho nemoc	Myozyme® (alglucosidase alfa)	Genzyme Corporation
	Lumizyme® (alglucosidase alfa)	Genzyme Corporation
MPS I (Hurler, Hurler-Scheie, nebo Scheie)	Aldurazyme® (laronidase)	Genzyme Corporation
MPS II (Hunteova choroba)	Elaprase® (idursulfase intravenous)	Shire Human Genetic Therapies, Inc.
MPS VI (Syndrom Maroteaux-Lamy)	Naglazyme™ (galsulfase)	BioMarin Pharmaceutical, Inc.

Histopatologické změny nemocných léčených alglucosidase alfa - Pompe



Před terapií

13 týdnů léčby

Semithin sections (0.5 micron) of quadriceps muscle stained with toluidine blue, X 198.

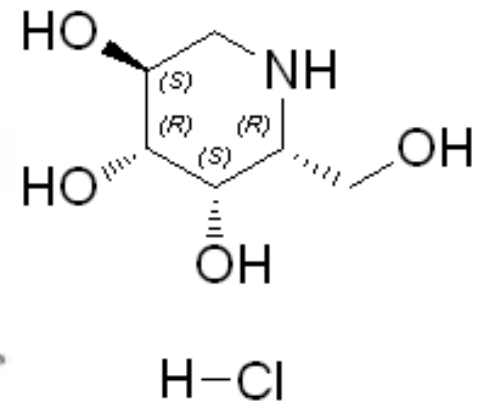
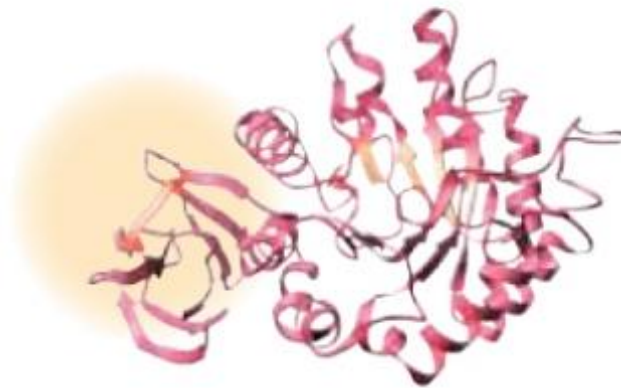
Princip chaperonů

- Převážně missense mutace
- Defektní enzym je stabilizován působením chaperonu
- Chaperon brání jeho degradaci v mikrosomálním systému
- Migalastat (Galafold®) – M. Fabry

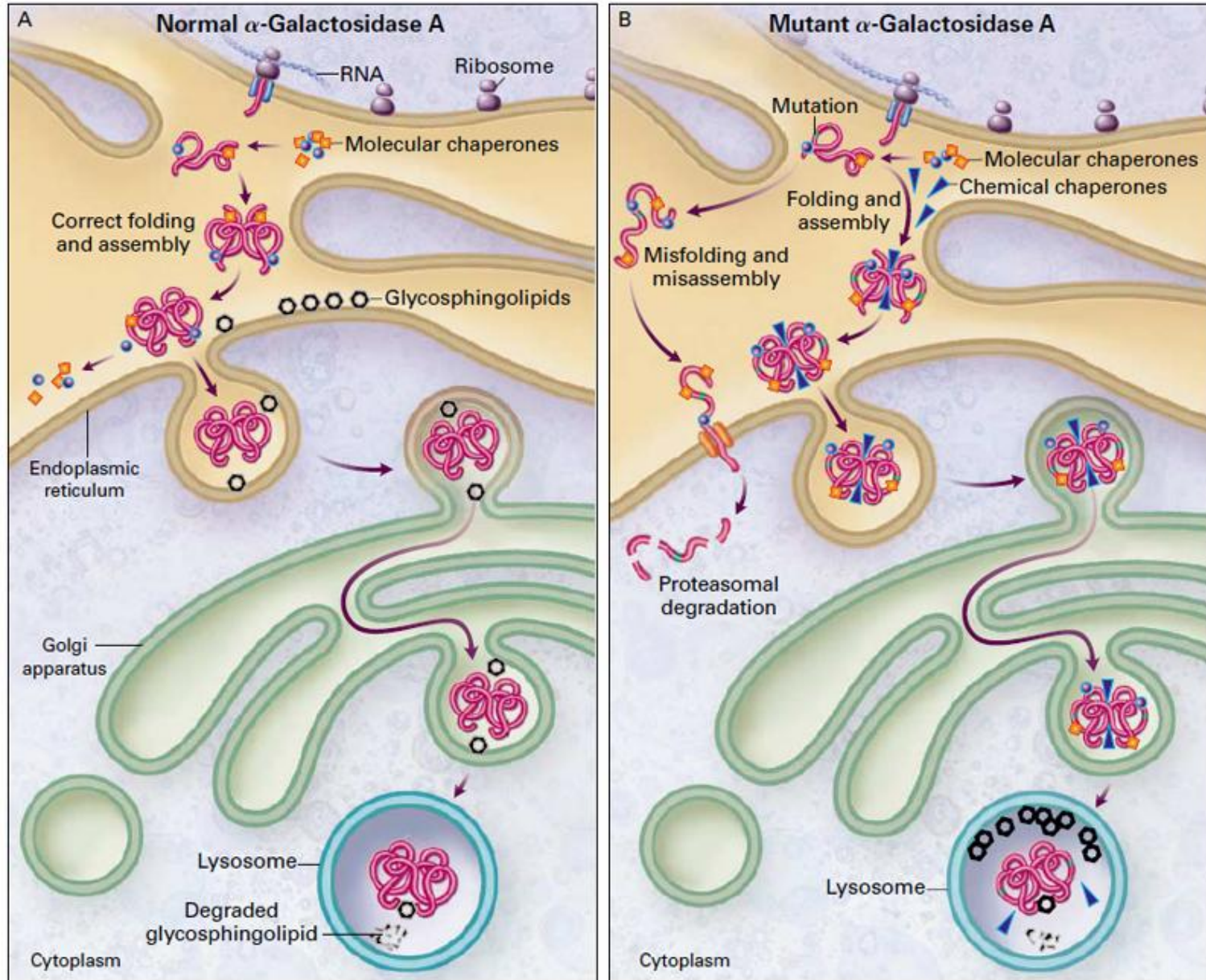
STABILIZED ENZYME



MISFOLDED ENZYME



Chaperone therapy for Fabry disease



Substrát-redukční terapie

**Miglustat
Eliglustat
Ibiglustat
Lucerastat**

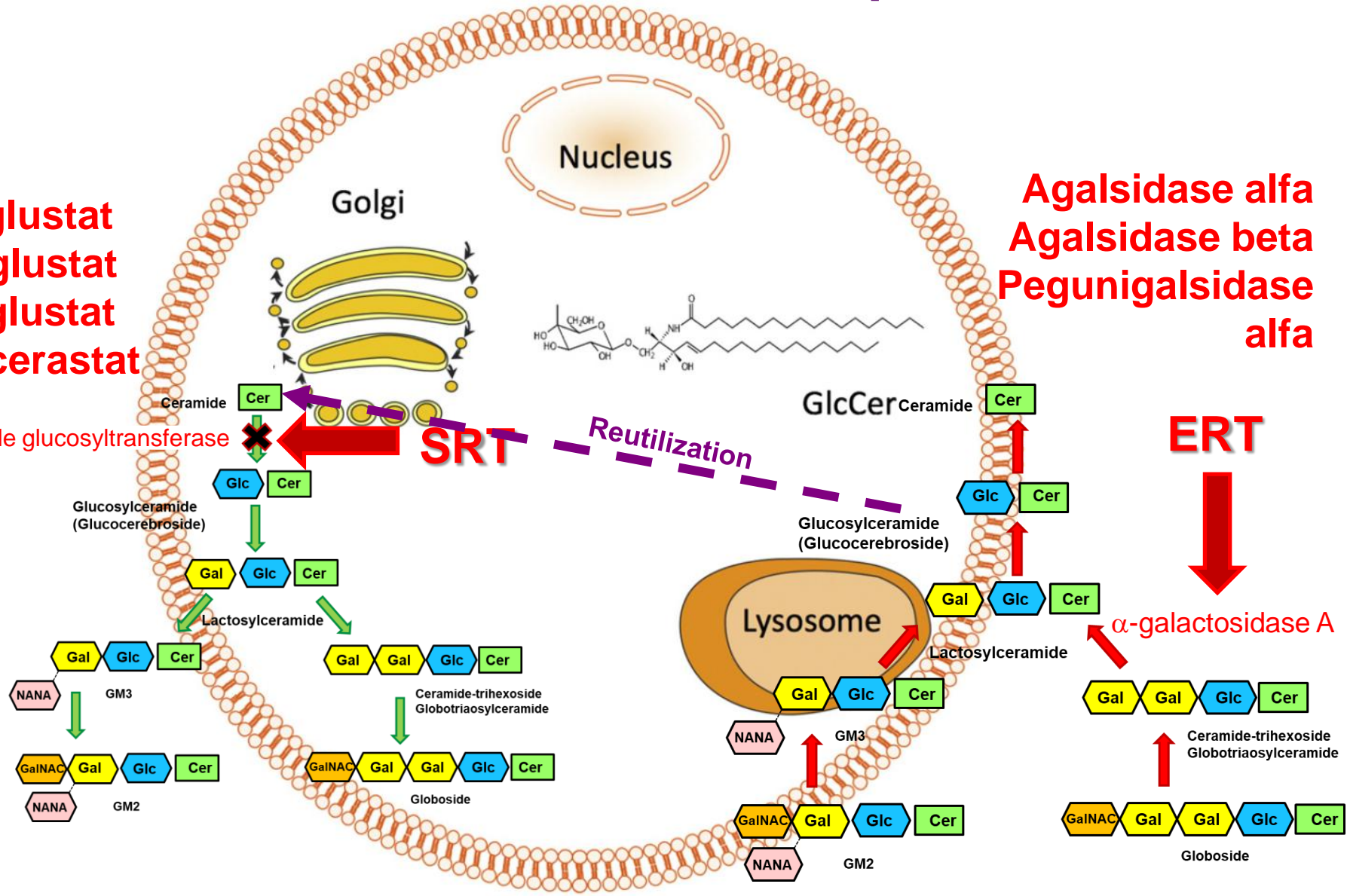
**Agalsidase alfa
Agalsidase beta
Pegunigalsidase
alfa**

ceramide glucosyltransferase

SRT

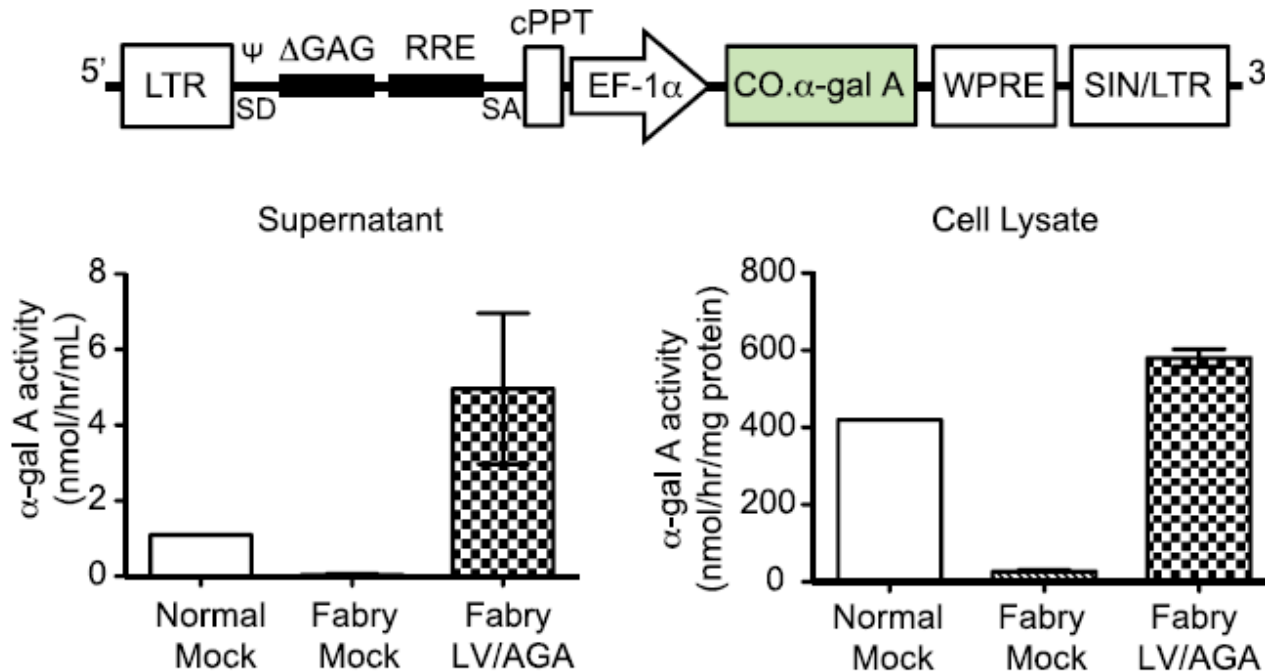
Reutilization

ERT



Gene Therapy - The near future?

- Lentivirus vectors
- Fabry patients transduced CD34+ hematopoietic cells
- Tested in Fabry mice models
- First-in-the-world trial approved and started in Canada



Závěry

- Většina substancí není vhodná pro použití v terapii u lidí
- Klinické aplikace budou vyžadovat přesnější pochopení patogenetických dějů u jednotlivých typů mutací
- Použití inhibitorů pozdního Na kanálu (Ranolazin) nepřineslo očekávané výsledky (Eleclazin zastaven)
- Genetické manipulace jsou možné jak na úrovni DNA, tak RNA, některé již klinicky testovány
- Vyžadují molekuly designované specificky pro daný typ mutace / postiženého exonu (mavacamten)
- U nesarkomerických kardiomyopatií je efekt prokazatelný s enzymatickou substitucí, chaperony, testuje se genová terapie
- Nadějně výsledky u TTR amyloidózy (tafamidis, patisiran)