

Evaluatie van het effect van ex vivo behandeling met AG-348 op metabolisme en erythroïde uitrijping van pyruvaatkinasedeficiënte rode bloedcellen

Gepubliceerd: 25-02-2015 Laatste bijgewerkt: 21-04-2024

Dit onderzoek dient ter uitbreiding en versterking van de eerste pilot-waarnemingen van het effect van de AG-348 behandeling op PKD rode bloedcellen. Hiertoe zullen het UMC Utrecht en Agios Pharmaceuticals samenwerken in deze pre-klinische studie....

Ethische beoordeling	Goedgekeurd WMO
Status	Werving gestopt
Type aandoening	Bloed- en lymfestelselaandoeningen, congenitaal
Onderzoekstype	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen

Samenvatting

ID

NL-OMON42151

Bron

ToetsingOnline

Verkorte titel

Ex vivo effect van AG-348 op PKD

Aandoening

- Bloed- en lymfestelselaandoeningen, congenitaal

Synoniemen aandoening

anemie, rode bloedcelziekte

Betreft onderzoek met

Mensen

Ondersteuning

Primaire sponsor: Agios Pharmaceuticals Inc.

Overige ondersteuning: Ministerie van OC&W, Agios Pharmaceuticals Inc., Agios Pharmaceuticals Inc., 38 Sidney Street Cambridge, MA, USA

Onderzoeksproduct en/of interventie

Trefwoord: Activator, Cellulair metabolisme, Pyruvaatkinasedeficiëntie, Rode bloedcel

Uitkomstmaten

Primaire uitkomstmaten

Fase 1.

De primaire onderzoeksvariabelen zijn: PK-activiteit, PK eiwitstabiliteit, ATP niveaus, en de vervormbaarheid van de PKD rode bloedcel. Om te bepalen of AG-348 behandeling van PKD rode bloedcellen leidt tot objectieve verschillen in vergelijking met controlemonsters zullen bloedmonsters worden gesplitst. Een deel van het monster wordt geïncubeerd met AG-348, terwijl het andere deel niet zal worden blootgesteld aan de behandeling. Aldus zal elk patiëntenmonster fungeren als zijn eigen controle om te bepalen of AG-348 behandeling resulteert in objectieve verschillen. Tevens zullen de onderzoeksvariabelen worden vergeleken met een 'baseline' waarde voor elk eindpunt.

Fase 2.

Erythroïde differentiatie zal worden gevolgd aan de hand van erythroïde celmorfologie, en de meting van diverse erythroïde differentiemarkers, zoals bijvoorbeeld glycoforine A en transferrinereceptor, in cellen van PKD patiënten en wildtype controles in de aan- of afwezigheid van AG-348. Kwantificatie zal worden gedaan m.b.v. metingen op de FACS. Op specifieke tijdstippen zal

PK-activiteit en stabiliteit worden gemeten.

Ook zal de PK isozyme switch, die plaatsvindt tijdens de rode bloedcelontwikkeling worden bestudeerd. Deze switch omvat de geleidelijke vervanging van het PK-M2 isozym (getranscribeerd van het PKM2 gen PKM2) door het de PK-R isozym (getranscribeerd van het PKLR gen) gedurende de erythroïde differentiatie. Beide isozymen zijn op eiwitniveau sterk homoloog, en mogelijk zal AG-348 (ook) effect hebben op activiteit en/of stabiliteit van dit isoenzym gedurende erythropoïese.

Secundaire uitkomstmaten

Belangrijke secundaire onderzoeksvariabelen zijn verschillen in cellulaire metaboliëtenprofielen, vervormbaarheid van PKD rode bloedcellen, en erythroïde differentiatie van PKD rode bloedcellen in vergelijking met normale controles. Aldus kunnen PKD 'baseline' waarden worden gedefinieerd. Zo is bijvoorbeeld bekend dat PKD rode cellen worden gekenmerkt door veranderingen in het metabolisme die geassocieerd zijn met een niet goed functionerende glycolyse; bijvoorbeeld accumulatie van fosfoenolpyruvaat (substraat van PK), en een tekort aan het PK-R product adenosine trifosfaat. We willen graag meer biomarkers identificeren die meer licht kunnen werpen op het mechanisme van ziekte, en mogelijk kunnen dienen al aangrijpingspunt voor alternatieve toekomstige behandelingsmethoden.

Toelichting onderzoek

Achtergrond van het onderzoek

Pyruvaatkinasedeficiëntie (PKD) is een autosomaal recessief enzymopathy en de meest voorkomende oorzaak van erfelijke nonsferocyttaire hemolytische anemie (HNSHA). Het is een zeldzame ziekte die wordt gekenmerkt door een levenslange chronische hemolyse met ernstige co-morbiditeit, met name ijzerstapeling. De volwassen rode bloedcel is volledig afhankelijk van de glycolyse voor zijn energievoorziening en rode bloedcel pyruvaatkinase (PK-R) is een belangrijk regulerend enzym van deze metabole route. PKD rode bloedcellen worden gekenmerkt door metabole veranderingen veroorzaakt door een niet goed functionerende glycolyse, waaronder accumulatie van het substraat fosfoenolpyruvaat (PEP) en een tekort aan het produkt adenosinetrifosfaat (ATP). Waarschijnlijk beïnvloedt het gebrek aan voldoende energie de homeostase van de rode celmembraan, resulterend in een voortijdige verwijdering van de PK-deficiënte rode bloedcellen uit de circulatie. Klinische symptomen van PK deficiëntie zijn meestal beperkt tot patiënten die samengesteld heterozygoot of homozygoot zijn voor een mutatie in PKLR. De fenotypische expressie is zeer variabel, en er is een slechte correlatie tussen genotype en fenotype. Behandeling van PKD patiënten is over het algemeen ondersteunend, gericht op het corrigeren van de anemie en ijzerstapeling. Er zijn geen goedgekeurde geneesmiddelen die rechtstreeks ingrijpen op het gemuteerde pyruvaat kinase. Agios Pharmaceuticals heeft gerapporteerd over het werkingsmechanisme en in vitro cellulaire effecten van het recent ontwikkelde AG-348, een allosterische activator van PK-R. Zij hebben aangetoond dat AG-348 in staat is to het stabiliseren en activeren van een aantal recombinant tot expressie gebrachte mutanten PK-R eiwitten. De binding van AG-348 vermindert de thermo-instabiliteit van verschillende mutanten typen PK-R, zoals de relatief frequent voorkomende p. (Arg510Gln) mutant.

Pilot ex vivo studies met PKD rode cellen die zijn blootgesteld aan AG-348 tonen aan dat de PK-R enzymactiviteit in deze cellen toeneemt (tot 4 maal meer vergeleken met de controle) en er is een dosis en tijd-afhankelijke vermindering van PEP (tot 70% in vergelijking met een controle) en toename in ATP-gehalten (tot 100% t.o.v. de controle). In deze ex-vivo opzet van AG-348 behandelde PKD cellen worden ATP niveaus bereikt die typisch zijn voor normale, niet-PKD rode bloedcellen.

Samengevat ondersteunen deze gegevens de hypothese dat farmaceutische interventie met AG-348 de glycolytische activiteit in PKD erythrocyten kan herstellen en in vivo het rode cel metabolisme kan normaliseren. Deze therapeutische aanpak kan dus een effectieve manier zijn om de onderliggende pathologie van PKD te corrigeren, met mogelijk klinisch voordeel voor PKD patiënten. Daarom is Agios Pharmaceuticals recent een Fase 1 gestart twee naar de veiligheid en tolerantie van AG-348 bij gezonde volwassen mannen en vrouwen (<http://www.agios.com/pipeline-pkr.php>).

Doel van het onderzoek

Dit onderzoek dient ter uitbreiding en versterking van de eerste

pilot-waarnemingen van het effect van de AG-348 behandeling op PKD rode bloedcellen. Hiertoe zullen het UMC Utrecht en Agios Pharmaceuticals samenwerken in deze pre-klinische studie. In het bijzonder zal worden onderzocht in hoeverre AG-348 in staat is het metabolisme en cellulaire functies te herstellen van PKD rode bloedcellen met verschillende genetische achtergrond. Dit is van groot belang, aangezien er slechts weinig mutaties relatief veel voorkomen. De meeste patiënten zijn derhalve samengesteld heterozygoot voor een vaak unieke combinatie van twee zeldzame mutaties. Afhankelijk van het type en de locatie van de mutaties kan de respons op AG-348 behandeling verschillen. Het primaire doel van dit onderzoek zal zich daarom richten op beantwoorden van de vraag of en hoe het PKD genotype invloed heeft op de AG-348 behandeling.

Het UMC Utrecht is een nationaal en internationaal erkend expertisecentrum voor PKD. Er zijn meer dan 100 PKD patiënten gediagnosticeerd in de laatste twee decennia, en velen van hen zijn op zowel biochemisch en genetische niveau nader bestudeert. Ons cohort van PKD patiënten is een van de grootste PKD cohorten ter wereld. Van alle PKD patiënten is het genotype bekend. Dit maakt het mogelijk om efficiënt patiënten te selecteren met verschillende genotypen. Naast het bestuderen van de directe effecten van AG-348 op PKD rode bloedcellen, omvat de tweede doelstelling van deze studie het onderzoeken van het effect van AG-348 behandeling op ex vivo erythropoïese in een PK-deficiënte achtergrond. Momenteel is niet bekend of en hoe AG-348 behandeling effect heeft op de erythropoïese bij PKD patiënten. Dit is van groot belang, omdat ineffectieve erythropoïese een van de pathofysiologische kenmerken is van PKD. Het lijkt aannemelijk dat activatie van mutante PK eiwitten door AG-348 ook kan optreden op het niveau van de ontwikkeling van rode bloedcellen. Omgekeerd, kan het ook zo zijn dat PKD patiënten wier rode bloedcellen niet reageren op AG-348 behandeling toch een effect van behandeling vertonen op het niveau van de erythropoïese. Omdat de ineffectieve erythropoïese in PKD geen verband lijkt te hebben met gebrek aan metabole energie maar eerder met een verhoogde mate van apoptose in PKD erythroïde progenitorcellen.

Uiteindelijk zal deze pre-klinische studie een brede dataset opleveren waarmee een evaluatie kan worden gemaakt m.b.t. welke aspecten van de AG-348 ex-vivo activiteit te vertalen zijn naar klinische effectiviteit. Dit onderzoek zal veel meer inzicht geven in het werkingsmechanisme van AG-348 behandeling op PKD rode bloedcellen, zowel op cellulair niveau als op het niveau van erythropoïese. We verwachten dat de resultaten de hypothese zullen ondersteunen dat AG-348 behandeling een effectieve en aantrekkelijke manier is om de onderliggende pathologie van PKD te corrigeren, hetgeen zich uiteindelijk moet vertalen naar klinisch voordeel voor patiënten met PKD.

Primaire Doelstelling: evaluatie van het ex vivo effect van AG-348 op rode bloedcelmetabolisme en erythropoïese bij PKD.

Secundaire doelstelling (en): Vergelijking van uitgangswaarden ('baseline')

parameters) bij PKD-patiënten in vergelijking met gezonde proefpersonen.

Onderzoeksopzet

Deze studie zal worden uitgevoerd als een observationele case-control studie, bestaande uit 2 fasen.

Fase 1.

Bloedmonsters (36 ml) worden verzameld van 15 patiënten PKD en een gelijk aantal gezonde proefpersonen als controle. Deze laatsten zullen worden geworven door de Minidonordienst van het UMC Utrecht. Na het verzamelen, zullen uitgangswaarden worden verkregen van zowel patiënten als controles. Dit omvat het meten van algemene hematologische laboratoriumparameters (bv hemoglobine, hematocriet, reticulocyten), rode bloedcel morfologie, osmotische gradiënt ektacytometry (vervormbaarheid van rode bloedcellen; een maat voor cellulaire integriteit en functionaliteit), metaboliëtenprofiel (inclusief 2, 3-DPG en ATP), PK antigeen niveaus en niveaus van PK-R en PK-M2 eiwitexpressie. Na deze 'baseline' metingen, zullen monsters 24 uur worden geïncubeerd in aan- of afwezigheid van AG-348. Op bepaalde tijdstippen zullen metingen worden uitgevoerd om het effect van AG-348 op rode bloedcelmetabolisme, rode cel integriteit en het PK eiwit zelf te bestuderen. Bepaalde experimenten zullen uitgaan van volbloed, terwijl de meer diepgaande analyse van rode bloedcel-PK en zijn kenmerken zullen worden gedaan op gezuiverde erythrocyten, vanwege de aanwezigheid van pyruvaat kinase activiteit in witte bloedcellen.

Fase 2.

Op basis van de reactie op AG-348 behandeling zullen 5-10 PKD patiënten worden geselecteerd voor fase 2 van het onderzoek. Zowel patiënten wiens rode bloedcellen sterk reageren op AG-348 behandeling, als PKD patiënten die weinig of geen reactie vertonen zullen worden onderzocht in deze fase, die zich richt op het bestuderen van het effect van AG-348 behandeling op erythropoïese in PKD. Beide patiëntengroepen zijn van belang voor dit deel van de studie, omdat AG-348 behandeling een effect op kan hebben op de ontwikkeling van rode bloedcellen in PKD los van (en misschien anders dan) het rechtstreekse effect van AG-348 behandeling op PKD rode bloedcellen. Bovendien is het onduidelijk welke aspecten van AG-348 ex-vivo activiteit uiteindelijk zullen correleren met klinische werkzaamheid in vivo. Tenminste 2 maanden na de eerste bloedafname zal voor fase 2 70 ml bloed worden afgenomen van geselecteerde PKD patiënten en eenzelfde aantal gezonde proefpersonen. Mononucleaire cellen zullen worden geïsoleerd uit perifere bloed, en ex vivo worden gekweekt tot erythroïde cellen (i.e. reticulocyten) in aan- of afwezigheid van AG-348. De erythroïde ontwikkeling zal worden gevolgd m.b.v. FACS analyse van diverse erythroïde differentiëtiemarkers. Na voltooiing van de kweek (ongeveer 21 dagen), zal PK-activiteit en stabiliteit wordt gemeten, en zullen PK-M2 en PK-R iso-enzym niveaus worden bepaald m.b.v. Western blot-analyse.

De totale duur van de studie is ongeveer 18 maanden. Het zal worden uitgevoerd

door het Laboratorium voor Klinische Chemie en Haematologie van het UMC Utrecht. Alle metingen worden uitgevoerd op deze afdeling, met uitzondering van de metabolietmetingen van rode bloedcellen. Deze zullen worden uitgevoerd door het laboratorium van Agios Pharmaceuticals (Cambridge, MA, USA). Hiervoor zullen porties van behandelde bloed monsters van PKD patiënten verzonden worden naar Agios Pharmaceuticals. Met als doel enkel en alleen voor deze studie te worden geanalyseerd.

Inschatting van belasting en risico

Deelname voor de patiënt bestaat uit het doneren van een beperkte hoeveelheid bloed. Volgens richtlijnen en normen van de EMA (European Medicines Agency) en de WHO (World Health Organization) is het veilig om maximaal 2,4 ml bloed / kg af te nemen. Uitgaande van zeer conservatieve schattingen van het gemiddelde gewicht van volwassen mannen en vrouwen (64 en 51 kg, respectievelijk), zijn de bijbehorende maximale volumes (154 en 122 ml, respectievelijk) ruim boven het maximale volume dat wordt verzameld voor dit onderzoek (36 ml in fase 1 en 70 ml in fase 2). Het fysieke ongemak is beperkt, maar kan in sommige gevallen bestaan uit een bloedingstorting.

Vanwege het feit dat de deelname aan deze studie slechts een enkele donatie van bloed of twee donaties van bloed op verschillende tijdstippen (ten minste 2 maanden van elkaar gescheiden) vereist, kan deelname van patiënten en gezonde proefpersonen in deze studie als zonder risico worden beschouwd.

Contactpersonen

Publiek

Agios Pharmaceuticals Inc.

Sidney Street 38
Cambridge, MA 02139-4169
US

Wetenschappelijk

Agios Pharmaceuticals Inc.

Sidney Street 38
Cambridge, MA 02139-4169
US

Locaties

Landen waar het onderzoek wordt uitgevoerd

Netherlands

Deelname eisen

Leeftijd

Volwassenen (18-64 jaar)

65 jaar en ouder

Belangrijkste voorwaarden om deel te mogen nemen (Inclusiecriteria)

1. Volwassen patienten bij wie de pyruvaatkinasedeficiëntie op zowel biochemisch als genetisch niveau is vastgesteld (samengesteld heterozygoot of homozygoot voor mutaties in het PKLR gen).
2. De proefpersoon is akkoord met deelname aan dit onderzoek, en in staat tot het geven van schriftelijke toestemming daarvoor.

Belangrijkste redenen om niet deel te kunnen nemen (Exclusiecriteria)

Proefpersonen die in het recente verleden (minder dan 3 maanden) voor de bloedafname een bloedtransfusie hebben ondergaan.

Onderzoeksopzet

Opzet

Type:	Observationeel onderzoek, met invasieve metingen
Onderzoeksmodel:	Anders
Toewijzing:	Niet-gerandomiseerd
Blinding:	Open / niet geblindeerd
Controle:	Actieve controle groep

Doel: Behandeling / therapie

Deelname

Nederland
Status: Werving gestopt
(Verwachte) startdatum: 19-05-2015
Aantal proefpersonen: 30
Type: Werkelijke startdatum

Ethische beoordeling

Goedgekeurd WMO
Datum: 25-02-2015
Soort: Eerste indiening
Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Utrecht (Utrecht)

Goedgekeurd WMO
Datum: 07-09-2015
Soort: Amendement
Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Utrecht (Utrecht)

Goedgekeurd WMO
Datum: 03-05-2016
Soort: Amendement
Toetsingscommissie: METC Universitair Medisch Centrum Utrecht (Utrecht)

Registraties

Opgevolgd door onderstaande (mogelijk meer actuele) registratie

Geen registraties gevonden.

Andere (mogelijk minder actuele) registraties in dit register

Geen registraties gevonden.

In overige registers

Register

CCMO

ID

NL50963.041.14