



**PKD PATIENT'S DAY**  
**Milano, 16 maggio 2013**

# **TERAPIA DELLA ANEMIA EMOLITICA DA CARENZA DI PIRUVATO-CHINASI ERITROCITARIA**

***Attualita' e prospettive***

**A. Zanella**

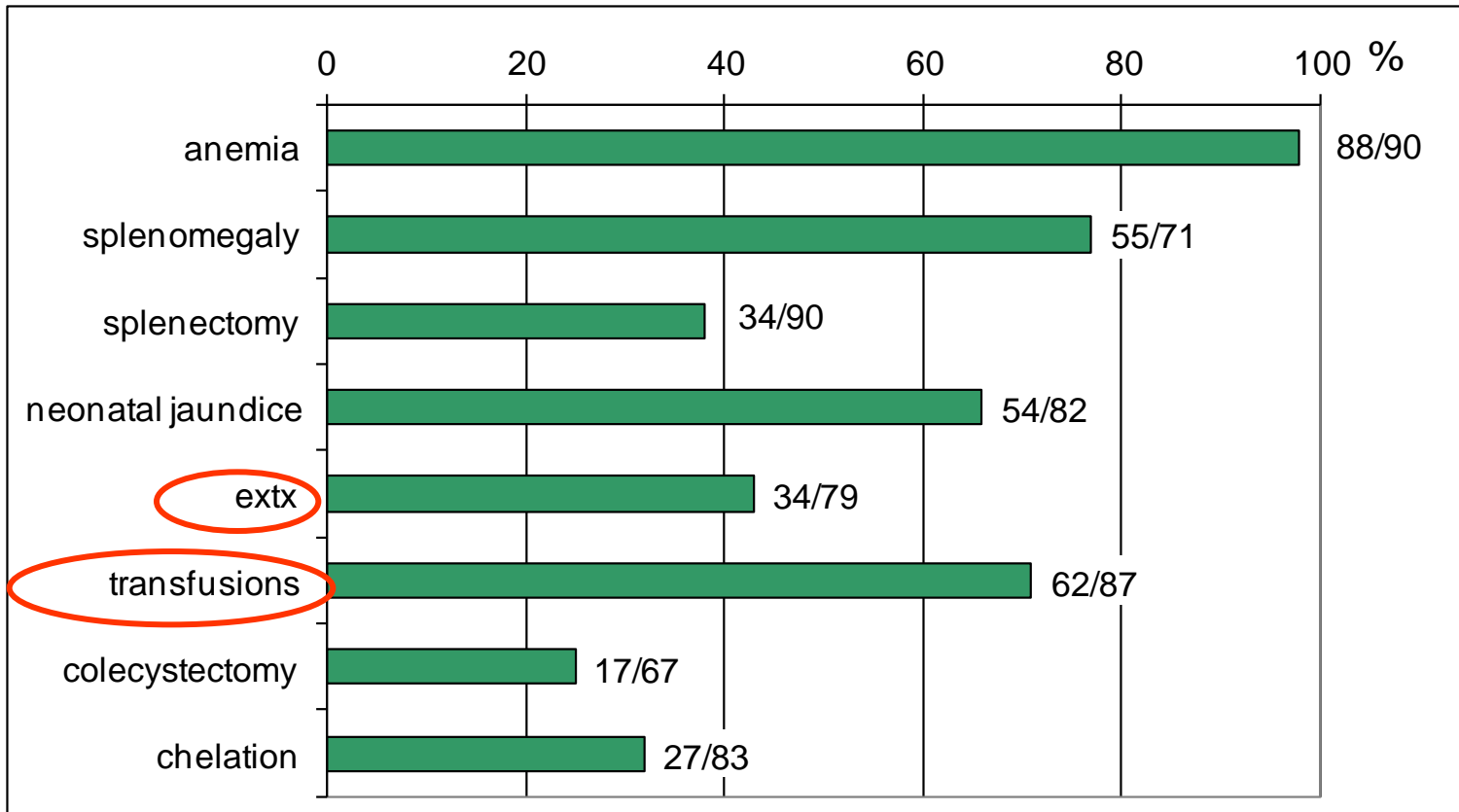
Ematologia, Fondazione IRCSS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano



# Milano PKD database (90 pazienti, 80 famiglie)

Dati al tempo della diagnosi

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA  
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO



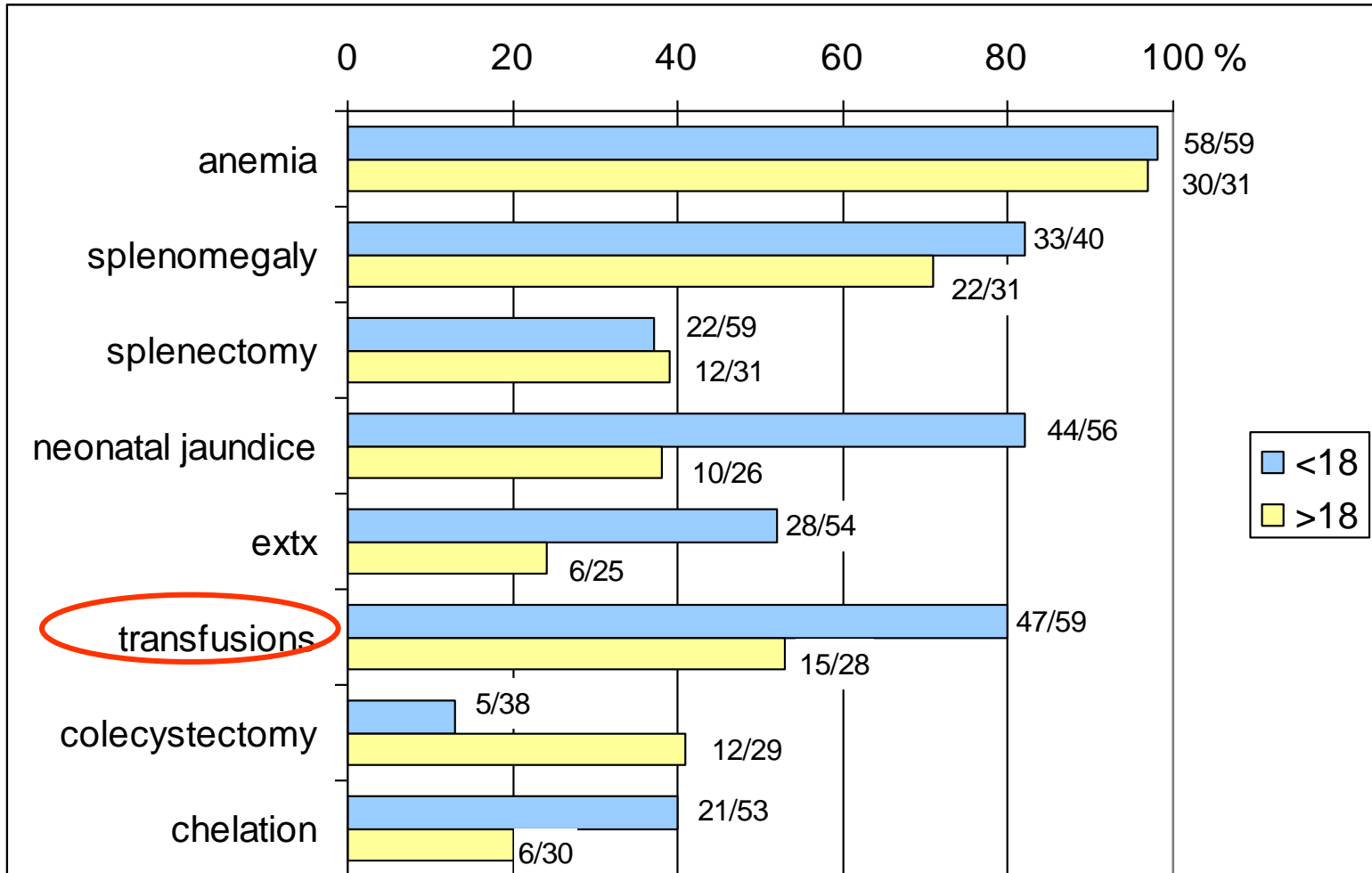
N. di trasfusioni: 1-100



# Milano PKD database (90 pazienti, 80 famiglie)

Dati al tempo della diagnosi

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA  
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO





## Trasfusione di globuli rossi concentrati

- nei casi con anemia grave, particolarmente nei primi anni di vita (crescita)
- in caso di infezioni intercorrenti, gravidanza
- no livelli ottimali di Hb pre-trasfusionali
- decisione basata sulle condizioni cliniche, non sulla Hb (2,3-DPG)

### Rischi

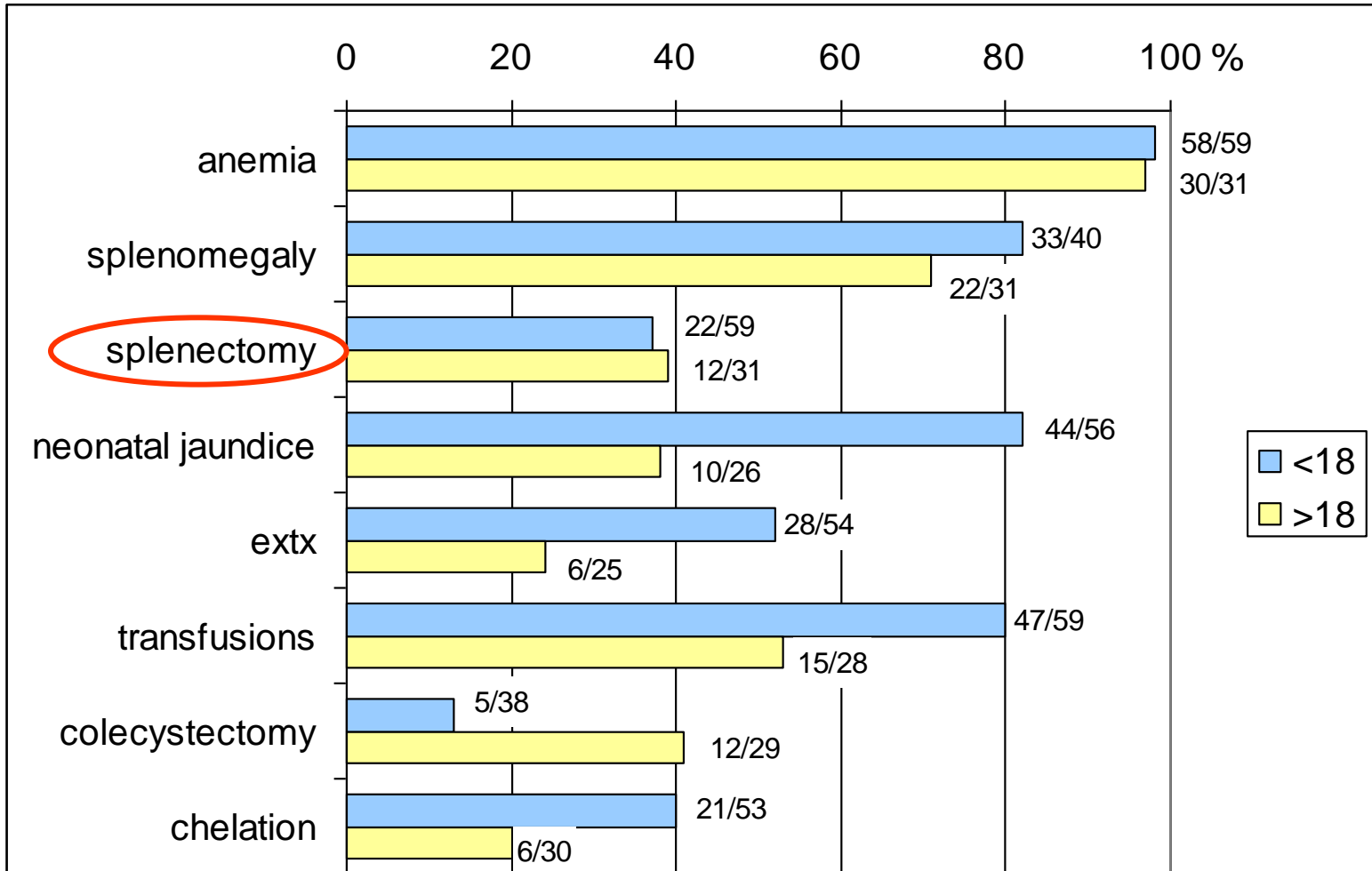
- *sovraccarico di ferro*
- *allo-immunizzazione*
- *infezioni trasmissibili col sangue, rischi trasfusionali non infettivi*



# Milano PKD database (90 pazienti, 80 famiglie)

## Dati al tempo della diagnosi

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA  
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

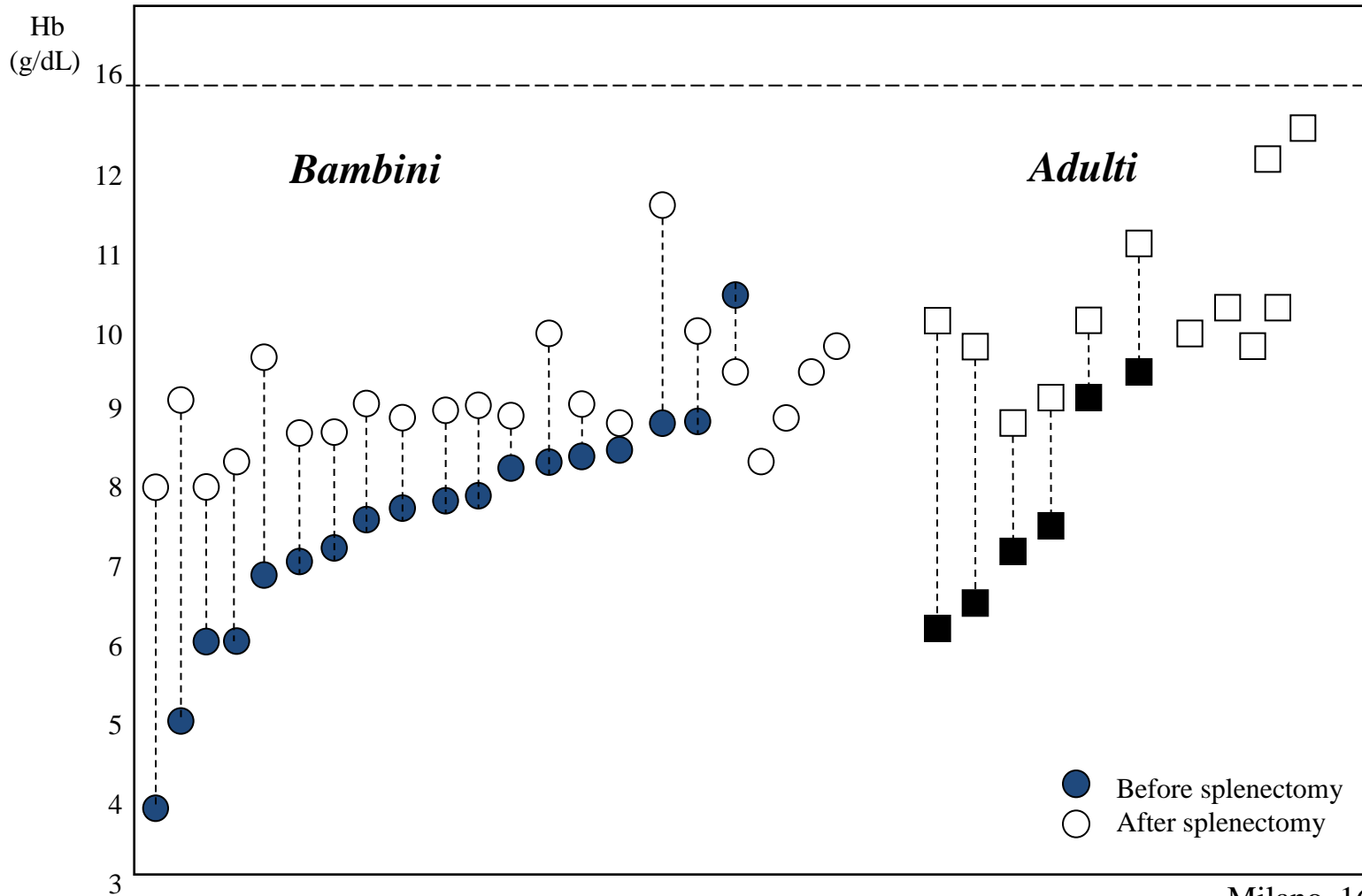




# Milano PKD database

## Effetto della splenectomia sui livelli di Hb

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA  
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO

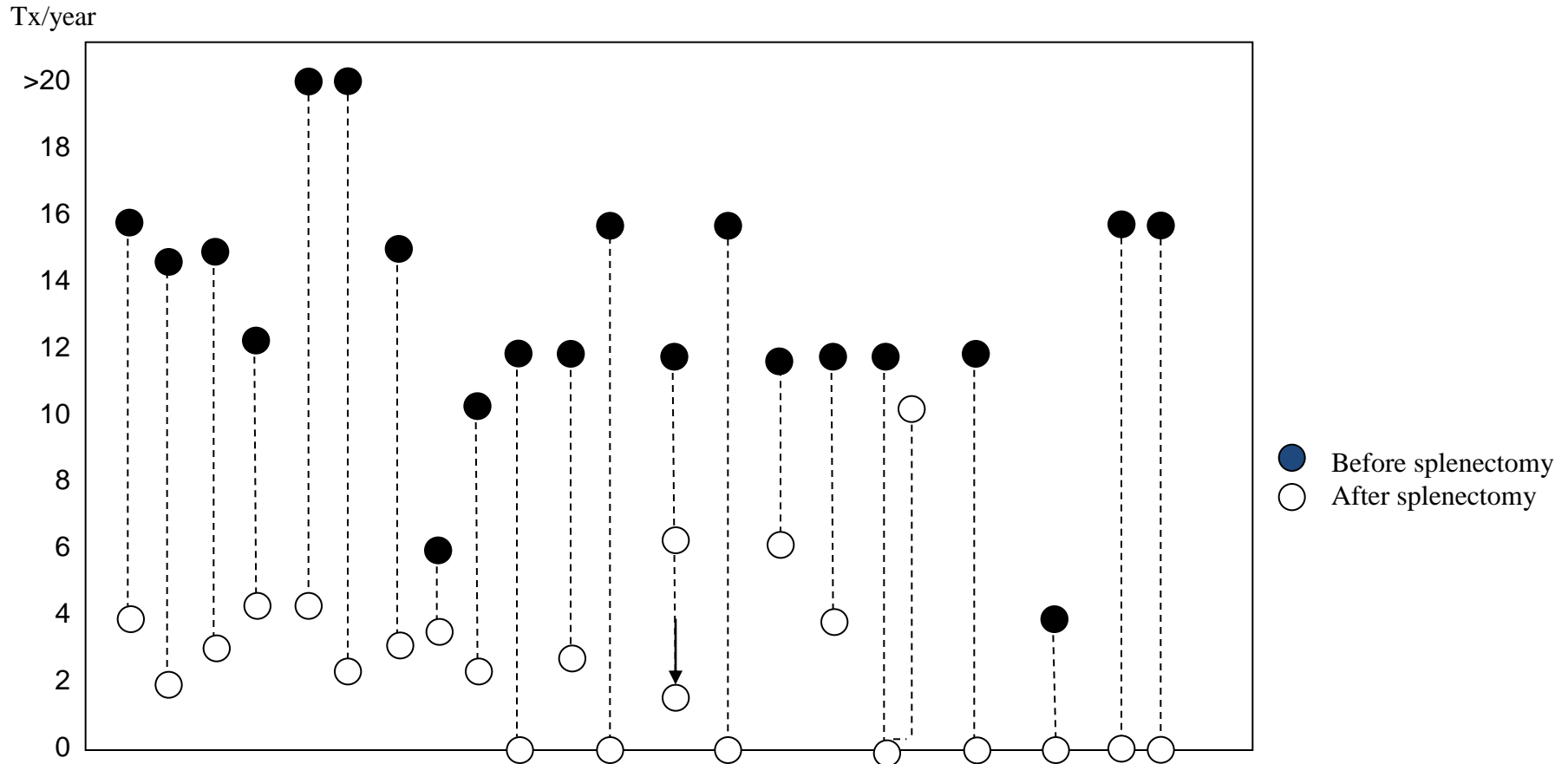




# Milano PKD database

## Effetto della splenectomia sul fabbisogno trasfusionale

FONDAZIONE IRCCS CA' GRANDA  
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO





## Splenectomia

- non arresta l'emolisi
- aumenta l'emoglobina di 1-3 g/dL
- spesso riduce od elimina il fabbisogno di sangue
- non elimina l'insorgenza di possibili crisi emolitiche o aplastiche
- riservata a pazienti giovani con anemia trasfusione-dipendente e ai pazienti che non tollerano l'anemia

*complicanze chirurgiche* (0.5-1.6% in laparoscopia, Casaccia 2006)

- Rischi
- *rischio permanente di sepsi* (3.3%-5%, mortalità 1.3-1.7%, Davidson 2001).
  - *rischi addizionali* (tromboembolismo, ipertensione polmonare, Chou, 2001, Pepke-Zaba 2011)





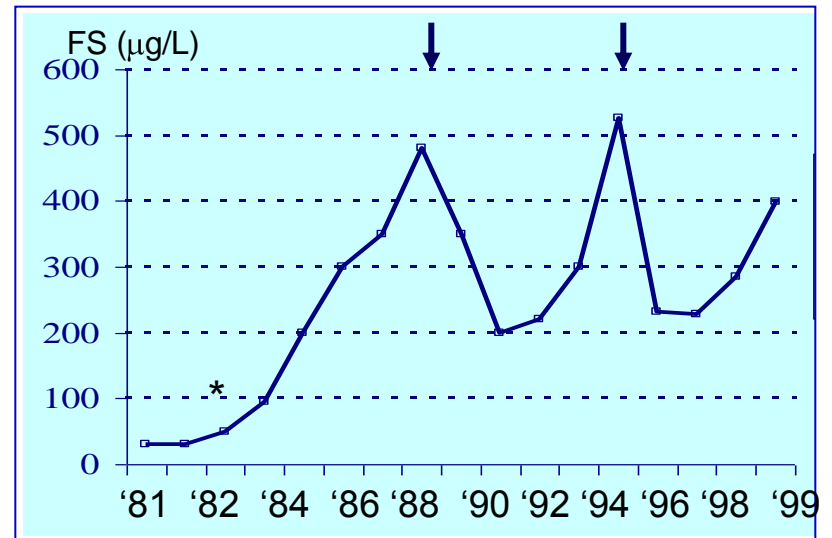
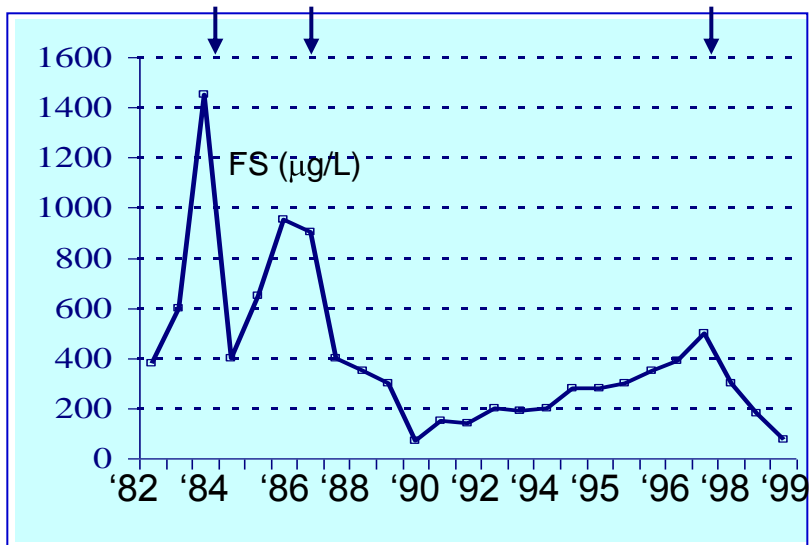
# Trapianto di cellule staminali ematopoietiche

- Efficace nel curare la malattia in un modello murino di PKD (Morimoto 1995)
- Un caso pubblicato: bambino con PKD trasfusione-dipendente non splenectomizzato trapiantato a 5 anni con CS della sorella HLA-matched. A 8 anni normale Hb e PK (Tanphaichitr 2000)
- Quattro casi (riferiti) trapiantati, di cui due con successo



## Terapia ferrochelante

- Il sovraccarico di ferro è complicanza frequente nella carenza di PK. Il 32.5% dei pazienti (27/83) ha avuto necessità di terapia ferrochelante.
- Il sovraccarico di ferro è comune anche nei soggetti PKD non trasfusi (emolisi cronica, splenectomia, eritropoiesi inefficace, co-presenza di mutazioni del gene HFE associate alla emocromatosi ereditaria - Marshall 2003; Zanella, 2005; Deeren 2009)



Età (anni) / Sesso

55 / M

30 / F

Transfusioni

No

No

Splenectomia

No

Sì

Hb (g/dL) pre / post splenectomia

12.6

7.8 / 9.1

Siderosi epatica (grado)

3

4

Fibrosi epatica (grado)

2

3

Genotipo HFE

His63Asp/wt

His63Asp/Cys282Tyr

Eritropoiesi inefficace (IIT)

69 %

nd

(ref. range 1-17)

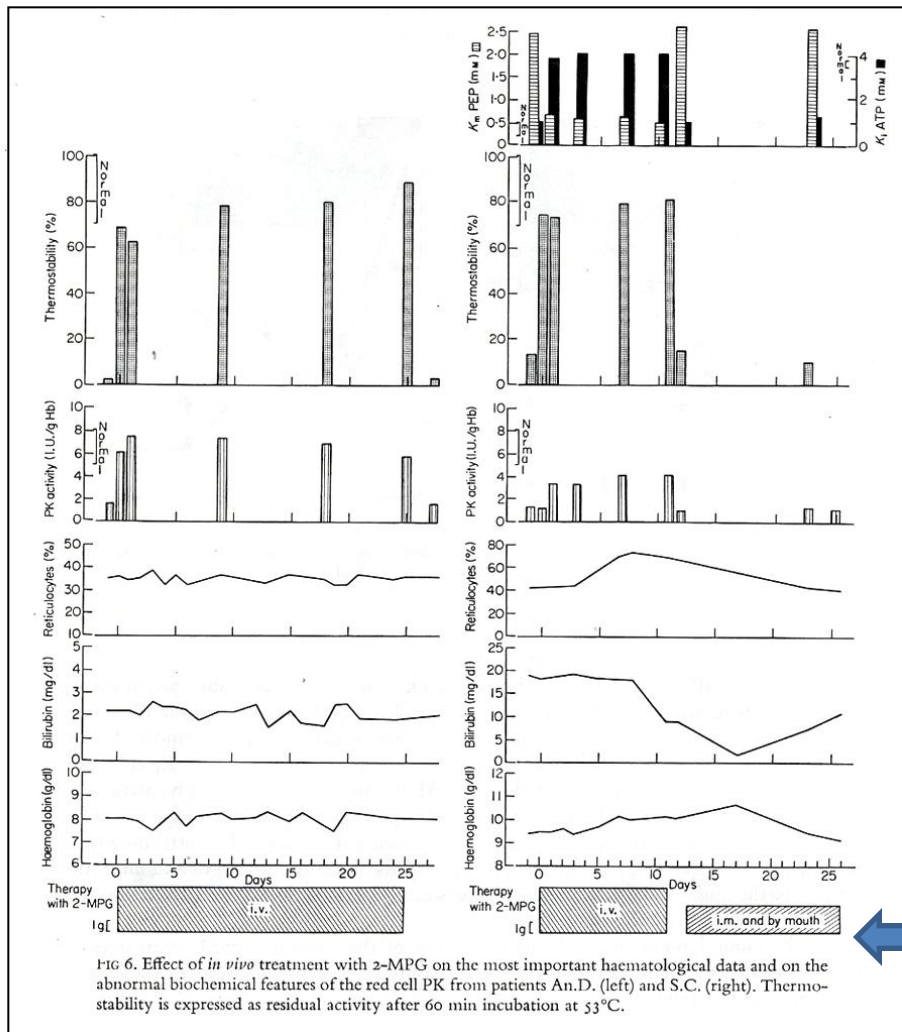


# Prevenzione e trattamento delle infezioni nei pazienti splenectomizzati

- **Vaccinazioni** Il pz asplenic è a maggior rischio di sepsi da batteri capsulati (*pneumococco*, *meningococco*, *haemophilus influenzae*) e va vaccinato. Il rischio di sepsi postsplenectomia è più alto nell'immediato postoperatorio, ma casi fulminanti possono insorgere a distanza di oltre 20 anni dall'intervento. La vaccinazione va ripetuta ogni 5 anni (se non disponibile monitoraggio dei livelli anticorpali serotipo-specifici) -
- **Profilassi antibiotica permanente (?)** (nei bambini, sino ai 16 a.)
- **Trattamento antibiotico urgente** in caso di febbre elevata



# Deficit di PK: terapia specifica



•Blume KG, et al Effect of **riboflavin** treatment on human red cell pyruvate kinase deficiency. Clin Chim Acta. 1976 Sep 6;71(2):331-4.

•Staal GE, et al. Normalisation of red blood cell pyruvate kinase in pyruvate kinase deficiency by **riboflavin** treatment. Clin Chim Acta. 1975 May 1;60(3):323-7.

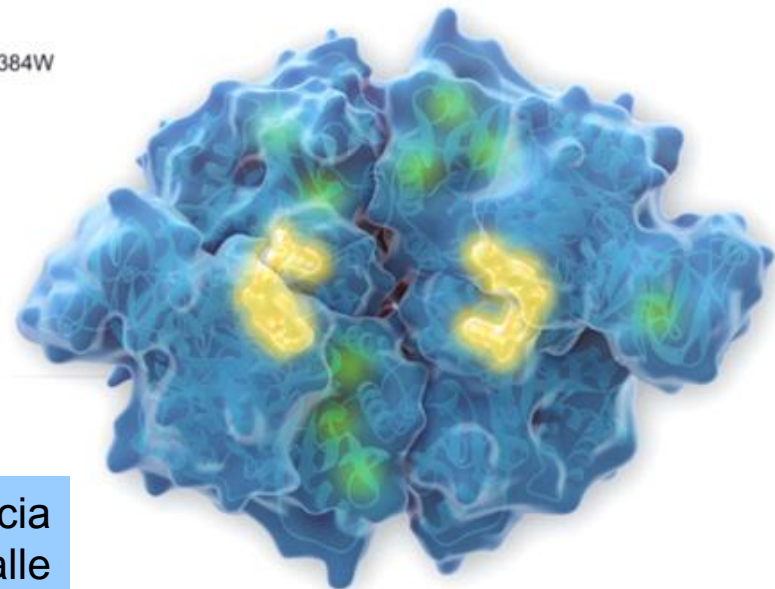
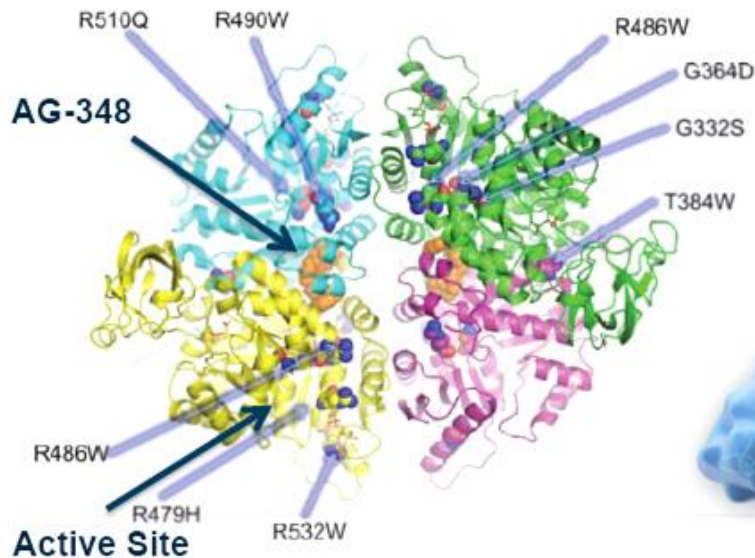
•Zanella A, et al. Effects of **sulphydryl compounds** on abnormal red cell pyruvate kinase. Br J Haematol. 1976 Mar;32(3):373-85.



# Deficit di PK: terapia specifica

## Il farmaco AG-348 è stato progettato per attivare una vasta gamma di Piruvato chinasi mutate

Piruvato chinasi: un tetramero attivo, sono indicate le mutazioni e il sito di legame del farmaco AG-348

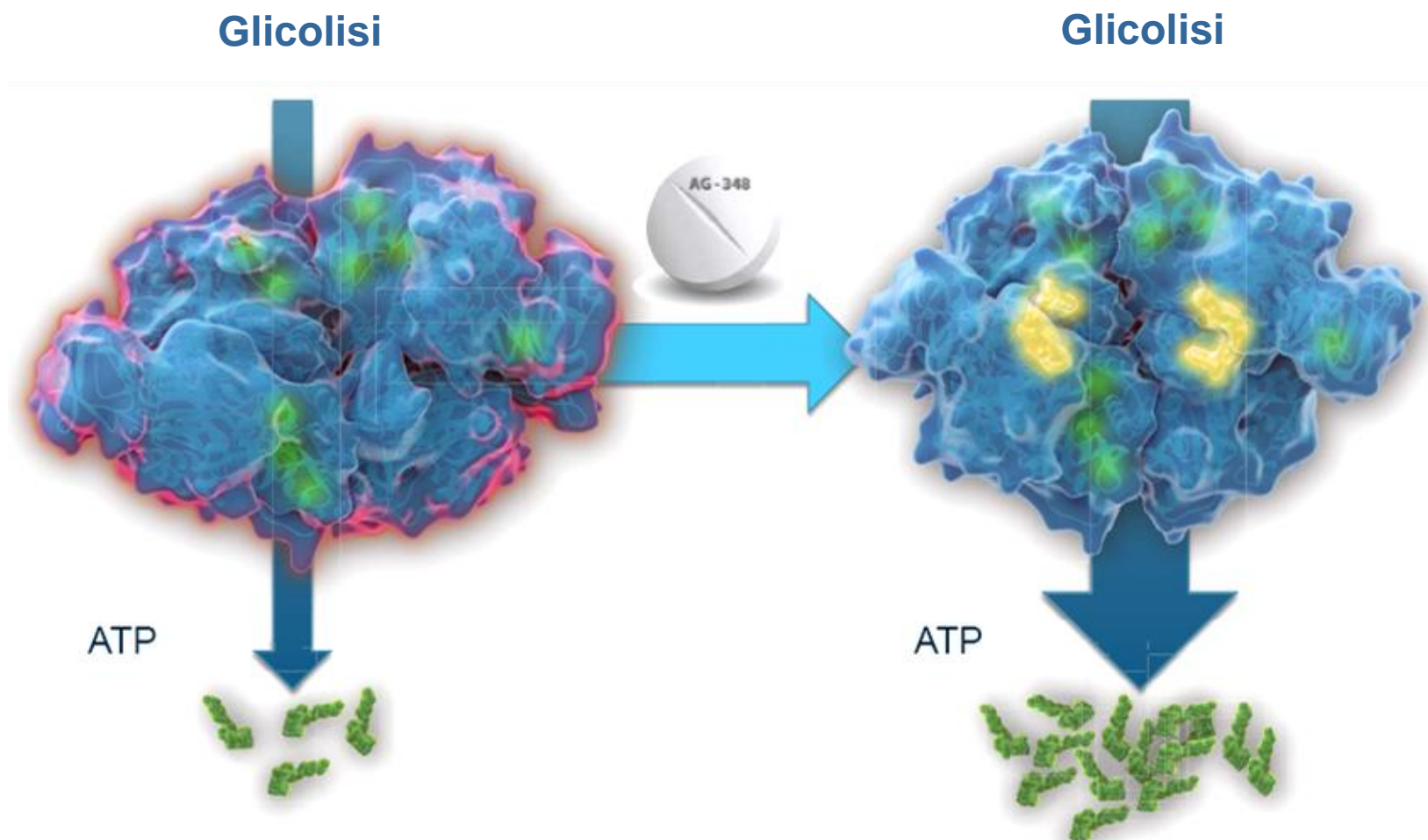


Il farmaco AG-348 si lega all'interfaccia dimero-dimero dell'enzima, lontano dalle comuni mutazioni associate con il deficit di PK



# Deficit di PK: terapia

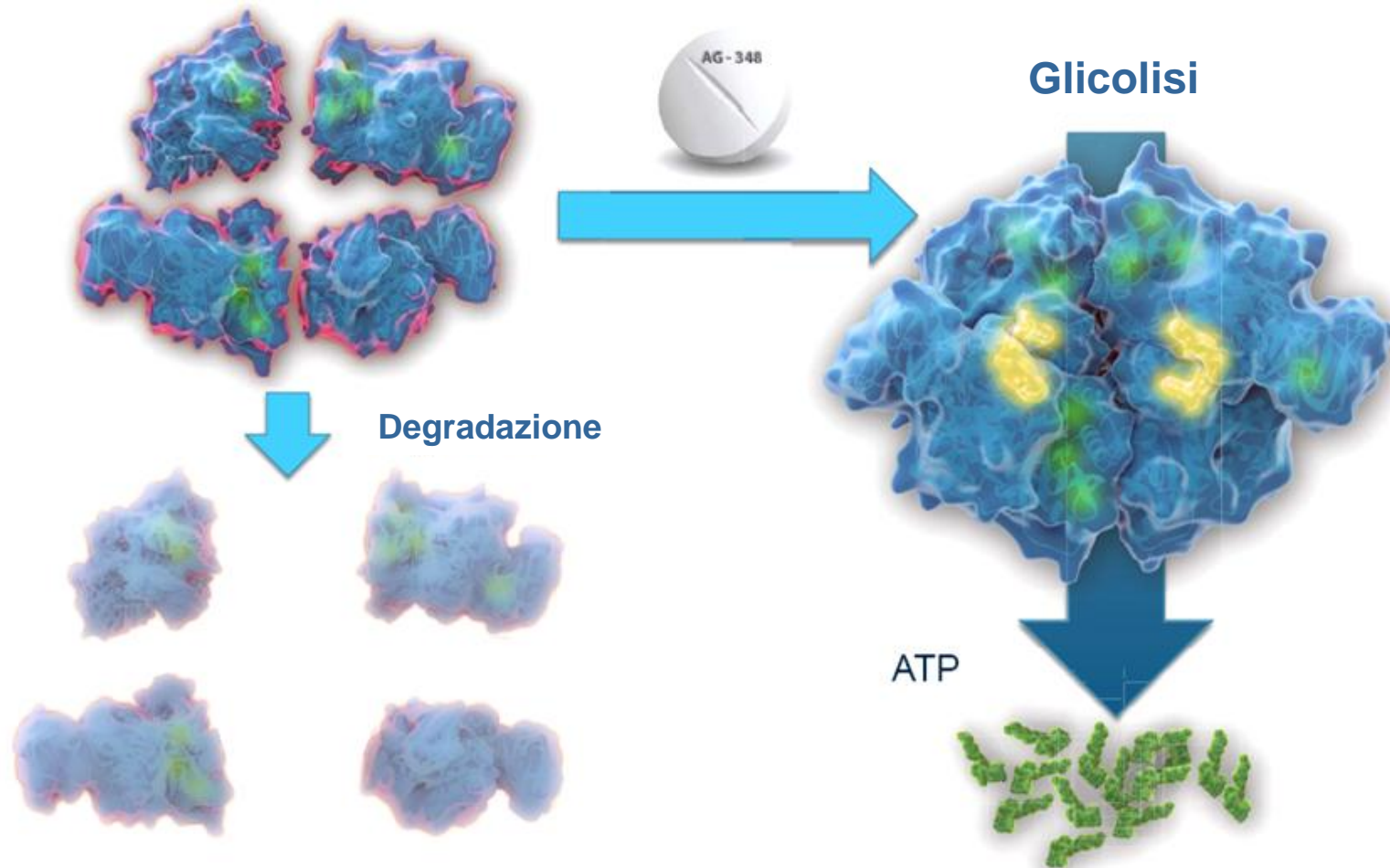
## I due meccanismi d'azione del farmaco AG-348: 1. Aumento dell'efficienza catalitica





# Deficit di PK: terapia

## I due meccanismi d'azione del farmaco AG-348: 2. Aumento della stabilità dell'enzima



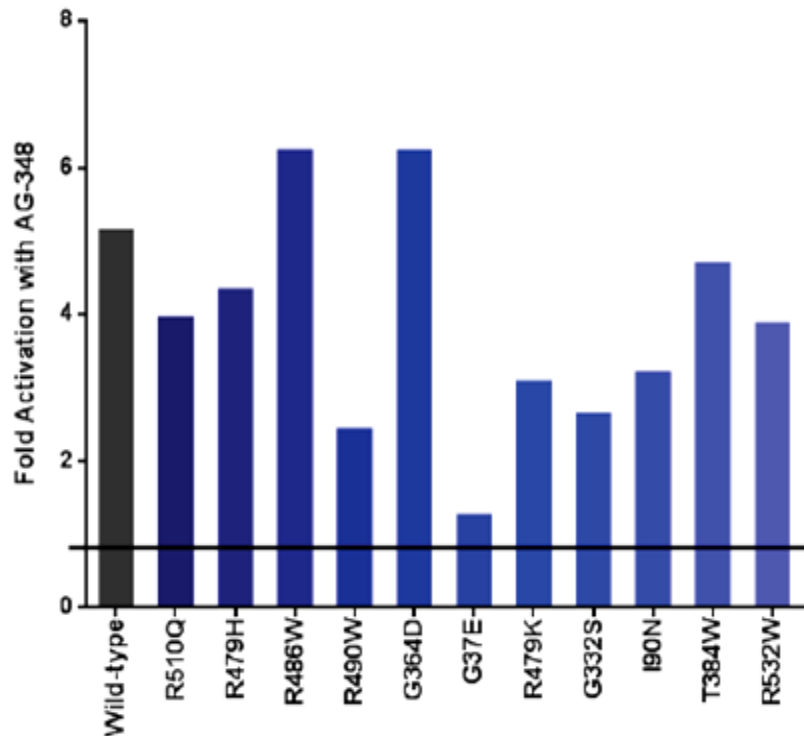




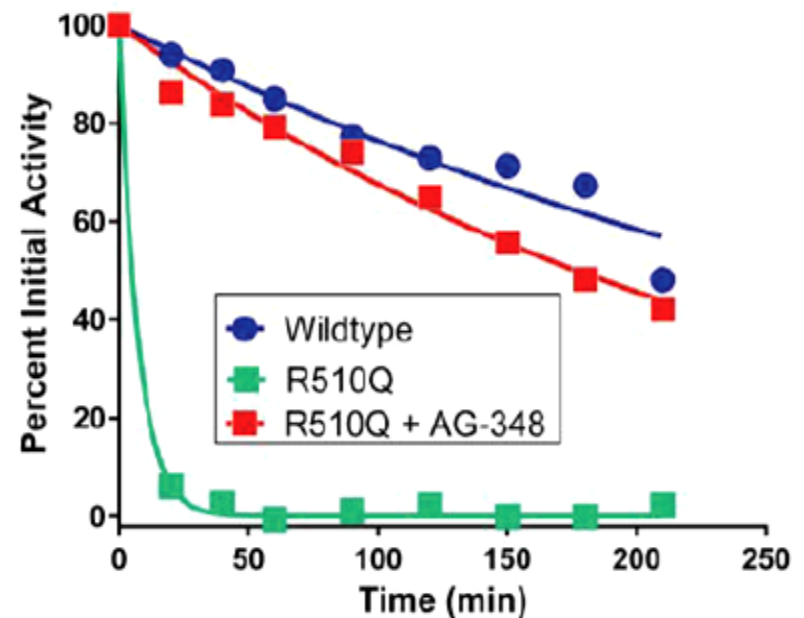
# Deficit di PK: terapia

## Il farmaco AG-348 aumenta l'efficienza catalitica e migliora la stabilità degli enzimi mutati

AG-348 attiva la PK non mutata e 10 su 11 forme mutanti



AG-348 aumenta la termo-stabilità degli enzimi mutanti

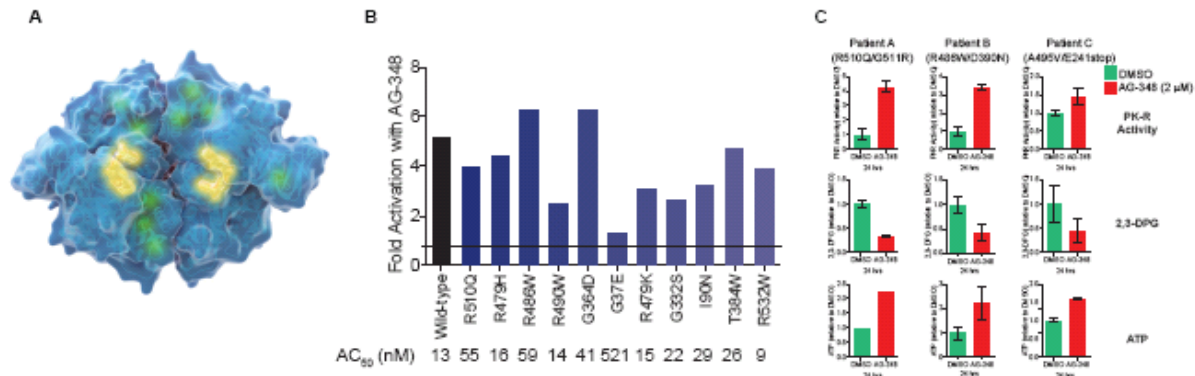


# AG-348 activation of pyruvate kinase *in vivo* enhances red cell glycolysis in mice

Charles Kung\*, Collin Hill, Yue Chen, Abhishek Jha, Penelope A Kosinski, Michelle Clasquin, Yaguang Si, Hyeryun Kim, Jeff Hixon, Lenny Dang, Sam Agresta, Lee Silverman, Hua Yang  
 Agios Pharmaceuticals, Cambridge, MA, USA \*Correspondence: charles.kung@agios.com

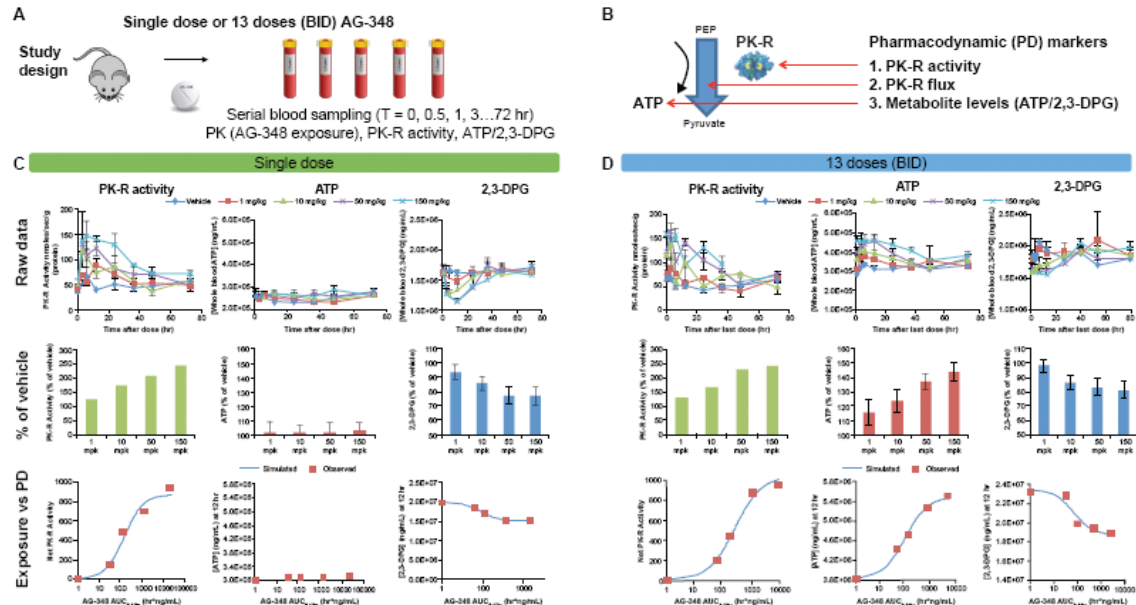
Presented at ASH meeting 2014 San Francisco, CA

Figure 2. AG-348 is an allosteric activator of mutant PK



(A) Crystal structure of PK-R tetramer showing binding site of AG-348 (yellow) and sites of common mutations associated with PK Deficiency (green). (B) AG-348 is a potent activator of recombinantly-expressed mutant PK-R enzymes. Shown are fold-activation and concentrations for 50% activation (AC<sub>50</sub>). (C) AG-348 effects on patient red blood cells treated *ex vivo*.

Figure 3. AG-348 treatment activates PK-R in a dose-dependent manner in mice



Presented at ASH meeting 2014 San Francisco, CA

Milano, 16 maggio 2015

# Phase 1 single (SAD) and multiple (MAD) ascending dose studies of the safety, tolerability, and pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) of AG-348, a first-in-class allosteric activator of pyruvate kinase-R, in healthy subjects

Hua Yang<sup>1</sup>, Elizabeth Merica<sup>1</sup>, Yue Chen<sup>1</sup>, Marvin Cohen<sup>2</sup>, Ronald Goldwater<sup>3</sup>, Collin Hill<sup>1</sup>, Hyeryun Kim<sup>1</sup>, Penelope A Kosinski<sup>1</sup>, Charles Kung<sup>1</sup>, Bruce Silver<sup>4</sup>, Luke Utley<sup>1</sup>, Sam Agresta<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Agius Pharmaceuticals, Cambridge, MA, USA; <sup>2</sup>MBC Pharma Solutions, Newtown, PA, USA; <sup>3</sup>Parexel, Baltimore, MD, USA; <sup>4</sup>Bruce A Silver Clinical Science and Development, Dunkirk, MD, USA

Figure 1. Study design

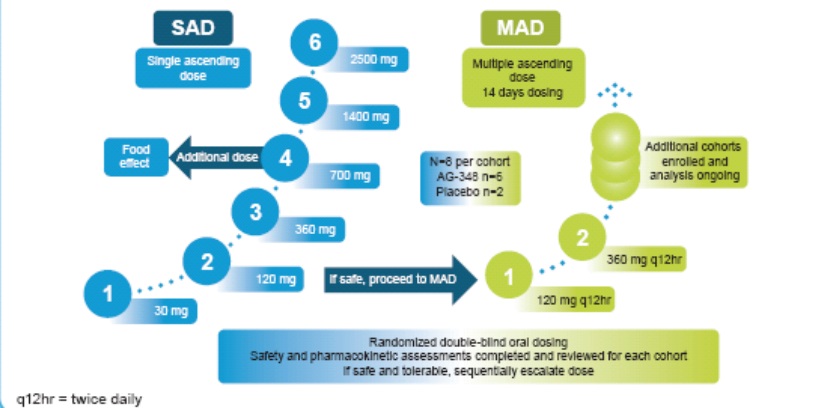


Figure 3. Mean blood concentration-time profiles of 2,3-DPG following a single oral dose of AG-348

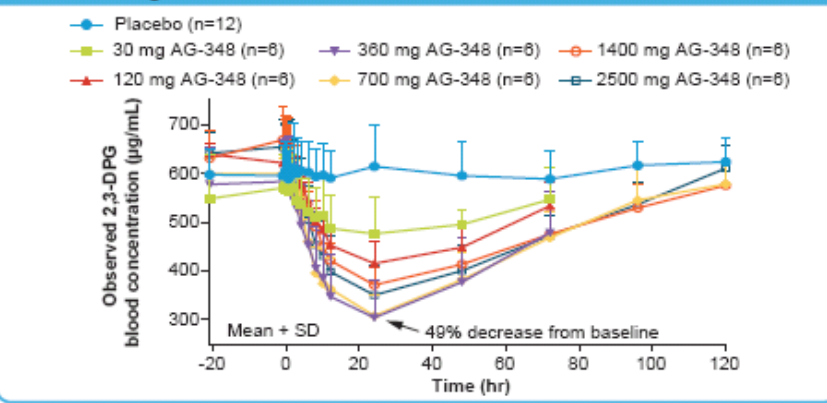


Figure 4. Mean blood concentration-time profiles of 2,3-DPG following multiple oral doses of AG-348 (cohorts 1 and 2 only)

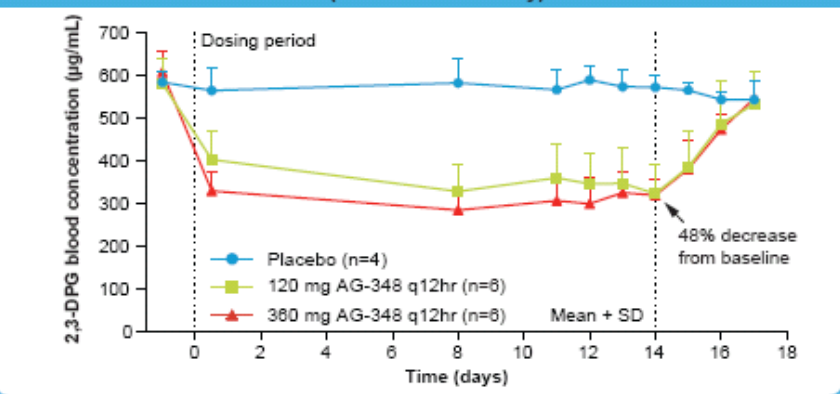
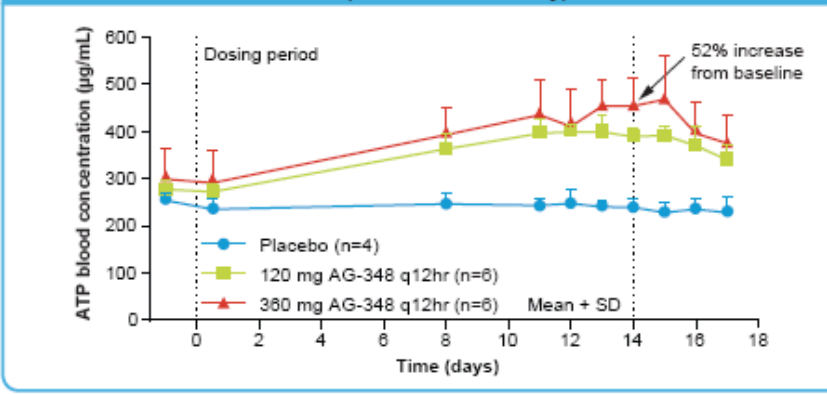


Figure 5. Mean blood concentration-time profiles of ATP following multiple oral doses of AG-348 (cohorts 1 and 2 only)



**FINE**