

MEDICINA, SCIENZA E SOCIETÀ

FARMACI BIOTECNOLOGICI PER LE MALATTIE CARDIOVASCOLARI

Biotechnological drugs for cardiovascular diseases

MAURO GIACCA*International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste Italy and Department of Medical Sciences, University of Trieste*

Nonostante i progressi compiuti negli ultimi 20 anni nella diagnosi e prevenzione delle malattie cardiovascolari e nello sviluppo di strumentazione in grado di sostenere e ottimizzare la funzione cardiaca, continua a esistere un bisogno impellente di sviluppare nuovi farmaci per queste condizioni. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, le patologie cardiovascolari continuano a costituire la prima causa di morte a livello internazionale, includendo quindi i Paesi in via di sviluppo (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/en/>). In contrasto ai progressi importanti compiuti nel campo del controllo delle dislipidemie e della pressione arteriosa, virtualmente nessun farmaco fondamentale è stato sviluppato negli ultimi vent'anni per lo scompenso cardiaco, dopo l'introduzione degli inibitori dell'ACE e dei beta bloccanti negli anni '70 e degli inibitori del recettore dell'angiotensina II a metà degli anni '90, non considerando rivoluzionaria la combinazione tra questi e gli

inibitori della neprilisina, né l'introduzione dell'ivabradina negli ultimi anni. Altrettanto sorprendente è la considerazione che nessuna terapia farmacologica è in grado di fare regredire il processo di arteriosclerosi, che di fatto sottende la maggior parte della patologia cardiovascolare. Infine, va anche rimarcato che oggi più della metà delle diagnosi di scompenso cardiaco nei pazienti con più di 60 anni è sostenuta da un difetto diastolico con frazione di eiezione conservata (HFpEF), una condizione la cui prevalenza sta crescendo con proporzioni epidemiche, con un tasso di mortalità dal 30 al 60% entro 5 anni dalla diagnosi, e per la quale non esiste alcuna terapia mirata ed efficace (1). Dal punto di vista dello sviluppo farmacologico, la situazione della terapia dello scompenso cardiaco è talmente frustrante che qualche anno fa l'allora presidente della Heart Failure Society of America, Milton Packer, intitolava un suo editoriale: "The impossible tasks of developing a new treatment for heart failure" (2).

È in questo scenario che si inserisce oggi la promessa di sviluppo di nuove strategie terapeutiche grazie alle biotecnologie. Di fatto, queste offrono la possibi-

*Indirizzo per la corrispondenza*Mauro Giacca
E-mail: giacca@icgeb.org

lità di affrontare il problema delle malattie cardiovascolari mediante lo sviluppo di farmaci biologici, intendendo con questo termine proteine (ad esempio, fattori di crescita o anticorpi monoclonali), acidi nucleici e cellule di varia derivazione. Il numero di farmaci biotecnologici è aumentato in maniera esponenziale nelle ultime tre decadi. Soltanto negli Stati Uniti, la Food and Drug Administration ha approvato oltre 30 anticorpi monoclonali, oltre 25 enzimi o modulatori di enzimi e oltre 30 modulatori della funzione di diversi recettori (3). Se si considerano anche vaccini e peptidi, sono più di 350 i farmaci biotecnologici che hanno già ricevuto approvazione, mentre altri 400 sono in diverse fasi di sperimentazione clinica. Se si escludono gli anticorpi monoclonali contro PCSK9 per il trattamento delle dislipidemie (4), la possibilità di utilizzare questa categoria di farmaci per il trattamento della funzione cardiaca e di quella dei vasi è largamente sottoesplorata. Fattori di crescita e anticorpi monoclonali rappresentano potenziali nuovi farmaci per modulare la contrattilità cardiaca, inibire la perdita irreversibile dei cardiomiociti e migliorare la funzione endoteliale. Dati sperimentali sugli animali ormai hanno delineato gran parte dei meccanismi molecolari che sottendono alla funzione del miocardio e dei vasi sanguigni e possono quindi rappresentare la base per lo sviluppo di questi farmaci. Vista la prevalenza delle patologie cardiovascolari nella popolazione generale, le implicazioni economiche sarebbero peraltro estremamente rilevanti. Attualmente, tra i 10 farmaci più redditizi soltanto 3 sono piccole molecole mentre ben 7 sono farmaci biologici (4 anticorpi monoclonali e 3 proteine ricombinanti; <http://www.epvantage.com/default.aspx>). Il farmaco più profittevole risulta essere adalimumab, un anticorpo monoclonale contro il

fattore TNF, utilizzato per diverse condizioni infiammatorie e reumatologiche, che da solo ha un mercato di oltre 10 miliardi di dollari (5).

Le applicazioni terapeutiche basate su acidi nucleici estenderanno ulteriormente l'impatto delle biotecnologie sulle malattie cardiovascolari. Questi non sono più necessariamente rappresentati da DNA che codificano per proteine, come nei primi approcci della terapia genica, ma si estendono ora a una serie di piccole molecole basate su DNA o RNA, tra cui oligonucleotidi, piccoli RNA con funzione regolatoria (siRNA e microRNA - miRNA) e aptameri, i quali possono essere ottenuti per via sintetica. In particolare, la possibilità di modulare l'espressione genica a livello trascrizionale o post-trascrizionale utilizzando queste molecole offre una possibilità molto ampia di intervento virtualmente in tutte le malattie degenerative in cui sia noto il meccanismo molecolare di azione. Ad oggi, almeno 5 applicazioni basate su oligonucleotidi antisenso (ASO) sono state già approvate negli Stati Uniti e oltre 100 sono attualmente in diverse fasi della sperimentazione clinica (6). Una delle approvazioni recenti è per il mipomersen, un oligonucleotide antisenso con tecnica gapmer, modificato chimicamente, in grado di bloccare l'espressione di apoB, indicato nel trattamento della forma omizigote dell'ipercolesterolemia familiare mediante somministrazione sottocutanea.

Dal 2012 ad oggi si è anche assistito a una risurrezione delle sperimentazioni basate sui meccanismi di interferenza a RNA, con almeno 9 farmaci basati su piccoli RNA che hanno raggiunto le fasi II e III della sperimentazione clinica, con applicazioni nel campo dei tumori, delle patologie oculari e del danno acuto renale (7). Inoltre, diverse aziende stanno attualmente investendo nell'utilizzo diretto di

analoghi di microRNA (molecole sintetiche di 21-23 nucleotidi a doppio filamento analoghe a quelle sintetizzate dal genoma umano) o di loro inibitori (oligonucleotidi a RNA più corti, chimicamente modificati per aumentarne la stabilità). In particolare, la modulazione del network dei microRNA appare di particolare interesse nel campo cardiovascolare, dal momento che molti di questi sono coinvolti in virtualmente tutti i processi che interessano il cuore e i vasi sanguigni, dallo sviluppo embrionale all'aterosclerosi fino allo scompenso cardiaco (8).

Un ulteriore campo di sviluppo delle biotecnologie nel settore cardiovascolare è rappresentato dalla terapia cellulare. Nell'ultimo decennio, le terapie cellulari basate sull'utilizzo delle cellule staminali hanno ricevuto molta enfasi. Cellule con la capacità di bilanciare la propria replicazione con quella di differenziarsi verso uno o più tipi cellulari specifici - soddisfacendo quindi la definizione di "cellule staminali" - sono state descritte in diversi organi di individui adulti e nell'embrione. La ricerca, per ora, è stata tuttavia largamente insoddisfacente in termini applicativi. Per quanto riguarda le cellule staminali dell'adulto, sembra ormai consolidato che gli unici tipi di cellule staminali realmente utilizzabili a fini terapeutici siano le cellule staminali ematopoietiche (per il trapianto di midollo) e le cellule staminali epiteliali (per la ricostruzione dell'epidermide nelle grandi ustioni e il trapianto di cornea). Nonostante l'ampia e fallace promessa di miracolose applicazioni di altri tipi di presunte cellule staminali da parte di cliniche private, soprattutto al di fuori dell'Unione Europea e degli Stati Uniti, non esiste in questo momento nessun'altra applicazione medica comprovata in cui alcun tipo cellulare possa portare alla effettiva rigenerazione tissutale.

In confronto alle cellule "staminali" dell'adulto, quelle derivate dall'embrione nelle prime fasi di sviluppo (in particolare, la blastocisti) offrono prospettive operative più reali. Oltre all'utilizzo delle comuni tecniche di fecondazione in vitro, embrioni possono essere ottenuti anche grazie alla clonazione somatica (la tecnica di trasferimento nucleare originariamente utilizzata per generare la pecora Dolly), mentre cellule staminali embrionali possono essere direttamente generate mediante il trasferimento di soli 4 geni in una qualsiasi delle cellule adulte di un organismo, una scoperta che ha valso il Premio Nobel per la Medicina a Shinya Yamanaka nel 2012. Queste cellule staminali possono essere espanse in laboratorio indefinitamente e poi stimolate a differenziare in virtualmente qualsiasi tipo cellulare, inclusi quelli di interesse cardiovascolare, ovvero cardiomiociti e cellule endoteliali. L'iniezione di queste cellule differenziate è in grado di rigenerare porzioni di cuore e vasi sanguigni, ma è ancora largamente allo stadio sperimentale nella scimmia, dove ha mostrato di non essere scevra di importanti effetti secondari, in particolare la generazione di aritmie potenzialmente letali (9).

Una possibile alternativa all'uso di cellule staminali per ottenere la rigenerazione cardiaca è quello di stimolare la produzione di nuovo tessuto miocardico direttamente in vivo, risvegliando la capacità endogena del cuore e dei vasi di riformarsi. Questo processo è sicuramente attivo nella vita embrionale e fetale ma, per ragioni che ancora sfuggono alla nostra comprensione, si spegne alla nascita. Recenti scoperte hanno tuttavia identificato i meccanismi molecolari alla base dell'incapacità delle cellule contrattili cardiache di proliferare e hanno anche portato all'identificazione di una serie di molecole in grado di promuovere la proliferazione dei

cardiomiociti dopo un infarto. In particolare, la rigenerazione cardiaca può essere stimolata dall'inoculazione, nella sede peri-infartuale, di microRNA in grado di risvegliare la capacità dei cardiomiociti di rientrare nel ciclo cellulare (10). Questi microRNA, sotto forma di piccole molecole sintetiche, possono essere utilizzati direttamente come farmaci a scopo rigenerativo, analogamente a quanto già dimostrato nel topo e nel maiale.

In conclusione, appare oggi evidente come nuovi e potenti farmaci biologici basati su fattori di crescita, anticorpi monoclonali, piccoli acidi nucleici regolatori e cellule di diversa derivazione possano offrire strumenti innovativi anche nel campo della terapia delle malattie cardiovascolari, dove la ricerca di piccole molecole si è largamente arenata. Lo sviluppo di questi farmaci innovativi, tuttavia, richiede che virtualmente tutti i parametri della farmacologia classica in termini di dinamica, cinetica ed effetti collaterali siano completamente ridisegnati prima in modelli animali e poi nelle prime fasi della sperimentazione clinica.

Bibliografia

1. Lourenco AP, Leite-Moreira AF, Balligand JL, Bauersachs J, Dawson D, de Boer RA, de Windt LJ, Falcao-Pires I, Fontes-Carvalho R, Franz S, Giacca M, Hilfiker-Kleiner D, Hirsch E, Maack C, Mayr M, Pieske B, Thum T, Tocchetti CG, Brutsaert DL, Heymans S. An integrative translational approach to study heart failure with preserved ejection fraction: a position paper from the Working Group on Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2018; 20: 216-227.
2. Packer M. The impossible task of developing a new treatment for heart failure. *J Card Fail.* 2002; 8: 193-196.
3. Kinch MS. An overview of FDA-approved biologics medicines. *Drug Discov Today.* 2015; 20: 393-398.
4. Rosenson RS, Hegele RA, Fazio S, Cannon CP. The Evolving Future of PCSK9 Inhibitors. *J Am Coll Cardiol.* 2018; 72: 314-329.
5. Ecker DM, Jones SD, Levine HL. The therapeutic monoclonal antibody market. *MAbs.* 2015; 7: 9-14.
6. Stein CA, Castanotto D. FDA-Approved Oligonucleotide Therapies in 2017. *Mol Ther.* 2017; 25: 1069-1075.
7. Titze-de-Almeida R, David C, Titze-de-Almeida SS. The Race of 10 Synthetic RNAi-Based Drugs to the Pharmaceutical Market. *Pharm Res.* 2017; 34: 1339-1363.
8. van Rooij E, Olson EN. MicroRNA therapeutics for cardiovascular disease: opportunities and obstacles. *Nat Rev Drug Discov.* 2012; 11: 860-872.
9. Liu YW, Chen B, Yang X, Fugate JA, Kalucki FA, Futakuchi-Tsuchida A, Couture L, Vogel KW, Astley CA, Baldessari A, Ogle J, Don CW, Steinberg ZL, Seslar SP, Tuck SA, Tsuchida H, Naumova AV, Dupras SK, Lyu MS, Lee J, Hailey DW, Reinecke H, Pabon L, Fryer BH, MacLellan WR, Thies RS, Murry CE. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes restore function in infarcted hearts of non-human primates. *Nat Biotechnol.* 2018; 36: 597-605.
10. Eulalio A, Mano M, Dal Ferro M, Zentilin L, Sinagra G, Zacchigna S, Giacca M. Functional screening identifies miRNAs inducing cardiac regeneration. *Nature.* 2012; 492: 376-381.