

A kardiális miozinaktivátorok klinikai alkalmazhatósága a preklinikai vizsgálatok tükrében

Ráduly Arnold Péter^{1,2}, Sárkány Fruzsina¹, Kovács Máté Balázs¹, Juhász Béla³, Horváth Balázs⁴, Szentandrassy Norbert⁵, Nánási Péter Pál⁵, Édes István⁵, Csanádi Zoltán², Tóth Attila¹, Papp Zoltán¹, Priksz Dániel³, Borbély Attila^{1,2}

¹Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kardiológiai Intézet, Klinikai Fiziológiai Tanszék, Debrecen

²Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kardiológiai Intézet, Kardiológiai Tanszék, Debrecen

³Debreceni Egyetem, Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézet, Debrecen

⁴Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Élettani Intézet, Debrecen

⁵Debreceni Egyetem, Fogorvostudományi Kar, Fogorvosi Élettani és Gyógyászati nem önálló Tanszék, Debrecen



A szerző
video-összefoglalója

Levelezési cím:

Dr. Borbély Attila, Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Kardiológiai Intézet, Kardiológiai Tanszék, 4032 Debrecen, Móricz Zsigmond krt. 22. E-mail: borbelya@med.unideb.hu

A csökkent ejekciós frakciójú szívelégtelenség (HFrEF) gyógyszeres kezelésében az utóbbi évtizedben jelentős fejlődés következett be. A kórkép patomechanizmusának középpontjában álló kontraktilis diszfunkciót közvetlenül javító, úgynevezett pozitív inotróp szerek azonban továbbra sem hoztak átütő sikert. Az ideális pozitív inotróp szer nem fokozza a myocardium energiaigényét és oxigénfelhasználását. Az eddig használt gyógyszerek sajnos maradéktalanul nem tudtak megfelelni ezeknek az elvárásoknak. Az aktin-miozin-interakció direkt modulálása miozinaktivátorokkal egy új terápiás célpont a kontrakciós erő fokozására, a korábbi szerekre jellemző káros mellékhatások nélkül. Klinikai vizsgálatokban az első ilyen gyógyszer, az omecamtiv-mecarbil (OM) – a III. fázis vizsgálatok kezdeti pozitív eredményei ellenére – megfelelő hatékonyság hiánya miatt mégsem került bevezetésre a klinikai gyakorlatba. Ezen vegyület alkalmazhatóságát korlátozó tényezőket számos preklinikai tanulmány vizsgálta. Az OM sikertelensége ugyanakkor egy új típusú miozinaktivátor, a danicamtiv kifejlesztését is potenciálta. A danicamtivval kapcsolatos preklinikai és klinikai vizsgálatok jelenleg még korlátozott számban érhetőek el. Az eddigi eredmények biztatóbbak a danicamtivval kapcsolatban, azonban ennek megerősítésére még számos vizsgálatra van szükség. Feltételezhetően mindkét gyógyszerjelölt jövőbeli alkalmazhatóságát diasztolés diszfunkciót okozó hatásuk korlátozhatja.

Kulcsszavak: miozinaktivátor, pozitív inotrópia, omecamtiv-mecarbil, danicamtiv, diasztolés diszfunkció

Clinical applications of cardiac myosin activators in the light of preclinical studies

There have been significant advances in the management of heart failure with reduced ejection fraction (HFrEF) over the last decade. However, the so-called positive inotropic agents, which directly correct the contractile dysfunction at the heart of the pathomechanism of the disease, have still not been a resounding success. The ideal positive inotropic agent does not increase myocardial energy demand and oxygen consumption. Unfortunately, the drugs used so far have not fully met these requirements. Direct modulation of the actin-myosin interaction by myosin activators is a new therapeutic target to enhance contractile force without the adverse side effects typical of previous agents. In clinical trials, the first such drug, omecamtiv mecarbil (OM), has not been introduced into clinical practice due to lack of adequate efficacy, despite initial positive results in phase III trials. Several preclinical studies have investigated the limiting factors for the applicability of this compound. However, the failure of OM has also stimulated the development of a new type of myosin activator, danicamtiv. Preclinical and clinical studies on danicamtiv are currently limited. The results to date are more encouraging for danicamtiv, but many more studies are needed to confirm this. Presumably, the future applicability of both candidates may be limited by their adverse effects on diastolic function.

Keywords: myosin activators, positive inotropy omecamtiv mecarbil, danicamtiv, diastolic dysfunction

Bevezetés

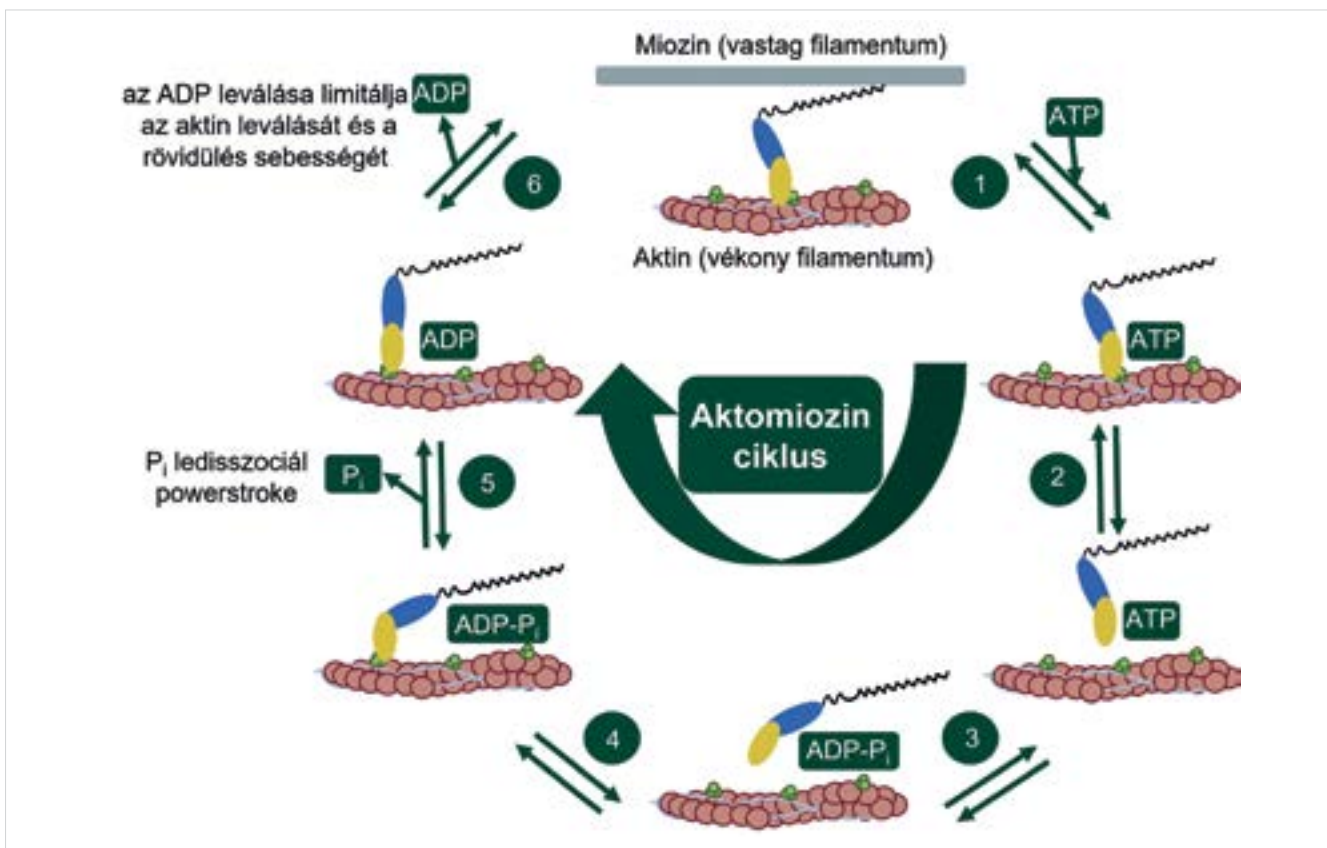
A mizonaktivátorok hatásmechanizmusa

A kontrakciók kialakításáért felelős molekuláris alapegységet, a szarkomert a vékony (aktin) és vastag (miozin) filamentumok együttese alkotja. A miozinmolekula felépítését tekintve két globuláris feji és egy farki részből áll. A miozin feji régiójának a kontrakcióban betöltött szerepe kiemelkedő fontosságú, ugyanis rajta található az aktin és adenosin-trifoszfát (ATP) kötőhely. A miozin ATPáz-aktivitással rendelkezik, így az ATP hidrolízisból nyert a kémiai energiát fizikai energiává képes alakítani (1. ábra) (1). Az omecamtiv-mecarbil (OM) és a danicamtiv, összefoglaló néven miozinaktivátorok, képesek a kardiális típusú miozin S1 régiójához kötődni és ezáltal fokozni az ATP hidrolizáló aktivitását, elősegítve ezzel az ADP és Pi képződését (2–4). A miozinfej allosztérikus aktivációja gyakorlatilag azt eredményezi, hogy az aktomiozin ciklus sebességmeghatározó lépése, a miozin-ADP komplex képződése és az anorganikus foszfát (Pi) disszociációja felgyorsul, elősegítve ezzel, hogy megnövekedjen az időegység alatt erőgenerálásra alkalmas miozinfejek száma. A folyamat végeredménye, hogy a szívizomsejt az energiaigény és oxigénfelhasználás fokozódása nélkül egy erőteljesebb

összehúzódást tud létrehozni, mivel a hatásmechanizusból adódóan ez nem befolyásolja kalciumszintet az szívizomsejten belül (4–7).

A miozinaktivátorok felfedezése, preklinikai és klinikai vizsgálatok Omecamtiv-mecarbil

A tumorelleses terápia fejlődése során nagy áteresztőképességű módszer segítségével olyan molekulákat kerestek, amelyek a sejtosztódásban szerepet játszó motoros funkciót ellátó fehérjéket, a kinezineket képesek gátolni. Azonban egy aktiváló molekulát sikerült azonosítani, amely további módosításaival hozták létre az OM-et (7–9). Ez a molekula már alkalmasnak bizonyult arra, hogy nemcsak *in vitro*, de *in vivo* vizsgálják a hatékonyságát. A preklinikai vizsgálatok során jó hatékonysággal fokozta a miozin-ATPáz aktivitását. Továbbá igazolták, hogy képes növelni a patkányból izolált szívizomsejtek kontrakciós erejét, a kontrakciós idő kisközü elnyújtása révén, mindezt a kalcium transziens befolyásolása nélkül (8–10). *In vivo* kísérletek során különböző szívélételenség állatmodellekben a BK-funkció javult az oxigénfelhasználás fokozódása nélkül (9).



1. ÁBRA. Az aktomiozin-ciklus és a miozinaktivátorok hatásmechanizmusa. Az omecamtiv-mecarbil (OM) és a danicamtiv, összefoglaló néven miozinaktivátorok, a kardiális típusú miozin S1 régiójához kötődnek és ezáltal fokozzák az ATP hidrolizáló aktivitását, az ADP és Pi képződését. A miozinfej allosztérikus aktivációja azt eredményezi, hogy az aktomiozin-ciklus sebességmeghatározó lépése, a miozin-ADP komplex képződése és az anorganikus foszfát (Pi) disszociációja (5-ös lépés) felgyorsul, ezáltal megnövekszik az erőgenerálásra alkalmas miozinfejek száma. (Day et al. 2022. alapján saját ábra)

A preklinikai vizsgálatok eredményeinek köszönhetően a gyógyszerjelölt eljutott a klinikai fázisig. Az első dóziskereső klinikai vizsgálat, illetve az ATOMIC-HF-vizsgálat során iv. OM-kezelést hasonlítottak össze placeboval. Később a COSMIC-HF-vizsgálat során per os kezelést alkalmaztak (11–14). A fenti vizsgálatokba döntően 40% alatti ejekciós frakcióval (EF) rendelkező HFrEF-betegeket vontak be. OM hatására a bal kamrai szisztolés funkció javult, jelentős megnyúlt a szisztolés ejekciós idő (SET), ugyanakkor a szer jól tolerálhatónak és biztonságosnak bizonyult. Adverz események esetében nem találtak különbséget az OM-kezelt és a placebocsoport között, habár a TnI-szintekben kismértékű növekedés volt megfigyelhető, amely nem mutatott összefüggést az alkalmazott OM-dózissal az ATOMIC-HF-vizsgálat során. A GALACTIC-HF III. fázis klinikai vizsgálat során az elsődleges összetett végpont előfordulása, azaz a CV-halálozás vagy SzE miatti esemény (hospitalizáció vagy sürgős vizit) az OM-mel kezelt betegekben szignifikánsan alacsonyabb volt a placebocsoportéhoz képest. A kompozit végpont összetevőit külön vizsgálva, a CV okból bekövetkező halálozás tekintetében nem volt szignifikáns különbség, azonban a szívelégtelenség miatti események tekintetében jelentős csökkenés volt megfigyelhető az OM-csoportban. Továbbá kismértékű, de nem szignifikáns növekedést figyeltek meg a szérum TnI-szintben és jelentősen csökkent az NT-proBNP-szint is OM-mel kezelt betegek esetében (15, 16). Fontos továbbá kiemelni, hogy ezen vizsgálatok során az OM diasztolés funkcióra kifejtett hatását kevésbé vizsgálták. Egyedül a COSMIC-HF-vizsgálatnak született egy post hoc analízise, amelyben az IVRT jelentős megnyúlását mutatták ki (14).

Danicamtiv

Feltételezhetően az OM-mel végzett klinikai vizsgálatok bizonytalan eredményei ösztönözték a kutatókat egy új direkt miozinaktivátor, a danicamtiv kifejlesztésére. Az OM-hez hasonlóan a danicamtiv is felgyorsítja a tisztított humán S1 miozinmolekulák ATPáz aktivitásának sebességét *in vitro*, és növeli a SET-et, javítja a BKEF-et, valamint a bal pitvari szisztolés funkciót HFrEF *in vivo* kísérleti kutyamodelljében. Az I. fázis klinikai vizsgálat során igazolták a danicamtiv biztonságosságát, amely eredmények alapján megtervezték és elvégezték a dóziseszkálációs vizsgálatokat HFrEF-betegekben, ahol a BK szisztolés funkció javulása mellett átmeneti tünetmentes troponin plazmakoncentráció-emelkedést tapasztaltak a betegek 23%-ánál. Egy nemrég mesterséges szívizomszöveten végzett preklinikai vizsgálatban az danicamtiv alkalmazásakor az OM-hez képest egy szélesebb terápiás tartomány, nagyobb kontraktilis funkciót javító és kedvezőbb luzitrop hatás volt megfigyelhető (4, 17–19). A danicamtivval kapcsolatos preklinikai vizsgálatok korlátozottan érhetőek az irodalomban.

Az OM-mel végzett összehasonlító preklinikai *in vitro* vizsgálataink

Célkitűzés és módszerek

In vitro vizsgálatunk céljából tűztük ki, hogy megvizsgáljuk az OM kontrakciókra és kalciumtranziesekre kifejtett hatását kutyából enzimatikusan izolált, intakt membránrendszerrel rendelkező bal kamrai (BK-i) szívizomsejteken. Komparátor vegyületként a TnC kalciumaffinitását fokozó levosimendant (Levo) és egy korábbi, szintén aktomiozinciklust befolyásoló gyógyszerjelöltet, az EMD 53998 (EMD)-t használtuk. A szívizomsejteket intracelluláris Ca^{2+} -szintjét Fura-2 AM Ca^{2+} -érzékeny ratiometrikus fluoreszcens festékkel vizsgáltuk. A kísérleti protokoll a következő volt: szobahőmérsékleten a szívizomsejteket 0,1 Hz-en legalább 2-3 percig stimuláltuk, hogy minden kísérlet elején elérjünk egy állandósult „steady-state” állapotot. Az egyes kísérletben alkalmazott gyógyszerekkel, OM-mel (0,03 μ M, 0,1 μ M, 0,3 μ M vagy 1 μ M végkoncentrációban), Levo-val (1 μ M) vagy EMD-vel (1 μ M) 5-8 percig inkubáltuk a sejteket, majd ismételt téringerléseket kezdtünk és rögzítettük a kontrakciókat és a Fura-2 arány változásait (6, 20–22).

Eredmények

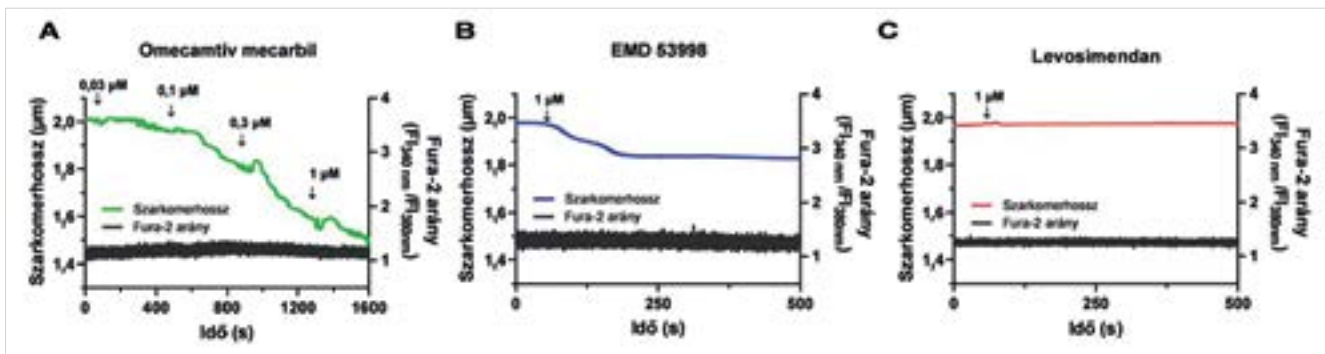
Az OM a kalciumtranzien megváltozása nélkül csökkenti a nyugalmi szarkomerhosszt

Az OM-mel történő kumulatív, stimulus nélküli kezelés hatására a szívizomsejtek nyugalmi szarkomerhossza (RSL) növekvő OM-koncentrációk hatására jelentős mértékben csökkent. Az 1 μ M EMD-kezelés hatására az OM-hez hasonlóan a nyugalmi SL szignifikáns csökkent, míg a Levo nem volt hatással erre a paraméterre. Az IC nyugalmi Ca^{2+} -koncentráció változatlan maradt mind az OM, EMD vagy Levo-kezelések során (2. ábra).

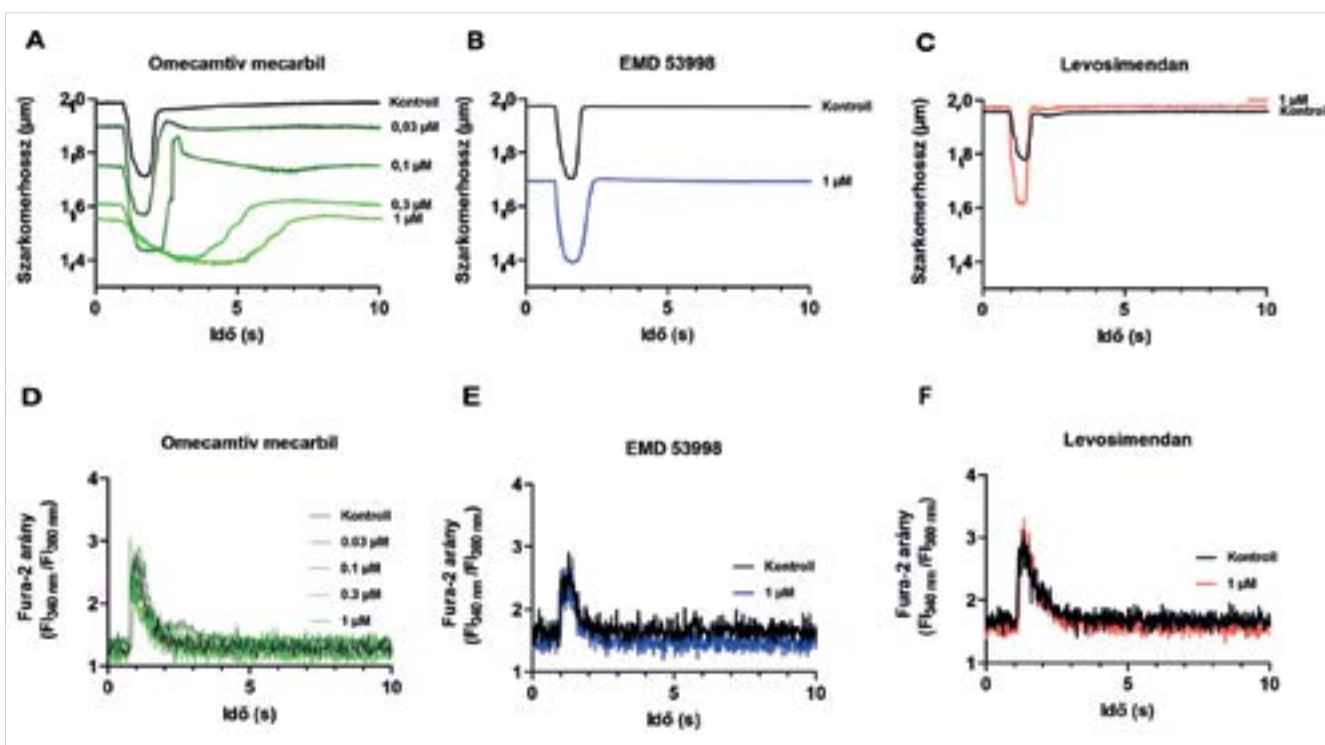
Az OM megváltoztatja a szívizomsejtek kinetikai tulajdonságait *in vitro*

A szisztolés SL szignifikánsan csökkent 0,03 μ M, 0,01 μ M, 0,3 μ M és 1 μ M OM-koncentrációk alkalmazásakor téringerlést követően. Az OM-hez hasonlóan az EMD és Levo is jelentősen csökkentette a szisztolés SL-t. Az OM növelte a frakcionális szarkomerhossz-rövidülést (FSL) 0,03 μ M-os koncentrációban, de magasabb gyógyszer-koncentrációknál nem volt rá jelentős hatással, míg 1 μ M-os koncentrációban az EMD és a Levo is szignifikánsan növelte ezt a paramétert. A Ca^{2+} -tranzienek amplitúdóit egyik alkalmazott gyógyszer sem befolyásolta (3. ábra).

Az OM-koncentráció növekedésével a kontrakciós idő progresszív megnyúlása volt megfigyelhető, míg az EMD és a Levo nem befolyásolta azt. Növekvő OM-koncentrációkkal (0,03 μ M, 0,1 μ M, 0,3 μ M és 1 μ M) a kontraktilis válaszok, a kontrakciók és a relaxációk sebességének jelentős fokú lassulása volt megfigyelhető. Az OM-mel és az EMD-vel ellentétben a Levo növelte



2. ÁBRA. Az omecamtiv-mecarbil (OM), levosimendan és EMD-53998 hatása a nyugalmi szarkomerhosszra. Az OM stimulus hiányában is dóziszfüggően csökkentette a nyugalmi szarkomerhosszt, akárcsak az EMD-53998, míg a levosimendan nem befolyásolta azt. Az intracelluláris kalciumszintet tükröző Fura-2 arány mindvégig változatlan maradt.



3. ÁBRA. Az omecamtiv-mecarbil (OM), levosimendan és EMD 53998 kezelés során regisztrált reprezentatív kontrakciók és kalciumtranziensek. Az OM-et (A) különböző koncentrációkban (0,03 μM, 0,1 μM, 0,3 μM, 1 μM) adtuk a szívizomsejtekhez. Az egyensúlyi állapot elérését (5-8 perc) követően a kontraktilis paramétereket rögzítettük. Az EMD-t (B) és a Levo-t (C) 1 μM-os koncentrációban alkalmaztuk. Az intracelluláris Ca²⁺-tranzienseket (D-F) a kezelések előtt és után (a jelzett gyógyszer-koncentrációk mellett) követtük nyomon. Reprezentatív eredmények az OM (A, D), az EMD (B, E) és a Levo (C, F) jelenlétében

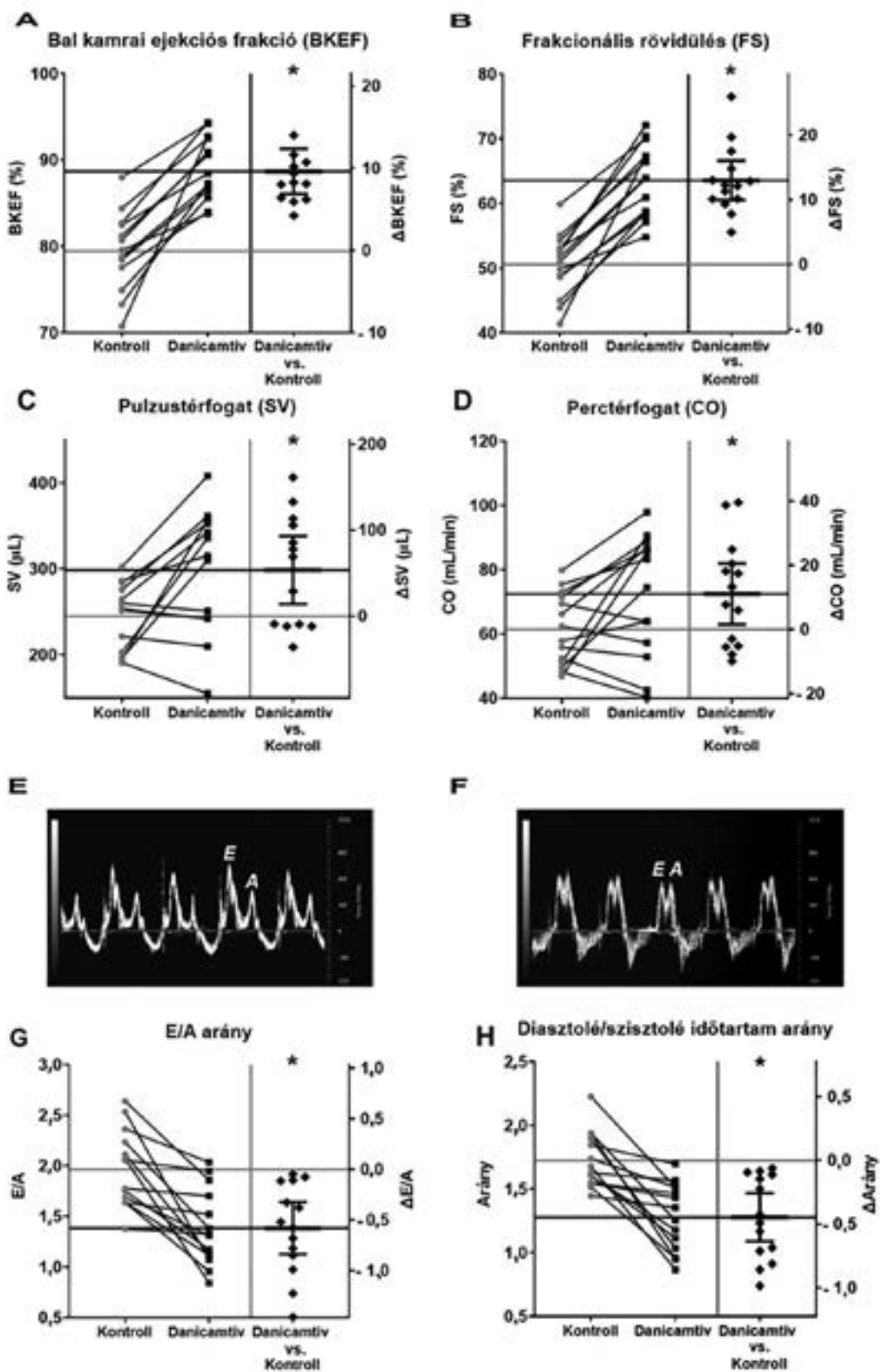
mind az összehúzódások, mind a relaxációk kinetikáját. A Ca²⁺-tranziensek időtartamát, az IC Ca²⁺-tranziensek felfutásainak és lecsengésének kinetikáját egyik gyógyszeres kezelés sem befolyásolta (2. ábra).

Danicamtivval végzett preklinikai *in vivo* vizsgálataink

Célkitűzés és módszerek

Az új típusú miozinaktivátorral, a danicamtivval kapcsolatban az ismereteink korlátozottak, kevés preklini-

kai adat áll rendelkezésre, amely részletesen vizsgálja a szer szisztolés, diasztolés funkcióra kifejtett hatását. *In vivo* vizsgálataink során célul tűztük ki, hogy echokardiográfia segítségével jellemezzük a szer hatását. A kísérleteket 8-12 hetes felnőtt Sprague–Dawley-patkányokon (n=14) végeztük. Az echokardiográfia során három elvezetéses EKG-rögzítés és monitorizálás történt. A danicamtivot iv. 2 mg/kg dózisban, egyszeri bólusban adtuk be az előzőleg kanulált farokvénába. Transthoracalis echokardiográfiát végeztünk kezelés előtt, illetve után. Az adatgyűjtést B-, 2D-, M- és Doppler-módban



4. ÁBRA. A danicamtiv hatására javul a bal kamra szisztolés funkciója, azonban diasztolés diszfunkció alakul ki. Danicamtivkezelés hatására jelentős javulást tapasztaltunk az ejekciós frakció, frakcionális rövidülés, pulzustérfogat és perc-térfogat esetében (A–D). Reprezentatív transmitralis beáramlási görbéken (E, F) jól látható az E/A arány megváltozása (G). A kezelés hatására a szisztolé ideje megnyúlik, a diasztolé ideje rövidül, a kettő aránya felborul (H).

1. TÁBLÁZAT. Az echokardiográfiával és elektrokardiográfiával mért paraméterek változásai danicamtivkezelés hatására

Paraméterek	Kontroll (n=14)	Danicamtiv (n=14)	p-érték (kontroll vs. danicamtiv)
<i>Echokardiográfia</i>			
BK végdiasztolés átmérő (mm)	7,56±0,12	7,74±0,26	0,450
BK végdiasztolés átmérő (mm)	3,76±0,11	2,93±0,17	<0,001
Szisztolés időtartama (ms)	88,6±1,83	106±3,30	<0,001
Diasztolés időtartama (ms)	152±4,18	133±4,66	0,008
Szisztolés ejekciós idő (ms)	72,3±1,52	87,1±3,05	<0,001
Globális longitudinális strain (%)	-24,2±1,28	-33,3±1,45	<0,001
Globális cirkumferenciális strain (%)	-54,6±3,28	-59,3±3,36	0,015
Radiális szisztolés csúcssebesség (cm/s)	3,51±0,13	2,67±0,17	<0,001
Transzmitrális E hullám sebesség (mm/s)	721±11,9	646±29,1	0,013
Transzmitrális A hullám sebessége (mm/s)	379±19,0	507±37,8	0,178
Pulmonalis véna pitvari reverz áramlási sebessége (mm/s)	136,7±11,4	201,1±24,9	0,008
Pulmonalis véna pitvari reverz áramlási időtartama (ms)	20,27±0,77	28,10±2,24	0,004
Mitrális E hullám lassulási idő (ms)	57,57±2,53	51,09±2,63	0,134
Mitrális billentyű szeptális e' (mm/s)	40,47±2,44	36,36±2,36	0,051
Mitrális billentyű szeptális a' (mms/s)	35,21±1,74	42,24±2,27	0,070
Mitrális billentyű szeptális e'/a'	1,21±0,11	0,874±0,10	0,014
Tei index	0,60±0,04	0,50±0,03	<0,001
E/e' arány	18,79±1,31	19,53±1,69	0,549
Izovolumetrikus összehúzóási idő (ms)	14,50±0,53	14,50±0,91	0,999
Izovolumetrikus relaxációs idő (ms)	27,79±1,77	28,71±2,22	0,450
<i>Elektrokardiográfia</i>			
Szívfrekvencia (bpm)	251±15	249±14	0,715
PQ-intervallum (ms)	48±4	51±4	0,245
QRS-időtartam (ms)	17±3	17±2	0,869
QT-intervallum (ms)	42±2	42±1	0,577
T-hullám amplitúdó (mV)	0,13±0,02	0,13±0,03	0,477

végeztük, parasternalis hosszú- és rövidtengelyű (PS-LAX és PSAX), valamint suprasternalis (SST) és csúcsi 4 üregű (A4C) nézetekből. Vizsgáltuk a BK-i dimenziókat (EDD, ESD), BK szisztolés funkciót jellemző paramétereket (EF, FS, SV, CO, GLS, GCS), a szív ciklus egyes időtartamait (diasztolés és szisztolés időtartama, SET, IVCT, IVRT) és a diasztolés funkciót (E, A, e', a') jellemző paramétereket (23–27).

Eredmények

Danicamtiv jelentősen javítja a szisztolés funkciót

Danicamtiv iv. beadása után a BK-i ESD jelentős csökkenését tapasztaltuk, azonban a BK-i EDD nem változott. A releváns BK-i kontraktilis paraméterek, beleértve az BKEF-t, FS-t és az SV-t szignifikánsan javultak a danicamtivkezelést követően. Emellett a CO is jelentősen nőtt, ami alátámasztja a gyógyszerjelölt pozitív inotróp hatását (4. ábra). A danicamtiv hatását a szív-izom-összehúzóási dinamikájára strain-echokardio-

gráfia segítségével részletesebben is megvizsgáltuk. A BK-i radiális szisztolés csúcssebesség szignifikáns csökkenése volt megfigyelhető. A danicamtivkezelés hatására azonban, mind a globális longitudinális strain, mind a globális cirkumferenciális strain-paraméterek szignifikánsan csökkentek, ami a BK szisztolés funkció javulására utal (1. táblázat). A danicamtivkezelések során kialakult aorta- vagy pulmonalis artériás átlag- és csúcssebességekben, illetve átlag- és csúcsgradiensekben nem volt szignifikáns változás.

A danicamtiv diasztolés diszfunkciót okoz és rövidíti a diasztolés időtartamát

A danicamtiv szív ciklus különböző időtartamaira kifejtett hatását is megvizsgáltuk, amely során mind a szisztolés időtartama, mind a SET szignifikáns megnyúlását tapasztaltuk. Az echokardiográfiával mért paraméte- rekből kalkulált diasztolés időtartam szignifikánsan csökkent, amit a diasztolés és a szisztolés időtartam arányának jelentős csökkenése kísért (1. táblázat, 4. ábra). A danicamtiv hatására a korai (E) transmitralis

beáramlási sebesség szignifikánsan csökkent, a késői (A) transmitralis beáramlási sebesség pedig jelentősen növekedett. Az E/A arány ennek megfelelően jelentősen csökkent, amely a BK-i töltőnyomás emelkedését jelezheti. A szöveti doppler (TDI) sebességek a mitrális E- és A-hullám sebességéhez hasonlóan változtak. A TDI e'/a' arány változásai tovább erősítik a danicamtiv beadásakor megváltozott mitralis beáramlási mintázatot. Mindazonáltal az izovolumetriás relaxációs idő (IVRT) ezzel egy időben változatlan maradt. Ezen túlmenően a pulmonalis véna pitvari reverz áramlási sebességének és az áramlás időtartamának jelentős növekedése volt megfigyelhető, ami a BK diasztolés funkciójának romlását és a bal pitvar kontrakció erősségének fokozódását jelezheti. Továbbá, a folyamatos EKG-monitorizálás során igazoltuk, hogy a szívfrekvencia változatlan marad, és kóros EKG-eltérést nem találtunk (1. táblázat).

Megbeszélés

Eredményeink alapján az OM pozitív inotróp hatásának hátterében elsősorban az összehúzódások idejének megnyúlása, nem pedig a kinetikai paraméterek gyorsulása, vagy a frakcionált szarkomerhossz-rövidülés növekedése áll. Az OM alacsony (diasztolés) IC Ca^{2+} -koncentráció esetén a szívizomsejtek SL-csökkenését idézte elő téringerlés hiányában is. A SL-csökkenés mértéke hasonló volt téringerlést követően a stimulált szívizomsejtekben mérhető diasztolés SL-hez, ami arra utal, hogy az aktin-miozin kölcsönhatás OM-függő aktiválásához nem volt szükség Ca^{2+} -ra. Ezek az eredmények összhangban vannak a patkány permeabilizált szívizomsejtekben diasztolés Ca^{2+} -szintek mellett megfigyelt izometrikus erőfokozódással (2). Az OM-hez hasonlóan az EMD is csökkentette a nyugalmi SL-t, ami hasonlóságot mutat a két szer esetében (28, 29). Vizsgálatunkból az is tisztán látható, hogy a diasztolés és szisztolés SL-ek, valamint a kontrakciós időtartamok csökkenése szorosan összefügg az OM koncentrációjával. A diasztolés SL csökkenése felelős azért, hogy magasabb OM-koncentrációk esetében az FSL nem mutatott jelentős növekedést annak ellenére, hogy a szisztolés SL-ek jelentősen csökkentek, vagyis a nyugalmi SL-csökkenés gátat szab az FSL növekedésének. A szívizomsejtek összehúzódásainak időtartama majdnem hatszorosára nőtt magas OM-koncentráció mellett, ami – a vékony filamentumok inaktiválódásának késleltetése és az erősen kötődő keresztidák számának növekedése miatt – a kontraktilis rendszer elhúzódó aktiválódására utal. Jelen vizsgálatban az OM hatására az intakt szívizomsejtek relaxációja jelentősen csökkent, különösen magasabb (0,3 és 1 μM) koncentrációknál: az EMD vagy a Levo ugyanakkor ezt a paramétert csak kismértékben befolyásolta. Ez összhangban van korábbi vizsgálatunk eredményével, amely során az OM jelentősen megnyújtotta a per-

meabilizált patkány szívizomsejtek relaxációját és megnövelte Ca^{2+} -független passzív erejüket.

In vivo tanulmányunkban átfogó echokardiográfias elemzéssel kimutattuk, hogy patkányszívvekben a danicamtiv jelentős hatást gyakorol mind a szisztolés, mind a diasztolés funkcióra. A fenti adatok és a szív S1 miozinján OM és danicamtiv alkalmazásával végzett preklinikai vizsgálat eredményei arra utalnak, hogy a miozin ATPáz sebességét még diasztolés Ca^{2+} -szint mellett is növelik a direkt miozinaktivátorok (4, 20, 31). A BK-i kontraktilitást jellemző paraméterek közül danicamtiv hatására jelentősen javult az EF és az FS, továbbá a non-invazívan meghatározott SV és a CO is. Ellentétben az OM-mel, amely humán alkalmazás során az EDD-t és az ESD-t is csökkentette, a danicamtiv csak az ESD-t csökkentette, az EDD-t érdemben nem befolyásolta (4, 9, 32). Ezek az eredmények összhangban vannak a szívelégtelen kutyákon végzett preklinikai adatokkal, és részben egy 2.A fázis klinikai vizsgálat eredményeivel is, ahol az EDD kevésbé tűnt érzékenynek a danicamtivra, mint az ESD. Egy nemrégiben humán mesterséges szívizomszöveten a danicamtiv és az OM hatásait összehasonlító vizsgálatban a danicamtiv hatására a szisztolés funkciót jellemző paraméterekben kifejezettebb javulás volt megfigyelhető a relaxációhoz képest (19). A megnövekedett BK-i töltőnyomást köztudottan a pitvari kontraktilis funkció növekedése kompenzálja. A danicamtiv esetében ezt a jelenséget jól tükrözte a transmitralis A-hullám jelentős növekedése, az E-hullám, az E/A arány, valamint a szöveti dopplerrel mért e'/a' arány is jelentős mértékű csökkenése.

Következtetések

Összességében elmondható, hogy az OM és a danicamtiv szívre gyakorolt hatásai hasonlóak: mindkét vegyület javítja a bal kamra szisztolés funkcióját, ugyanakkor alkalmazásuk során diasztolés diszfunkció kialakulásával is számolnunk kell. A danicamtiv OM-mel szembeni előnye, hogy nem befolyásolja az IVRT-t és a IVCT-t, valamint nem változtatja meg az EDD-t sem.

A danicamtiv az OM-hez hasonlóan a Ca^{2+} -homeosztázis befolyásolása nélkül javítja a BK-i szisztolés funkciót. Vizsgálatunk során pitvari aritmia, malignus kamrai ritmuszavar, vagy vezetési zavar megjelenését nem tapasztaltuk, amely szintén támogatja azt a tényt, hogy a danicamtiv független a konvencionális pozitív inotróp szerekre jellemző mellékhatásoktól. Fontos megjegyezni, hogy kutatócsoportunk egy korábbi *in vivo* vizsgálata során, ahol szintén egészséges patkányokon alkalmaztunk OM-kezelést, egy úgynevezett alternáló elektromechanikus jelenség alakult ki, amelyet a danicamtiv esetében nem tapasztaltunk. Bár a danicamtiv is befolyásolja a BK-i diasztolés funkciót, ez a hatás kevésbé szembetűnő, mint az OM alkalmazása-

kor. Ez a különbség bizonyos mértékig összefügghet a danicamtiv által kiváltott pitvari kontraktilitás fokozódásával. Ezenkívül a diasztolés diszfunkció osztályhatásként jelenik meg a direkt miozinaktivátorok alkalmazása során. Eredményeink alapján a danicamtivval kezelt betegeknél nagy figyelmet kell fordítani a BK diasztolés funkciójának rendszeres ellenőrzésére.

Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését a GINOP-2.3.2-15-2016-00043. számú, „Szív- és érkeletési kiválóságközpont (IRONHEART)” című projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Regionális Fejlesztési Alap társfinanszírozásával valósult meg és TKP2020-NKA-04- Járműipar, Inzulinrezisztencia, Űrkutatás (DE-SPACE) támogatta.

„A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-23-3-ii-de-183 kódszámú új nemzeti kiválóság programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.”

Irodalom

- Katz AM, Lorell BH. Regulation of cardiac contraction and relaxation. *Circulation* 2000; 102: IV69–74. https://doi.org/10.1161/01.cir.102.suppl_4.iv-69.
- Nagy L, Kovács Á, Bódi B, et al. The novel cardiac myosin activator omecamtiv mecarbil increases the calcium sensitivity of force production in isolated cardiomyocytes and skeletal muscle fibres of the rat. *Br J Pharmacol* 2015; 172: 4506–18. <https://doi.org/10.1111/bph.13235>
- Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Cardiac Myosin Activation with Omecamtiv Mecarbil in Systolic Heart Failure. *N Engl J Med* 2021; 384: 105–16. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2025797>. Epub 2020 Nov 13.
- Voors AA, Tamby J-F, Cleland JG, Koren M, Forgosh L et al. Effects of danicamtiv, a novel cardiac myosin activator, in heart failure with reduced ejection fraction: experimental data and clinical results from a phase 2a trial. *Eur J Heart Fail* 2020; 22: 1649–58. <https://doi.org/10.1002/ehf.1933>
- Kooiker KB, Mohran S, Turner KL, et al. Danicamtiv increases myosin recruitment and alters the chemomechanical cross bridge cycle in cardiac muscle. *bioRxiv*: the preprint server for biology. United States; 2023. <https://doi.org/10.1101/2023.01.31.526380>
- Horváth B, Szentandrassy N, Veress R, et al. Frequency-dependent effects of omecamtiv mecarbil on cell shortening of isolated canine ventricular cardiomyocytes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2017; 390: 1239–46. <https://doi.org/10.1007/s00210-017-1422-z>
- Morgan BP, Muci A, Lu P, et al. Discovery of Omecamtiv Mecarbil the First, Selective, Small Molecule Activator of Cardiac Myosin. *ACS Med Chem Lett* 2010; 472–7. <https://doi.org/10.1021/ml100138q>
- Malik FI, Hartman JJ, Elias KA, et al. Cardiac myosin activation: a potential therapeutic approach for systolic heart failure. *Science* 2011; 331: 1439–43. <https://doi.org/10.1126/science.1200113>
- Shen Y-T, Malik FI, Zhao X, et al. Improvement of cardiac function by a cardiac Myosin activator in conscious dogs with systolic heart failure. *Circ Heart Fail* 2010; 3: 522–7. <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.930321>
- Fearnley CJ, Roderick HL, Bootman MD. Calcium signaling in cardiac myocytes. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2011; 3(11): a004242. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004242>
- Teerlink JR, Clarke CP, Saikali KG, Lee JH, Chen MM, Escandon RD, et al. Dose-dependent augmentation of cardiac systolic function with the selective cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil: a first-in-man study. *Lancet* 2011; 378: 667–75. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61219-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61219-1)
- Greenberg BH, Chou W, Saikali KG, et al. Safety and tolerability of omecamtiv mecarbil during exercise in patients with ischemic cardiomyopathy and angina. *JACC Heart Fail* 2015; 3: 22–9. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2014.07.009>
- Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJV, et al. Acute Treatment with Omecamtiv Mecarbil to Increase Contractility in Acute Heart Failure: The ATOMIC-AHF Study. *J Am Coll Cardiol* 2016; 67: 1444–55. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.01.031>
- Teerlink JR, Felker GM, McMurray JJ V, et al. Chronic Oral Study of Myosin Activation to Increase Contractility in Heart Failure (COSMIC-HF): a phase 2, pharmacokinetic, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2016; 388(10062): 2895–903. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32049-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32049-9)
- Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Omecamtiv Mecarbil in Chronic Heart Failure With Reduced Ejection Fraction: Rationale and Design of GALACTIC-HF. *JACC Heart Fail* 2020; 8: 329–40. <https://doi.org/10.1016/j.jchf.2019.12.001>
- Teerlink JR, Diaz R, Felker GM, et al. Effect of Ejection Fraction on Clinical Outcomes in Patients Treated With Omecamtiv Mecarbil in GALACTIC-HF. *J Am Coll Cardiol* 2021; 78: 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2021.04.065>
- Tamby JF, Fang L, Lickliter J, et al. MYK-491, a Novel Cardiac Myosin Activator, Increases Cardiac Contractility in Healthy Volunteers (Abstract 60668). *Eur J Heart Fail* 2019; 21: 423.
- Grillo MP, Markova S, Evanchik M, et al. Preclinical in vitro and in vivo pharmacokinetic properties of danicamtiv, a new targeted myosin activator for the treatment of dilated cardiomyopathy. *Xenobiotica*; the fate of foreign compounds in biological systems 2021; 51: 222–38. <https://doi.org/10.1080/00498254.2020.1839982>
- Shen S, Sewanan LR, Jacoby DL, et al. Danicamtiv Enhances Systolic Function and Frank-Starling Behavior at Minimal Diastolic Cost in Engineered Human Myocardium. *J Am Heart Assoc* 2021; 10: e020860. <https://doi.org/10.1161/JAHA.121.020860>
- Horváth B, Váczki K, Hegyi B, et al. Sarcolemmal Ca(2+)-entry through L-type Ca(2+) channels controls the profile of Ca(2+)-activated Cl(-) current in canine ventricular myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 2016; 97: 125–39. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2016.05.006>
- Hegyi B, Horváth B, Váczki K, et al. Ca(2+)-activated Cl(-) current is antiarrhythmic by reducing both spatial and temporal heterogeneity of cardiac repolarization. *J Mol Cell Cardiol* 2017; 109: 27–37. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2017.06.014>
- Andrei SR, Ghosh M, Sinharoy P, et al. TRPA1 ion channel stimulation enhances cardiomyocyte contractile function via a CaMKII-dependent pathway. *Channels* 2017; 11: 587–603. <https://doi.org/10.1080/19336950.2017.1365206>
- Zacchigna S, Paldino A, Falcão-Pires I, et al. Towards standardization of echocardiography for the evaluation of left ventricular function in adult rodents: a position paper of the ESC Working Group on Myocardial Function. *Cardiovasc Res* 2021; 117: 43–59. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa110>
- Moran C, Thomson A. Preclinical Ultrasound Imaging – A Review of Techniques and Imaging Applications. *Front Phys* 2020; 8: 124. <https://doi.org/10.3390/ijms24043812>
- Stokke TM, Hasselberg NE, Smedsrud MK, et al. Geometry as a Confounder When Assessing Ventricular Systolic Function: Comparison Between Ejection Fraction and Strain. *J Am Coll Cardiol* 2017; 70: 942–54. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2017.06.046>
- Beyhoff N, Brix S, Betz IR, et al. Application of Speckle; Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage. *J Am Soc Echocardiogr* 2017; 30: 1239; 1250. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2017.08.006>
- Hein SJ, Lehmann LH, Kossack M, et al. Advanced echocardiography in adult zebrafish reveals delayed recovery of heart function after myocardial cryoinjury. *PLoS one* 2015; 10(4): e0122665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122665>
- Beier N, Harting J, Jonas R, et al. The novel cardiotonic agent EMD 53 998 is a potent “calcium sensitizer”. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991; 18: 17–27. <https://doi.org/10.1097/00005344-199107000-00004>
- Ferroni C, Hano O, Ventura C, et al. A novel positive inotropic substance enhances contractility without increasing the Ca²⁺ transient in rat myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23(3): 325–31. [https://doi.org/10.1016/0022-2828\(91\)90068-w](https://doi.org/10.1016/0022-2828(91)90068-w)
- Olivetto I, Oreziak A, Barriales, et al. Mavacamten for treatment of symptomatic obstructive hypertrophic cardiomyopathy (EXPLO-RER-HCM): a randomised, double; blind, placebo; controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2020; 396: 759–69. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31792-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31792-X)
- Fülöp GA, Oláh A, Csipo T, et al. Omecamtiv mecarbil evokes diastolic dysfunction and leads to periodic electromechanical alternans. *Basic Res Cardiol* 2021; 116(1): 24. <https://doi.org/10.1007/s00395-021-00866-8>
- Cleland JGF, Teerlink JR, Senior R, et al. The effects of the cardiac myosin activator, omecamtiv mecarbil, on cardiac function in systolic heart failure: a double-blind, placebo; controlled, crossover, dose; ranging phase 2 trial. *Lancet* 2011; 378(9792): 676–83. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61126-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61126-4)