



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Development and use of biomarkers in clinical development of new therapies for chronic airway disease

Zuiker, Robertus Gerardus Johannes Antonius

Citation

Zuiker, R. G. J. A. (2016, April 6). *Development and use of biomarkers in clinical development of new therapies for chronic airway disease*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/38706>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/38706>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/38706> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Zuiker, Rob

Title: Development and use of biomarkers in clinical development of new therapies for chronic airway disease

Issue Date: 2016-04-06



SAMENVATTING

Dit proefschrift bestaat uit twee delen. Sectie 1 beschrijft de ontwikkeling van biomarkers voor chronische aandoeningen van de luchtwegen. Sectie 2 beschrijft de toepassing van biomarkers bij de ontwikkeling van mogelijk nieuwe geneesmiddelen tegen astma.

SECTIE I

DE ONTWIKKELING VAN BIOMARKERS IN ASTMA EN COPD

HOOFDSTUKKEN 2 & 3 Het uitlokken van een astma aanval bij proefpersonen door het geven van een allergeen (bijvoorbeeld graspollen) is een effectieve en veilige onderzoeksmethode om de werking van nieuwe middelen tegen astma te onderzoeken. Tijdens deze methode wordt veelal gekeken naar de effecten op de longfunctie, de gevoeligheid van de longen voor prikkelende stoffen en worden de ontstekingscellen in het sputum geanalyseerd. In *hoofdstuk 2* werd dit model verder uitgewerkt en werd onderzocht of het bepalen van een grote groep ontstekings-eiwitten ook gebruikt kan worden als uitkomstmaat. De studie toonde aan dat het aantal door TH2-cellen geproduceerde eiwitten toeneemt na het ondergaan van een uitgelokte astma aanval, en ook dat deze toename in veel gevallen reproduceerbaar is. Behandeling met fluticason heeft een duidelijk verminderend effect op deze toename van eiwitconcentratie. Deze resultaten kunnen goed gebruikt worden om de effecten van een nieuw te onderzoeken geneesmiddel tegen astma in kaart te brengen. *Hoofdstuk 3* beschrijft de RNA analyse op basis van dezelfde sputum monsters die in hoofdstuk 2 zijn beschreven. Er is nog maar weinig bekend van een dergelijke analyse in sputum afkomstig van patiënten met een uitgelokte astma aanval. Gevonden werd dat ook het RNA toeneemt na een astma aanval en dat deze resultaten reproduceerbaar zijn.

HOOFDSTUKKEN 4 & 5 Vaak worden in een klinisch onderzoek meerdere methoden gebruikt voor het verkrijgen van lichaamsmateriaal. De meeste van deze technieken zijn betrouwbaar en hebben hun waarde bewezen voor het gebruik in geneesmiddelen studies. Echter, gelijktijdig gebruik van twee of meerdere onderzoekstechnieken kan de uitkomst van de afzonderlijke technieken beïnvloeden. Twee methoden die frequent worden toegepast bij onderzoek naar nieuwe geneesmiddelen voor astma zijn sputum inductie met hypertoon zout en het bepalen van concentratie stikstofmonoxide in uitgeademde lucht. Met beide methoden kan de mate van ontsteking in de longen worden bepaald. In *hoofdstuk 4* wordt het effect van sputum inductie op de concentratie uitgeademde stikstofmonoxide bepaald bij een groep gezonde rokende en niet rokende mannen en vrouwen. Er werd vastgesteld

dat sputum inductie een verlaging geeft van de concentratie uitgeademde stikstofmonoxide. Er zijn meerdere verklaringen mogelijk voor deze interactie. Allereerst is bekend dat meerdere opeenvolgende spirometrie metingen, die uitgevoerd worden bij sputum inductie, de stikstofmonoxide concentraties in uitgeademde lucht verlagen. Daarnaast zou het ophopen van slijm in de longen, als gevolg van de sputum inductie procedure, de diffusie van stikstofmonoxide beperken. Verder is bekend dat de hypertoon zoutoplossing een osmotische verandering teweeg kan brengen waardoor mogelijk de productie van stikstofmonoxide afneemt. Om deze interactie te vermijden verdient het aanbeveling om het bepalen van de stikstofmonoxide concentratie uit te voeren voorafgaand aan de sputum inductie.

Belangrijkste kenmerken van een biomarker zijn betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid. Dat wil zeggen dat als het onderzoek onder dezelfde omstandigheden meerdere malen wordt uitgevoerd, de waarde van de biomarkers steeds hetzelfde blijft. Op basis van dezelfde studie als beschreven in *hoofdstuk 4* werd de reproduceerbaarheid van de concentratie markers in geïnduceerd sputum en serum onderzocht in een groep chronische rokers en een groep niet-rokers. De concentraties van de markers werden bepaald met een ELISA techniek. De resultaten van het onderzoek staan beschreven in *hoofdstuk 5*. Hoewel hogere concentraties in chronische rokers werden gevonden van IL-8 in sputum en Surfactant Pulmonary Associated Protein D (SP-D) in serum, bleek dat uit een set van markers alleen SP-D voldeed aan de vooraf bepaalde criteria voor reproduceerbaarheid.

SECTIE 2

KLINISCHE STUDIES IN GEZONDE VRIJWILLIGERS, PATIËNTEN MET ALLERGISCH ASTMA EN RHINITIS, MET GEBRUIK VAN BIOMARKERS

HOOFDSTUKKEN 6 & 7 In het tweede deel van dit proefschrift ligt de nadruk op allergisch astma en de klinische ontwikkeling van een nieuw anti-astma geneesmiddel (RPL554) waarbij gebruikt wordt gemaakt van biomarkers. Astma en chronisch obstructief longlijden (COPD) worden veelal behandeld met een combinatie van luchtwegverwijders en ontstekingsremmende geneesmiddelen. Een geneesmiddel dat tegelijkertijd luchtwegverwijding kan geven en ontstekingsremmend is, zou dus een aanvulling zijn op de bestaande behandelmogelijkheden. Fosfodiesterasen (PDE's) is een groep enzymen die wordt onderverdeeld in 11 subgroepen. Het gemeenschappelijk kenmerk van deze enzymen is dat ze concentratie cAMP in de cel verhogen door het remmen van de afbraak. Hogere concentraties cAMP leiden tot

verslapping van de gladde spieren in de long en tot ontstekingsremming. Binnen de groep PDE-remmers zorgen PDE3 remmers voor een verhoging van CAMP, wat leidt tot verwijding van luchtwegen waardoor het uitgeblazen volume in de eerste seconde van de longtest (FEV₁) bij patiënten met astma toeneemt. Remmers van het iso-enzym PDE4 zorgen voor verminderde werking van een groot aantal ontstekingscellen en hebben een duidelijk ontstekingsremmend effect in patiënten met COPD. Experimenteel onderzoek heeft aangetoond dat een combinatie van PDE3 en PDE4 remming leidt tot synergie; het effect op de luchtwegen is groter dan de som van beide afzonderlijke effecten. RPL554 is een middel dat zowel PDE3 als PDE4 remt.

In *hoofdstuk 6* wordt beschreven hoe de verdraagbaarheid en effectiviteit van RPL554 over een brede reeks (0,03 tot 0,072 MG/KG) doseringen wordt onderzocht in een geneesmiddelenstudie. Zowel de bronchusverwijdende als de ontstekingsremmende effecten werden voor de eerste keer in mensen onderzocht. Het onderzoek werd opgedeeld in 3 deelonderzoeken, waarbij eerst opklimmende eenmalige doseringen van RPL554 werden gegeven aan gezonde vrijwilligers en patiënten met allergisch astma (1^e deel), waarna een vaste dosering werd onderzocht in een groep patiënten met allergisch astma en allergisch rhinitis (2^e en 3^e deel).

De onderzoeksresultaten lieten zien dat RPL554 over het algemeen goed werd verdragen. De bijwerkingen waren mild en de frequentie was te vergelijken met die van de placebo groep. In patiënten met astma zorgde een dosis van 0,018 MG/KG RPL554 tijdens de PC20 methacholine test voor een toename van 1,5 verdubbelde dosis. Verder bleek dat doseringen tussen 0.009 en 0.072 MG/KG een aanhoudende luchtwegverwijding gaven met een gemiddelde toename in FEV₁ op 1 uur na doseren van 520 mL. Dit laatstgenoemde effect is vergelijkbaar met het effect van de veel gebruikte β -agonist salbutamol. In de groep patiënten met allergische rhinitis werd ook een aanzienlijk bronchusverwijdend effect gemeten en waren er aanwijzingen voor een anti-inflammatoir effect. Het laatstgenoemde effect bereikte geen statistisch significantie, maar de observatie dat de toename in eosinofielen na een nasale allergen challenge 7,1% lager was na RPL554 in vergelijking met placebo, suggereert dat RPL ook ontstekingsprojecten kan onderdrukken.

In een vervolgstudie, beschreven in *hoofdstuk 7*, werd onderzocht of de luchtwegverwijdende effecten ook aanhouden als patiënten met allergisch astma gedurende 6 achtereenvolgende dagen RPL554 gebruiken. Met dit onderzoek, dat werd uitgevoerd in 12 patiënten met astma, konden we laten zien dat RPL554 een aanhoudend luchtwegverwijdend effect gaf en dat het effect vergelijkbaar was met de effecten die optreden na een enkele dosering; een gemiddelde maximale toename in FEV₁ op dag 1 van 555 mL, op dag 3 van 505 mL en op dag 6 van 485 mL. Het lijkt er dus op dat RPL554 geen acute tolerantie laat zien bij langduriger gebruik.

SAMENVATTING Dit proefschrift beschrijft het onderzoek naar nieuwe pathofysiologisch gebaseerde biomarkers voor chronische luchtweg aandoeningen met behulp van nieuwe detectie technieken. Een dergelijke aanpak lijkt geslaagd. Verder laat het proefschrift het gebruik van biomarkers zien bij de effectieve ontwikkeling van nieuwe therapieën voor chronische luchtweg aandoeningen.