



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Beyond relief : biomarkers of the anti-inflammatory effect and dose selection of COX inhibitors in early drug development**

Huntjens, D.R.H.

### **Citation**

Huntjens, D. R. H. (2008, November 18). *Beyond relief : biomarkers of the anti-inflammatory effect and dose selection of COX inhibitors in early drug development*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/13263>

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/1887/13263>

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

# *Chapter 12*

**Samenvatting in het nederlands**

## INLEIDING EN ACHTERGROND

### PIJN

Weinig belevingen zijn zo angstaanjagend voor een individu als pijn. Pijn heeft sterke psychologische en emotionele componenten, zoals ook wordt aangegeven door de International Association for the Study of Pain (IASP). Deze organisatie heeft pijn gedefinieerd als een onplezierige sensorische en emotionele gewaarwording die geassocieerd wordt met feitelijke of mogelijke weefsel schade en die wordt beschreven in termen van zulke schade. Hieruit blijkt dat de beoordeling van pijnvermindering na toediening van een geneesmiddel meer omvat dan alleen de elementen op het causale pad van de pijnperceptie; het omvat ook praktisch gerelateerde en andere indirecte aspecten.

### COX-REMMERS

COX-remmers zijn effectieve ontstekingsremmende, koortsverlagende en pijnstillende geneesmiddelen die worden gebruikt bij o.m. de behandeling van acute en chronische pijn, reumatoïde artritis en osteoarthritis. Door hun effect op het enzym cyclo-oxygenase remmen zij de aanmaak van pro-inflammatoire mediators zoals prostaglandinen en tromboxanen.

Voor COX-remmers worden vaak geen duidelijke relaties gevonden tussen plasmaconcentraties en het pijnstillende effect. Dat wordt veroorzaakt door de complexe mechanismen die een rol spelen bij de perceptie van pijn. Een andere oorzaak is het gebruik van betrekkelijk complexe eindpunten bij het vaststellen van het pijnstillende effect. Het ontbreken van duidelijke relaties tussen plasmaconcentratie en effect bemoeilijkt het vaststellen van de optimale dosering in klinische trials. Dit is een groot probleem voor de ontwikkeling van nieuwe pijnstillende farmaca.

### BIOMARKERS

Wanneer in pre-klinische of klinische studies het effect moeilijk te kwantificeren is en er tevens sprake is van een grote mate van variabiliteit, zoals het geval is bij het meten van pijnstilling, kan een biomarker een bruikbaar hulpmiddel zijn. Een biomarker wordt gedefinieerd als een meting die, op een strikt kwantitatieve manier, een proces beschrijft dat op de causale weg ligt tussen de toediening van een geneesmiddel en het effect. De identificatie van specifieke biomarkers om variabiliteit in de pijnstilling te verklaren kan een essentiële factor zijn in het kiezen van de optimale dosering. Het gebruik van een biomarker vormt daarbij een schakel in de relatie tussen de blootstelling (bv. de plasmaconcentratie) en het effect, zowel voor wat betreft het gewenste therapeutische effect als de ongewenste bijwerkingen. Samen met een model-gestuurde aanpak (gemengde effecten modelleringsaanpak), kan dit een basis zijn voor het voorspellen van de werkzaamheid en veiligheid bij de mens.

Een belangrijke vraag is of op basis van de effecten op biomarkers het vaststellen van de optimale klinische dosis van COX-remmers kan worden verbeterd. In dit verband is van belang dat er voor COX-remmers geschikte biomarkers beschikbaar zijn die rechtstreeks zijn gerelateerd aan het werkingsmechanisme: de effecten op de productie van de ontstekingsmediators PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub>.

## DOEL EN OVERZICHT VAN HET ONDERZOEK IN DIT PROEFSCHRIFT

Dit proefschrift heeft betrekking op de relaties tussen farmacokinetiek en farmacodynamiek van selectieve en niet selectieve COX-remmers bij de behandeling van ontstekingspijn. Het uiteindelijke doel is de voorspelling van de pijnstillende effecten van COX-remmers bij de mens op basis van gegevens uit pre-klinische *in vitro* studies en *in vivo* studies in proefdieren.

De hoofddoelstellingen van het onderzoek zijn:

1. het vergelijken van de concentratie-werkingsrelaties van selectieve en niet selectieve COX-remmers voor de effecten op PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> *in vitro* in zowel bloed van ratten als in bloed van de mens.
2. het vergelijken van de concentratie-werkingsrelaties van selectieve en niet selectieve COX-remmers bij de rat *in vivo* en *in vitro* zowel voor PGE<sub>2</sub> als TXB<sub>2</sub>
3. het karakteriseren van de invloed van chronische ontsteking op de concentratie-werkingsrelaties van COX-remmers voor de effecten op biomarkers
4. Het onderzoeken van de relatie tussen de effecten van selectieve en niet-selectieve COX-remmers op biomarkers en het pijnstillende effect bij proefdieren.

In het onderzoek werd gekozen voor 4 verschillende COX-remmers als modelstoffen: naproxen en diclofenac als prototypes van niet selectief werkende COX-remmers met een snel omkeerbare binding en een tijdsafhankelijke (trage) binding aan COX, en ketorolac en refocoxib als prototypes van stoffen met een selectieve binding aan COX-1 en COX-2.

## PK-PD RELATIES EN BIOMARKERS IN DE ONTWIKKELING VAN COX-REMMERS VOOR DE BEHANDELING VAN ONTSTEKINGSPIJN

In **hoofdstuk 3** wordt een overzicht gegeven van de technieken die worden gebruikt bij de bestudering van de effecten van COX-remmers op biomarkers *in vitro* en *in vivo*. Bovendien werd de relatie tussen de mate van PGE<sub>2</sub> remming en het analgetisch effect bij de mens bestudeerd. Daartoe werd van 22 COX-remmers de concentratie-werkingsrelatie voor remming van PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> in humaan bloed *in vitro* bepaald. Deze uitkomsten werden vergeleken met informatie over de het pijnstillende effect uit de literatuur. Deze analyse bracht aan het licht dat het pijnstillende effect van zowel selectieve als niet selectieve COX-remmers globaal gerelateerd is aan de concentratie waarbij 80% remming van de productie van PGE<sub>2</sub> *in vitro* wordt bereikt (IC<sub>80</sub>).

## PK-PD MODELLERING VAN DE BIOMARKERS

**Hoofdstuk 4** heeft betrekking op de PK-PD effecten van naproxen op PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> remming bij de rat en gezonde vrijwilliger *in vitro* en *in vivo*. Omdat er sprake is van een snel omkeerbare binding van naproxen aan COX werden de effecten op PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> rechtstreeks gerelateerd aan de bloedconcentratie op basis van het sigmoidale E<sub>max</sub> model. Bij de rat werden vergelijkbare concentratie werkingsrelaties voor de remming van PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> *in vitro* en *in vivo* gevonden. Bovendien waren de *in vitro* concentratie werkingsrelaties bij de rat nagenoeg identiek aan die bij de

mens voor zowel PGE<sub>2</sub> als TXB<sub>2</sub>. Tenslotte was de waarde van de IC<sub>80</sub> voor remming van PGE<sub>2</sub> vrijwel gelijk aan die voor TXB<sub>2</sub>. Dit bevestigt dat naproxen een niet-selectieve COX-remmer is. Op grond van deze bevindingen kan worden geconcludeerd dat in de rat de *in vivo* concentratie-werkings relatie van naproxen voor remming van zowel PGE<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> kan worden voorspeld op basis van *in vitro* tests.

**Hoofdstuk 5** heeft betrekking op de verschillende farmacokinetische modellen die ontwikkeld zijn voor het concentratie-tijdsverloop van rofecoxib en diclofenac. Dat is belangrijk voor onderzoek naar de PK-PD correlaties van deze stoffen, omdat zij in tegenstelling tot naproxen een tijdsafhankelijke (trage) binding aan COX hebben. Bovendien is er, mede als gevolg van een enterohepatische kringloop, sprake van complexe plasma concentratie versus tijd profielen. De farmacokinetiek van diclofenac en de metabooliet 4-hydroxydiclofenac werd beschreven in een model met een periodieke omzettingssnelheid voor het heropname proces. Volgens dit model, is de mate van recirculeren onafhankelijk van de wijze van geneesmiddel toediening en de dosering. Het model met de periodieke omzettingssnelheid was niet geschikt om de EHC na toediening van rofecoxib te beschrijven. Rofecoxib liet hoge variabiliteit zien in de plasmaconcentratie-tijd profielen. Daarom werd een model ontwikkeld met een omzettingscompartiment, dat volgens een 1<sup>e</sup>-orde proces met een vertraging de EHC kon beschrijven. Vervolgens werd de invloed van EHC op het verloop de remming van PGE<sub>2</sub> met behulp van simulaties onderzocht. Deze simulaties lieten zien dat EHC zorgt voor een langere remming van PGE<sub>2</sub> over de tijd in vergelijking met de situatie waarin geen recirculatie optreedt. Hiermee werd aangetoond dat de beschrijving van de EHC, essentieel is voor het karakteriseren en voorspellen van effecten van COX-remmers op biomarkers *in vivo*.

Het onderzoek dat wordt beschreven in **hoofdstuk 6** heeft betrekking op de translationele farmacologie van verschillende COX-remmers voor de remming van PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub>. De effecten *in vitro* en *in vivo* in de rat en in de mens werden onderzocht voor drie COX-remmers rofecoxib, diclofenac en ketorolac. Deze stoffen werden gekozen omdat zij verschillen in zowel hun selectiviteit voor de binding aan COX-1 en COX-2 als in de snelheid van de binding aan COX. Als maat voor het effect op PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> werd gekozen voor de IC<sub>80</sub>. De *in vitro* IC<sub>80</sub> waarden in de rat zijn vergelijkbaar met de *in vitro* IC<sub>80</sub> in de mens. De analyse van de *in vitro-in vivo* correlatie in de rat voor de remming van PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> laat zien dat het, in tegenstelling tot naproxen, voor deze stoffen moeilijk is om op basis van *in vitro* gegevens de *in vivo* IC<sub>80</sub> te voorspellen. Daarentegen liet de analyse van de *in vitro-in vivo* correlatie in de mens voor de remming van PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> zien dat het wel mogelijk is om de *in vitro* data direct te correleren met de *in vivo* data. Op grond van deze bevindingen kan worden geconcludeerd dat de *in vivo* concentratie-werkings relatie van COX-remmers voor remming van zowel PGE<sub>2</sub> and TXB<sub>2</sub> het beste voorspeld kan worden op basis van *in vitro* tests in humaan bloed. In pre-klinische studies in de rat zal het effect van COX-remmers op de biomarkers PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> op basis van *in vivo* gegevens moeten worden bepaald.

In **hoofdstuk 7** werd de invloed van chronische ontsteking op de PK-PD relatie van naproxen

onderzocht in het "Freund Adjuvant Arthritis" (FCA) model in de rat. Het effect van naproxen op de biomarkers PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> werd bepaald na eenmalige toediening op dag 7 of dag 21 na inductie van de chronische ontsteking. Daarnaast werd naproxen herhaald (1x per dag) toegediend gedurende 2 weken om het effect van chronische behandeling op de biomarkers te onderzoeken. De farmacokinetiek van naproxen was nauwelijks veranderd onder invloed van de chronische ontsteking en na het herhaald toedienen van naproxen. Bovendien was de waarde van de IC<sub>80</sub> voor de remming van PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> nauwelijks veranderd. Omdat de concentratie-werkingsrelatie voor PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> na herhaald toedienen van naproxen in vergelijking met een eenmalige dosering onveranderd was, kan er worden geconcludeerd van tolerantie optreedt voor het effect van naproxen op de biomarkers. Bovendien was er geen effect op de ziekteprogressie omdat de IC<sub>80</sub> voor naproxen op dag 7 en dag 21 gelijk was. Wel was de variabiliteit van PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> over de tijd toegenomen.

#### PK-PD MODELLERING VAN DE PIJNSTILLING

In translationeel geneesmiddel onderzoek is de keuze van het diermodel een kritische factor. Een belangrijk criterium in dit verband is de voorspellende waarde van PK-PD correlaties in proefdieren voor de mens. Een cruciaal punt is daarbij de keuze van een farmacodynamische eindpunt dat vergelijkbare informatie in proefdieren en in de mens oplevert. Voorts is de schaling van de waarden van farmacokinetische en farmacodynamische parameters is een essentiële factor.

In **hoofdstuk 8** wordt het pijnstillende effect van de vier verschillende COX-remmers, naproxen, diclofenac, ketorolac en rofecoxib, in het FCA model onderzocht in samenhang met de effecten op de biomarkers PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> tijdens en na chronische toediening gedurende 4 weken. De mate van pijnstilling werd bepaald op basis van drie verschillende eindpunten: a) de gewichtsdragende capaciteit, b) de dynamische voetzool test, en c) de voetdrukdrempel. Deze gedragsmetingen zijn een goede maat voor de effecten van de COX-remmers op respectievelijk, statische allodynie (allodynie = het verschijnsel dat niet pijnlijke prikkels als pijnlijk worden ervaren), dynamische allodynie en hyperalgesie. De modelstoffen werden gedurende 2 weken vanaf dag 7 na de inductie van de chronische ontsteking, 2-maal per dag toegediend. Daarnaast werd rofecoxib ook profylactisch toegediend om de effecten op het ontstaan van de chronische ontsteking te bestuderen. In de dieren die behandeld werden met placebo was de mate van hyperalgesie constant over de tijd gedurende vier weken. De allodynie daarentegen verdween geleidelijk over de tijd. Alle COX-remmers lieten een significant effect op de hyperalgesie zien, met een duidelijke dosis-afhankelijke respons na toediening van naproxen en rofecoxib. Geen enkele COX-remmer liet een effect zijn op de statische allodynie. Voorts werden er geen verschillen gevonden in de mate van pijnstilling na een eenmalige dosering een week na de inductie van de ontsteking of na 2 weken tweemaal daags doseren. Deze resultaten laten zien dat COX-remmers geen veranderingen in de ziekteprogressie kunnen brengen, noch dat er sprake is van tolerantie ontwikkeling voor het pijnstillende effect.

In **hoofdstuk 9** werd de relatie tussen de farmacokinetiek, de effecten op de biomarkers PGE<sub>2</sub> en TBX<sub>2</sub> en het pijnstillende effect, zoals gemeten met de voetdruk drempel, onderzocht met behulp van

verschillende populatie PK-PD modellen. De analyse van de relatie tussen biomarker en pijnstilling werd op twee verschillende manieren geanalyseerd. In eerste instantie werd logistische regressie toegepast om de veranderingen in de pijndrempel als discrete variabele te beschrijven. Deze analyse liet een tijdsafhankelijke relatie tussen het effect op biomarker PGE<sub>2</sub> en het pijnstillende effect zien. Alleen in de eerste 3 uur na de toediening van de verschillende COX-remmers werd een duidelijke relatie gevonden tussen de waarde van de biomarker PGE<sub>2</sub> en het pijnstillende effect. Biomarker waarden op de latere tijdstippen na toediening waren niet meer gecorreleerd aan het pijnstillende effect. Verder lieten onze resultaten zien dat de remming van TXB<sub>2</sub> niet gecorreleerd is met pijnstilling.

Het ontbreken van een duidelijke relatie tussen het effect op de biomarker PGE<sub>2</sub> en het pijnstillende effect na chronische toediening kan waarschijnlijk worden verklaard door het optreden van adaptatie in het biologische systeem *in vivo*. Het is bekend dat het remmen van COX, door bijvoorbeeld COX-remmers, de vorming van andere stoffen, welke verantwoordelijk zijn voor een langdurige pijn signalering, zoals leukotriënen (LTs), stimuleert. Om die reden werd als volgende stap een mechanistisch PK-PD model voorgesteld waarin fysiologische adaptatie wordt beschreven. Een interessant resultaat uit deze mechanistische analyse was dat de parameters die het tegenregelmechanisme beschrijven, significant aanwezig waren voor naproxen en ketorolac maar nauwelijks aanwezig voor rofecoxib. Deze bevindingen suggereren dat selectiviteit van COX de mate van het effect kan bepalen maar niet de duur van het pijnstillend effect.

## HET VOORSPELLEN VAN DE OPTIMALE DOSERING BIJ DE MENS

**Hoofdstuk 10** heeft betrekking op de PK-PD effecten van fenoprofen op PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub> remming in het bloed *in vitro* en *in vivo* in de rat en in de mens. Naast de *in vitro* en *in vivo* experimenten in de rat, werd fenoprofen onderzocht na orale toediening in gezonde vrijwilligers en in patiënten met systemische lupus erythematosus (SLE). De concentratie-werkingsrelatie voor fenoprofen *in vitro* en *in vivo* in het proefdier en in de mens bleek vergelijkbaar te zijn voor de remming van PGE<sub>2</sub>, terwijl er grotere verschillen werden gevonden voor de remming van TXB<sub>2</sub> in de rat en in de mens. Een interessante waarneming was dat de potentie van fenoprofen (op basis van de IC<sub>80</sub>) *in vivo* voor de remming van TXB<sub>2</sub> tweemaal hoger was in SLE patiënten in vergelijking met gezonde vrijwilligers terwijl de potentie vergelijkbaar was voor de remming van PGE<sub>2</sub>. Het schalen van de biomarker effecten van de rat naar mens is dus mogelijk voor fenoprofen voor de remming van PGE<sub>2</sub> *in vitro* en *in vivo* maar niet voor de effecten op de remming van TXB<sub>2</sub>. Vervolgens werd met de ontwikkelde PK-PD modellen simulaties uitgevoerd om te onderzoeken welke soort modellen, in de mens of in de rat, *in vitro* of *in vivo*, het beste de dosering in SLE patiënten kon voorspellen. Onze resultaten laten zien dat het model voor de remming van PGE<sub>2</sub> *in vitro* in de mens de beste basis vormt voor het voorspellen van de optimale dosering in patiënten.

## SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Samenvattend kan worden gesteld dat er PK-PD modellen zijn ontwikkeld voor het voorspellen van de concentratie-werkingsrelatie van COX-remmers voor zowel PGE<sub>2</sub> en TXB<sub>2</sub>. Tevens is de relatie tussen de effecten van selectieve en niet-selectieve COX-remmers op biomarkers en het pijnstillende effect bij proefdieren onderzocht. Hieruit kan worden geconcludeerd dat de ontwikkeling van nieuwe pijnstillers dient te worden gebaseerd op de response van de biomarker in plaats van de pijnstillende effecten in de proefdieren. PK-PD modellering van *in vitro* data in de mens kan worden gebruikt om de dosering in de mens te voorspellen.

We kunnen concluderen dat een mechanistische analyse noodzakelijk is om de relatie tussen farmacokinetiek, biomarkers en pijnstilling te beschrijven. Verder laten analyses dat de huidige diermodellen construct validiteit missen, omdat selectiviteit voor COX en de zogenaamde "downstream" effecten op de COX remming de geneesmiddel werking in de mens niet kan weerspiegelen. Het is tevens duidelijk dat selectiviteit voor COX een determinant kan zijn voor de mate van PGE<sub>2</sub> remming, maar het de duur van het effect, zoals aangetoond voor stoffen met verschillende mate van selectiviteit niet kan verklaren. Het enkel en alleen meten van gedrag in pijn modellen is van beperkte betekenis omdat daarbij geen rekening wordt gehouden met de verschillen in de farmacologie van de COX-remmers, terwijl dit de respons en de bijwerkingen aanstuurt. Het gebruik van biomarkers in de mens is daarom essentieel als basis voor kiezen van de optimale dosering van COX-remmers in klinische trials. Alhoewel ons onderzoek zich vooral heeft gericht op het voorspellen van de optimale dosering voor het pijnstillende effect kan tevens worden geconcludeerd dat een modelmatige aanpak een geïntegreerde evaluatie van meerdere eindpunten mogelijk maakt, en een sterkere basis voor doseringskeuze en betere bepaling van de balans tussen risico (bijwerkingen) en winst (effectiviteit) kan zijn.