



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Experimental pain models for the evaluation of next-generation analgesics in clinical pharmacology studies**

Hijma, H.J.

### **Citation**

Hijma, H. J. (2022, November 2). *Experimental pain models for the evaluation of next-generation analgesics in clinical pharmacology studies*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3485147>

Version: 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/1887/3485147>

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

## NEDERLANDSE SAMENVATTING

De ontwikkeling van innovatieve geneesmiddelen is in recente jaren sterk geëvolueerd. [1] Aanvankelijk was de ontdekking van medicijnen gebaseerd op basale kennis van kruiden; zo is aspirine bijvoorbeeld geformuleerd uit wilgenbast. Vandaag de dag combineren farmaceutische en biotechnologische bedrijven echter technologisch geavanceerde methodologieën met toegenomen kennis van biologische doelwitten ('targets') om nieuwe geneesmiddelen te ontwikkelen die vaak zeer selectief op een of enkele doelwit(ten) aangrijpen. Het zijn medicijnen die behandelingen naar een nieuw niveau tillen. In dit proefschrift zijn ze daarom aangeduid als 'next-generation': een nieuwe generatie van – in geval van dit proefschrift – pijnstillers; analgetica. Het is de verwachting dat deze nieuwe middelen, wanneer ze gebruikt zullen worden, meer therapeutisch effect en minder (dosisbeperkende) bijwerkingen zullen hebben dan de analgetica die momenteel voorgeschreven worden.

Door de verhoogde selectiviteit en nieuwe doelwitten waar deze nieuwe analgetica op aangrijpen, moeten klinische ontwikkelingsstrategieën ook worden herzien. Biologische processen variëren sterk tussen (dier)soorten; dit is niet anders in het geval van pijn, en pijnsignalering. Een voorbeeld dat direct relateert aan dit proefschrift is het verschil in aanwezigheid van spanningsafhankelijke natriumkanalen ( $\text{Na}_v$ -kanalen) tussen diersoorten.  $\text{Na}_v$ -kanalen zijn een soort poriën die, onder andere, op sensorische neuronen ('gevoelszenuwen') aanwezig zijn. Door open en dicht te gaan onder invloed van bepaalde factoren, spelen  $\text{Na}_v$ -kanalen een belangrijke rol in het doorgeven van pijnsignalen naar de hersenen. Analgetica die ingrijpen op het blokkeren van deze kanalen worden  $\text{Na}_v$ -blokkers genoemd. Subtypes van  $\text{Na}_v$ -kanalen, zoals  $\text{Na}_v1.8$  en  $\text{Na}_v1.9$ , zijn bij mensen op sensibele zenuwen meer aanwezig dan bij muizen. [2] Ondanks dat diermodellen een essentieel hulpmiddel blijven bij het testen en veilig ontwikkelen van geneesmiddelen, impliceert dit verschil in aanwezigheid van  $\text{Na}_v$ -kanalen dat diermodellen dikwijls niet in staat zijn om de volledige aard van de therapeutische effecten van een (nieuw) geneesmiddel nauwkeurig te voorspellen. [3] Bovendien nemen de kosten van klinische onderzoeken steeds verder toe. [4]

Door in vroeg-klinisch onderzoek (fase I/II-A) met nieuw te testen analgetica gebruik te maken van biomarkers die (veranderingen in) pijnsignalering kunnen aantonen, is het mogelijk om belangrijke resultaten over

(dosisafhankelijke) effecten te generen. Biomarkers kunnen de eerste signalen van effectiviteit van een onderzoeksmiddel detecteren, en kostenbesparend werken door al aspecten van het onderzoeksmiddel te testen die anders in duurder, laat-fase onderzoek (fase II-B/III) nog moeten worden getest. Het werken met biomarkers kent echter ook uitdagingen. Net zoals bij preklinische modellen, staan ook biomarkers in mensen slechts model voor klinisch relevante eindpunten. Daarnaast hebben biomarkers vaak slechts betrekking op een specifiek aspect van een bepaalde (pijn) pathologie. Een andere uitdaging is dat veel nieuwe geneesmiddelen in toenemende mate selectief zijn en op nieuwe doelwitten aangrijpen. De daaruit voortvloeiende effecten in de mens, en/of klinische relevantie van die effecten, zijn dikwijls nog niet duidelijk aangetoond. Eerder gevalideerde methodologie moet daarom opnieuw worden doorgelicht op hun validiteit om Proof-of-Mechanism of Proof-of-Concept (POM, POC) van zulke nieuwe geneesmiddelklassen vast te kunnen stellen. In dit proefschrift definieerden we POM als bewijs dat het analgeticum op de beoogde locatie in het lichaam zijn beoogde farmacologische effect heeft. POC werd als term gebruikt voor aangetoonde analgetische effecten in patiënten, of op experimentele modellen in gezonde vrijwilligers (**Hoofdstuk 1**).

Naast het opnieuw beoordelen van de validiteit van huidige modellen, vereist de verhoogde selectiviteit van geneesmiddelen in sommige gevallen verdere verfijning van (humane) experimentele modellen. Dit is nodig om adequaat het aspect van de ziekte of het symptoom na te kunnen bootsen waar het geneesmiddel selectief op zou moeten aangrijpen. Op basis van deze punten werden de studies die in dit proefschrift staan beschreven, uitgevoerd. Deze thesis is daarom tweeledig. Enerzijds beschrijft het een zoektocht naar adequate biomarkers voor het aantonen van de effectiviteit van (selectieve)  $\text{Na}_v$ -blokkers, – een van de meest geteste analgeticum klassen in vroege fase geneesmiddelonderzoek (**Hoofdstuk 1**). Anderzijds beschrijft het verfijning en verder ontwikkeling van experimentele modellen als biomarkers.

In **Hoofdstuk 1** definieerden we dat een goede (analgetische) biomarker in staat moet zijn om in meerdere onderzoeken een duidelijke, consistente respons van (genees)middelen aan te kunnen tonen. Deze respons moet daarnaast vergelijkbaar zijn voor verschillende (genees)middelen binnen dezelfde klasse. [5] We maakten daarbij gebruik van de PainCart, een gevalideerde nociceptieve testbatterij van het Centre For Human Drug Research (CHDR). [6] Nociceptie is het vermogen om weefselbeschadiging

of dreigende weefselbeschadiging waar te nemen; nociceptoren zijn zenuwuiteinden die signalen van beschadigd weefsel detecteren. De testen die onderdeel zijn van de PainCart induceren elk selectief druk-, elektrische-, hitte of koude pijn. Collectief zijn ze in staat om specifieke (veranderingen in) nociceptie aan te tonen. De PainCart testbatterij werd uitgevoerd in combinatie met het eerder ontwikkelde topicale 1% capsaiïne crème-model (**Hoofdstuk 2,3**) of eerder ontwikkelde ultraviolet (UV) B-model (**Hoofdstuk 4**). Het capsaiïne crème-model maakt gebruik van de irriterende effecten van het actieve ingrediënt van hete pepers: capsaiïne. Met het UVB model werd op een stukje huid op de rug een soort zonnebrand nagebootst en lokale ontsteking geïnduceerd. Veranderingen op pijndrempels bij de koude pijntest (cold pressor test) bleek de meest reproduceerbare biomarker te zijn, door gevoelig te zijn voor analgetische effecten van drie  $Na_V$ -blokkers (VX-128, VX-150 en mexiletine). In **Hoofdstuk 1** suggereerden we dat, naast veranderingen op de cold pressor test, beïnvloeding van het capsaiïne-model mogelijk ook een adequate biomarker voor het aantonen van  $Na_V$ -blokker effecten zou kunnen zijn. Het capsaiïne crème-model bleek echter niet gevoelig voor de geteste selectieve  $Na_V1.8$ -blokkers (VX-128 en VX-150; respectievelijk **Hoofdstuk 2, 3**). Mogelijk is het capsaiïne model beter in staat om effecten van  $Na_V$ -blokkers die op andere doelwitten aangrijpen, zoals  $Na_V1.7$ , aan te tonen. Er kan echter ook worden geconcludeerd dat dit topicale 1% capsaiïne crème-model suboptimaal is voor het bestuderen van analgetica, omdat het ook geen effecten van tramadol of duloxetine kon aantonen. [7] Dit gaf ons reden om het onderzoek uit te voeren wat in **Hoofdstuk 8** beschreven staat.

Een farmacologische biomarker moet behalve consistent ook duidelijk (en indien van toepassing, dosisafhankelijk) reageren op therapeutische dosisniveaus van (genees)middelen. [5] In **Hoofdstuk 4** merkten we op dat  $Na_V$ -blokker mexiletine, maar niet lacosamide, pijndrempels bij de cold pressor test significant beïnvloedde. Op basis van de differentiërende kenmerken van mexiletine en lacosamide – respectievelijk preferentiële modulatie van  $Na_V1.8$  versus  $Na_V1.7$  – concludeerden we dat het bij het selecteren van de juiste biomarker belangrijk is op welk  $Na_V$ -subtype het te testen analgeticum preferentieel aangrijpt. Op basis van de resultaten uit **Hoofdstukken 2, 3** en **4** ondersteunt dit proefschrift het gebruik van pijndrempels gemeten met de cold pressor test als biomarker voor  $Na_V1.8$ -geïnduceerde analgesie. De effecten (of het ontbreken daarvan) van lacosamide op nociceptieve drempels leveren bewijs dat de gebruikte modellen

mogelijk niet optimaal zijn voor het testen van analgetica die preferentieel op  $Na_V1.7$  aangrijpen, een conclusie die in lijn is met eerder onderzoek. [7,8] De rol van  $Na_V1.7$  in pijnsignalering werd ten tijde van ontdekking in 2006 als een grote doorbraak beschouwd. De potentie van deze doorbraak hebben  $Na_V1.7$ -blokkers echter nog niet waargemaakt; ondanks meerdere pogingen zijn er (nog) geen  $Na_V1.7$ -selectieve blokkers die geregistreerd hebben kunnen worden. [9] Totdat aangetoond effectieve  $Na_V1.7$ -blokkers beschikbaar komen om biomarkers mee te valideren, blijft het moeilijk om ondubbelzinnige conclusies te trekken over de toepasbaarheid van momenteel beschikbare biomarkers voor middelen die  $Na_V1.7$  als hoofd-doelwit hebben. Het zou kunnen zijn dat andere methoden, zoals de ‘nerve excitability threshold trackingtest’, geschikter zijn, omdat dat model wel POM van lacosamide kon aantonen. [10]

Met de resultaten uit **Hoofdstukken 2, 3** en **4** kon ook worden vastgesteld dat er nog voldoende ruimte is voor het verfijnen van biomarkers voor het profileren van (selectieve)  $Na_V$ -blokkers in vroege-fase geneesmiddelenonderzoek. Zoals in **Hoofdstuk 1** vermeld, moet een geschikte biomarker een op z'n minst plausibele relatie hebben met de farmacologie van de geteste geneesmiddelklasse, en met de pathofysiologie van de ziekte. Een belangrijk aspect bij veel soorten chronische pijn, zoals fibromyalgie en neuropathische pijnsyndromen is centrale sensitisatie; wat gedefinieerd is door de International Association for the Study of Pain (IASP) als ‘*een verhoogde respons van nociceptoren in het centrale zenuwstelsel op normale afferente input of afferente input die zich net onder de prikkeldrempel bevindt*’. [11,12] Centrale sensitisatie kan zich manifesteren als symptomen zoals hyperalgesie en allodynie. [11] Deze symptomen hebben betrekking op aandoeningen die worden veroorzaakt door overprikkelbaarheid van nociceptoren. Dat is een mechanisme waarop  $Na_V$ -blokkerende (genees)middelen – en in het bijzonder selectieve  $Na_V1.8$ -blokkers – zich richten. [13] Het induceren en moduleren van hyperalgesie bij gezonde vrijwilligers werd zodoende als een mogelijke biomarker voor effectiviteit van  $Na_V$ -blokkers geschat, en verder onderzocht in de overige hoofdstukken van deze thesis.

In de context van experimentele klinische studies onderzochten we in **Hoofdstuk 5-8** geschiktheid van enkele methodes om hyperalgesie en/of allodynie te induceren. Een ervan was totale slaapdeprivatie (TSD; **Hoofdstuk 6, 7**). Hierbij werden proefpersonen minimaal 24 uur wakker gehouden en het effect van TSD op nociceptie bepaald. Een ander model

wat onderzocht werd, was topicale toediening van 1% capsaïcine op alcoholbasis (ethanolische oplossing aangebracht op de onderarm). Dit model was een aanpassing van de formulering van het capsaïcine crème-model gebruikt in **Hoofdstukken 2 en 3**. Met de aangepaste formulering beoogden we een uitgesprokener effect te induceren. TSD induceerde geslachtsafhankelijke hyperalgesie op koude-, hitte- en drukpijn (**Hoofdstuk 6**). Ook bracht TSD veranderingen teweeg in de geconditioneerde pijnmodulatierepons (**Hoofdstuk 6**) en nociceptieve verwerking (**Hoofdstuk 7**). Het topicale 1% capsaïcine in ethanolische oplossing-model verhoogde bij gezonde mannen de gevoeligheid voor hitte, en induceerde allodynie in het aangrenzende gebied waar de capsaïcine was aangebracht ('secundaire allodynie', **Hoofdstuk 8**). De resultaten bevestigden dat beide modellen van nut kunnen zijn in vroeg-fase geneesmiddelenonderzoek met gezonde proefpersonen. Wel zijn vervolgonderzoeken met farmacologische interventies nodig om te kunnen beoordelen of beide modellen ook duidelijke (dosisafhankelijke) effecten van (genees)middelen kunnen aantonen, en voor welke klasse zij een adequate biomarker kunnen zijn.

$Na_v1.7$  en  $Na_v1.8$  spelen een rol bij ontstekingspijn door modulatie van kinasen zoals PKA (proteïn kinase) en P38 MAPK (mitogen-activated proteïn kinase). [14] Verschillende ontstekingscellen en andersoortige mediators (bijvoorbeeld macrofagen, neutrofielen en mestcellen) gaan na een verwonding of ontsteking naar het aangetaste weefsel. Dit verhoogt vervolgens de aanwezigheid van kinasen zoals P38 MAPK.  $Na_v1.77$  en  $Na_v1.8$ , die toenemen in nociceptoren wanneer het geïnnerveerde weefsel wordt aangetast, worden gefosforyleerd en gemoduleerd, wat uiteindelijk tot hyperalgesie en allodynie kan leiden. [14] Het humane endotoxemiemodel (dat wil zeggen, systemische toediening van lipopolysaccharide (LPS)) kan in klinische studies worden gebruikt om een systemische ontsteking na te bootsen en P38 MAPK-signalering te induceren. [15] LPS zijn moleculen die voorkomen in het buitenmembraan van gramnegatieve bacteriën. In **Hoofdstuk 5** onderzochten we of systemische toediening van LPS zich zou kunnen vertalen in een bruikbaar inflammatoir hyperalgesiemodel. Met de doses die wij testten was LPS niet in staat om duidelijke, consistente en dosisafhankelijke effecten op te wekken. We concludeerden daarom dat het model niet bruikbaar is om effecten van analgetica, in de context van vroeg-fase geneesmiddelenonderzoek, mee aan te tonen.

In dit proefschrift hebben we getracht enkele problemen uit te lichten en aan te pakken, waarmee farmaceutische en biotechnologische bedrijven in vroeg-fase geneesmiddelen onderzoek dikwijls worden geconfronteerd wanneer zij analgetica ontwikkelen. Zo hebben we gekeken naar de toepasbaarheid van beschikbare modellen voor de top-10 meest geteste analgetica in vroeg-fase ontwikkeling (**Hoofdstuk 1**), hebben we enkele van de voorgestelde modellen uit **Hoofdstuk 1** gebruikt om geregistreerde analgetica en analgetica in ontwikkeling te profileren (**Hoofdstuk 2-4**); en hebben we onderzocht of andere methodologieën mogelijk ook bruikbaar zijn voor het aantonen van anti-hyperalgetische effecten van analgetica in gezonde vrijwilligers (**Hoofdstuk 5-8**). Alhoewel enkele van de geteste modellen bruikbaar lijken, moet worden vermeld dat, met uitzondering van de studie met het TSD model, alleen mannen in de studies hebben meegedaan. Daarnaast bootsten de modellen slechts één of enkele aspecten van pijn na, terwijl pijn juist een complex en multifactorieel symptoom is. Zo werden psychologische en psychosociale factoren die bijdragen aan de chronificatie van pijn buiten beschouwing gelaten. Meestal omdat het (nog) niet mogelijk en/of onethisch is om zulke aspecten in onderzoeks-context te testen (denk bijvoorbeeld aan gezonde proefpersonen bloot te moeten stellen aan onomkeerbare of langdurige pijn), maar ook vanwege de exploratieve insteek van deze onderzoeken. Nieuwe technologieën, waaronder augmented/virtual reality (AR/VR), kunnen hier echter een rol gaan spelen. Zo kan VR-simulatie bijvoorbeeld een affectieve component aan de pijnprikkel toe te voegen waardoor de pijnbeleving intenser wordt.

In een industrie met lange ontwikkeltijden zoals de farmaceutische en biotechnologische sector, is het verbeteren van methodologie essentieel bij het minimaliseren van de tijd die nodig is om een product op de markt te brengen. Onlangs heeft het Europees Geneesmiddelenbureau (de EMA) een richtsnoer gepubliceerd om ontwikkelaars te helpen navigeren door de belangrijkste wettelijke vereisten behorend bij het klinische ontwikkelingstraject van medische producten voor geavanceerde therapieën (advanced therapy medical products; ATMPs). Het richtsnoer stelt dat belangrijke openstaande vragen over het therapeutisch potentieel van het te testen geneesmiddel vroegtijdig in het ontwikkeltraject moeten worden beantwoord. [16] Hoewel de meeste analgetica niet als ATMPs classificeren, zouden dezelfde richtlijnen moeten gelden.

Geneesmiddelontwikkelaars en klinische onderzoekers die in het vroeg-fase deel van het ontwikkeltraject betrokken zijn, wordt geadviseerd om klinische studies zo te ontwerpen dat POM en/of POC al kan worden bestudeerd in gezonde vrijwilligers en/of goedgekozen patiënt(sub)populaties. Er kan een selectie in deze opties worden gemaakt, maar het heeft nooit de voorkeur om belangrijke vragen over het therapeutisch potentieel tot laat in het traject onbeantwoord te laten. De resultaten beschreven in deze thesis bieden de mogelijkheid om het ontwikkelproces van analgetica te ondersteunen en zo pijngeneesmiddelenonderzoek te verbeteren, zodat therapieën met verbeterde klinische werkzaamheid versneld bij de pijnpatiënten in nood kunnen komen.

## REFERENTIES

- 1 IQVIA. The Changing Landscape of Research and Development. 2019.
- 2 Rostock C, Schrenk-Siemens K, Pohle J, Siemens J. Human vs. Mouse Nociceptors – Similarities and Differences. *Neuroscience* 2018;387:13–27. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2017.11.047>.
- 3 Singh VK, Seed TM. How necessary are animal models for modern drug discovery? *Expert Opin Drug Discov* 2021;16:1391–7. <https://doi.org/10.1080/17460441.2021.1972255>.
- 4 Schlander M, Hernandez-Villafuerte K, Cheng CY, Mestre-Ferrandiz J, Baumann M. How Much Does It Cost to Research and Develop a New Drug? A Systematic Review and Assessment. *Pharmacoeconomics* 2021;39:1243–69. <https://doi.org/10.1007/s40273-021-01065-y>.
- 5 De Visser SJ, Van Der Post JP, De Waal PP, Cornet F, Cohen AF, Van Gerven JMA. Biomarkers for the effects of benzodiazepines in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2003;55:39–50. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.2002.t01-10-01714.x>.
- 6 Okkerse P, van Amerongen G, de Kam ML, Stevens J, Butt RP, Gurrell R, et al. The use of a battery of pain models to detect analgesic properties of compounds: a two-part four-way crossover study. *Br J Clin Pharmacol* 2017. <https://doi.org/10.1111/bcp.13183>.
- 7 Siebenga PS. Characterization and re-evaluation of experimental pain models in healthy subjects. Universiteit Leiden, 2020.
- 8 Schaffler K, Nicolas LB, Borta A, Brand T, Reitmeir P, Roebing R, et al. Investigation of the predictive validity of laser-EPS in normal, UVB-inflamed and capsaicin-irritated skin with four analgesic compounds in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2017;83:1424–35. <https://doi.org/10.1111/bcp.13247>.
- 9 Kingwell K. Na<sub>v</sub>1.7 withholds its pain potential. *Nat Rev Drug Discov* 2019. <https://doi.org/10.1038/d41573-019-00065-0>.
- 10 Ruijs TQ, Koopmans IW, de Kam ML, van Esdonk MJ, Koltzenburg M, Groeneveld GJ, et al. Effects of mexiletine and lacosamide on nerve excitability in healthy subjects: a randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *Clin Pharmacol Ther.* 2022 Jun 28. Advance online publication. <https://doi.org/10.1002/cpt.2694>
- 11 Woolf CJ. Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain* 2011;152. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2010.09.030>.
- 12 Louw A, Nijs J, Puentedura EJ. A clinical perspective on a pain neuroscience education approach to manual therapy. *J Man Manip Ther* 2017;25:160–8. <https://doi.org/10.1080/10669817.2017.1323699>.
- 13 Lai J, Porreca F, Hunter JC, Gold MS. Voltage-Gated Sodium Channels and Hyperalgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004;44:371–97. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121627>.
- 14 Hameed S. Na<sub>v</sub>1.7 and Na<sub>v</sub>1.8: Role in the pathophysiology of pain. *Mol Pain* 2019;15. <https://doi.org/10.1177/1744806919858801>.
- 15 Branger J, van den Blink B, Weijer S, Madwed J, Bos CL, Gupta A, et al. Anti-Inflammatory Effects of a p38 Mitogen-Activated Protein Kinase Inhibitor During Human Endotoxemia. *J Immunol* 2002;168:4070–7. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.8.4070>.
- 16 EMA's guide on advanced therapy medical products – Your checklist. Version 1.0 – Released on 29 November 2021 n.d. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/guide-advanced-therapy-medicinal-products-quality-flowchart\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/guide-advanced-therapy-medicinal-products-quality-flowchart_en.pdf) (accessed February 9, 2022).