

PROTOKOL PROJEKTU

Název studie

Vliv individuálního metabolismu azathioprinu na sérové hladiny infliximabu a protilátek proti infliximabu u dětských pacientů s Crohnovou chorobou.

Navrhovatelé

Doc. MUDr. Jiří Bronský, Ph.D., MUDr. Ivana Čopová, MUDr. Kristýna Potužníková (v abecedním pořadí) - Pediatrická klinika 2.LF UK a FN v Motole

Současné poznání řešení

V pediatrii je jako základní imunosupresivní léčivo (IS) pro udržení remise Crohnovy choroby (CD) užíván azathioprin (AZA). Při neúspěchu je dle současných doporučení zahajována biologická léčba (BL) anti-TNF preparáty, z této skupiny je pak nejčastěji využíván infliximab (IFX). Při zahájení BL je doporučeno kombinovat terapii s IS, nejčastěji pak výše zmiňovaným AZA (pokud jiné důvody, např. výskyt nežádoucích účinků toto nevylučují). Terapie BL je indikována u dětí se střední až vysokou aktivitou nemoci nereagující na konvenční imunosupresivní terapii. Pokud terapie AZA selhává a je nutno zahájit BL, je obvykle v terapii AZA pokračováno zároveň s podáváním BL. Indikace akcelerované step-up (event. top-down) terapie by měla být zvážena u dětí s perianálním postižením, extraintestinálními projevy, významnou růstovou retardací, nepříznivou rodinnou anamnézou, vysokou aktivitou onemocnění nebo rozsáhlým postižením tenkého střeva v době stanovení diagnózy. I v těchto případech je většinou zároveň s BL zahajována také terapie AZA. (1)

AZA je neúčinné proléčivo, které je po absorpci z gastrointestinálního traktu rychle přeměněno na 6-merkaptopurin (6-MP). 6-MP je dále metabolizován třemi cestami: dvě z nich – katalyzované thiopurin metyltransferázou (TPMT) a xantinoxidázou (XO) – jsou slepými uličkami, jejichž cestou vznikají neúčinné metabolity – 6-metylmerkaptopurin (6-mMP) a kyselina thiomočová (KTM); třetí cestou katalyzovanou hypoxantin-guanin-fosforibosyltransferázou (HPRT) vzniká 6-merkaptopurin nukleotid (6-MPN) dále metabolizovaný na aktivní 6-thioguanin nukleotid (6-TGN) či cestou TPMT na neúčinný 6-metylmerkaptopurin nukleotid (6-mMPN). Aktivita TPMT je hodnocena dle genetického vyšetření u všech pacientů před zahájením terapie AZA. Dominantní homozygoté v genu pro TPMT jsou považovány za „normometylátory“ a dávkování AZA u nich odpovídá obecným doporučením. U heterozygotů („hypometylátoři“) a recesivních homozygotů je třeba nutnost užití AZA zvážit a případně dávky léčiva vhodně upravit (snížit na 30-50% u heterozygotů a spíše nepodávat u recesivních homozygotů). (1, 2) Pomocí metody HPLC (High performance liquid chromatography) lze stanovit hladinu metabolitů AZA v erytrocytech pacienta – 6-TG, 6-MP a 6-mMP.

Předpokládá se, že klinická odpověď na terapii AZA koreluje s koncentrací 6-TGN v erytrocytech. (3) V roce 2001 studie Cuffari et al. sledující 82 dospělých pacientů se zánětlivým střevním onemocněním (63 s CD a 11 s ulcerózní kolitidou (UC)) popsala, že pouze 5 z 37 pacientů s CD neodpovídajících na terapii mělo hladiny 6-TGN vyšší než $250 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů a pouze 1 z 11 pacientů s koncentracemi 6-TGN nad $250 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů neodpovídal na terapii. (4) Česká studie z roku 2010, využívající HPLC metody k měření těchto metabolitů, se zabývala určením doby, za niž je u dětských pacientů dosaženo stabilních hladin 6-TGN (aktivních metabolitů léčiva) od zahájení terapie. Zjištěná střední doba od podání první dávky do dosažení stabilních hladin byla 55

dní. Dále studie popsala negativní korelaci mezi aktivitou TPMT a koncentrací 6-TGN – tedy vysoká aktivita TPMT vedla k nižším hladinám 6-TGN a naopak. Na druhou stranu vztah mezi již stabilními hladinami 6-TGN a dávkami AZA vztažených na kilogram tělesné hmotnosti byl hodnocen jako neprůkazný. Nicméně pro koncentrace 6-mMPN v erytrocytech většiny dětí byla typická jejich vysoká intraindividuální variabilita. (5) Předpokládáme, že dlouhodobější sledování hladin těchto metabolitů (odběry při každé návštěvě pacienta v ambulanci centra biologické léčby pro podání dávky IFX) vypoví více o individuálním metabolismu AZA u konkrétního pacienta. Zároveň lze měřením hladin metabolitů AZA hodnotit (non)compliance pacienta na terapii.

Produkce protilátek proti infliximabu (antiIFX) snižuje dobu odpovědi na léčbu IFX a zvyšuje riziko infuzních reakcí. (6,7) Konkomitantní AZA + IFX (combo) terapie vede k vyšším sérovým hladinám IFX, nižší produkci antiIFX a lepší klinické odpovědi pacientů. (8) Studie SONIC z roku 2010 srovnávala tří skupiny dospělých pacientů s CD První skupina pacientů užívala pouze AZA, druhá byla na monoterapii IFX a třetí skupina zahrnovala pacienty na combo terapii. Studie prokázala ve 30. týdnu léčby detekovatelné protilátky antiIFX u 1 z 116 pacientů (0,9%) ze skupiny na combo terapii oproti 15 ze 103 (14,6%) pacientů léčených pouze AZA. (9) V průřezové studii z jara 2015 zahrnující 72 dospělých pacientů byla popsána pozitivní korelace mezi hladinami 6-TGN a IFX – hladiny 6-TGN měřené z erytrocytů vyšší než $125 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů (cut-off) byly asociovány s vyššími hladinami IFX. Zároveň pak u pacientů s hladinami 6-TGN nižšími než $125 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů byla pozorována signifikantně větší náchylnost k tvorbě antiIFX. Bylo tak naznačeno, že v kombinované terapii by hladiny 6-TGN mohly být signifikantně nižší (nad $125 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů) než u pacientů na monoterapii AZA (nad $250 \text{ pmol}/8 \times 10^8$ erytrocytů – viz. výše Cuffari et al.). (10)

Cíle projektu

Primární cíl

Posouzení vlivu individuálního metabolismu AZA na sérové hladiny IFX a antiIFX u dětských pacientů léčených kombinovanou terapií AZA+IFX pro základní diagnózu CD.

Sekundární cíle

- Posouzení compliance pacientů na terapii – měřením metabolitů AZA
- Posouzení vztahu mezi hladinami metabolitů AZA v erytrocytech, sérovými hladinami IFX a antiIFX a dalšími klinickými a laboratorními faktory (klinická aktivita onemocnění, parametry zánětu – zejm. sedimentace, CRP, hladina hemoglobinu, trombocytů a fekálního kalprotektinu) – pečlivým zaznamenáváním těchto dat v průběhu sledování

Design

Longitudiální prospektivní observační studie

Vstupní a vylučovací kritéria

Pro zařazení do studie musí pacient splňovat všechna následující vstupní kritéria, pro nezařazení do studie stačí, aby pacient nesplňoval jedno z vstupních kritérií. Pokud pacient splňuje některé (stačí jedno) z vylučovacích kritérií, bude ze studie vyloučen.

Vstupní kritéria

- věk 2-18 let
- pacient s diagnostikovanou CD

- pacient léčený combo terapií pro diagnózu Crohnovy choroby alespoň po dobu 3 měsíců (ukončená indukční léčba IFX a předpokládaný ustálený stav hladin metabolitů AZA)
- souhlas pacienta/jeho zákonného zástupce s účastí ve studii vyjádřený podpisem informovaného souhlasu

Vyřazovací kritéria

- non-compliantní pacient/rodina
- gravidita
- vyslovení nesouhlasu s další účastí ve studii

Způsob řešení projektu

Předpokládaný počet pacientů

Nyní je v našem Centru biologické léčby sledováno přibližně 50 pacientů splňujících vstupní kritéria, v průběhu jednoho roku je nově zahájena terapie IFX u cca 20 pacientů, z nichž většina je zároveň léčena AZA.

Odběr vzorků

Vhodným pacientům (kteří splní vstupní kritéria včetně vyjádření souhlasu s účastí ve studii) budou při každé aplikaci IFX (v intervalu 4-8 týdnů) odebírány vzorky krve a séra, které umožní stanovení metabolitů AZA z erytrocytů a sérových hladin IFX a antiIFX. Interval odběru vzorků se bude odvíjet od intervalu aplikace IFX v centru biologické léčby dle ordinace dětského gastroenterologa, u kterého je pacient pro diagnózu CD sledován. Odběry budou prováděny vždy před aplikací infuze IFX.

Pacienti budou v těchto intervalech odebírání opakovaně od data jejich zařazení do studie až do ukončení sběru dat/jejich vystoupení ze sledování (z důvodu přechodu do sledování na jiné pracoviště, změny terapie, vyslovení přání se studii dále neúčastnit, apod.). Při každém odběru pro účely této studie budou pacientovi odebrány 3 zkumavky nad rámec standardních odběrů.

Jedná se o observační prospektivní studii, v níž bude sledován vztah mezi změnami hladin metabolitů AZA a hladin IFX a antiIFX, léčba se tedy v průběhu sledování nebude měnit na základě ve studii naměřených dat. Pokud se léčba v průběhu terapie změní, bude tak probíhat v souladu s naší běžnou klinickou praxí a doporučeními Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy (1) a na základě parametrů, které jsou v průběhu terapie u pacientů rutinně monitorovány.

Laboratorní metody

Stanovení metabolitů AZA z erytrocytů: HPLC (High performance liquid chromatography)

Stanovení hladin IFX a antiIFX v séru pacienta: ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)

Časový harmonogram

Zahájení odběru vzorků od pacientů: prosinec 2015

Zahájení stanovování sérových hladin IFX, antiIFX z odebraných vzorků: jaro 2016

Zahájení stanovování hladin metabolitů AZA z erytrocytů z odebraných vzorků: jaro 2016

Nábor pacientů do studie: prosinec 2015-červen 2017

Pravidelné odebírání vzorků od pacientů (až 4-8 týdnů): prosinec 2015-prosinec 2017 (2 roky)

Vyhodnocování dat: průběžné, sledování v průběhu studie, definitivní vyhodnocení v posledním roce: prosinec 2018

Výstupy

2x článek v impaktovaném časopisu.

Prezentace výsledků na mezinárodních i tuzemských kongresech a symposiích v podobě prezentace či posteru.

Literatura

1. Adamcová M, Bajer M, Bajerová K, Bronský J, Dědek P, Hradský O, Karásková E, Kavalcová L, Mitrová K, Netvalová S, Nevoral J, Pozler O, Schwarz J, Sztányi P, Škába R, Šuláková A. Doporučení Pracovní skupiny dětské gastroenterologie a výživy ČPS pro diagnostiku a léčbu nespecifických střevních zánětů u dětí. *Československá pediatrie*. 2012, **67**(2): 5-47.
2. Koubíková P. 2007. *Imunosupresivní terapie idiopatických střevních zánětů*. Praha. Disertační práce. 1.LF UK v Praze. Vedoucí práce Lukáš M.
3. Dubinsky MD, Lamothe S, Yang HY, Targan SR, Sinnett D, Théorêt Y, Seidman EG. Pharmacogenomics and metabolite measurement for 6-mercaptopurine therapy in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2000, **118**(4): 705-7013
4. Cuffari C, Hunt S, Bayless T. Utilisation of erythrocyte 6-thioguanine metabolite levels to optimise azathioprine therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Gut*. 2001, **48**:642–646
5. Pozler O, Chládek J, Malý J, Hroch M, Dědek P, Beránek M, Krádníčanová P. Steady-state of azathioprine during initiation treatment of pediatric inflammatory bowel disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. 2010, **4**: 623-628.
6. Baert F, Noman M, Vermeire S, Assche GV, D' Haens G, Carbonez A, Rutgeerts P. Influence of Immunogenicity on the Long-Term Efficacy of Infliximab in Crohn's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2003, **348**(7): 601-608.
7. Lichtenstein GR, Diamond RH, Wagner CL, Fasanmade AA, Olson AD, Marano CW, Johanss J, Lang Y, Sandborn WJ. Clinical trial: benefits and risks of immunomodulators and maintenance infliximab for IBD-subgroup analyses across four randomized trials. *Alimentary Pharmacology*. 2009, **30**(3): 210-226.
8. Love BL, Smith LS, Sarbah AS, Fowler FC. Azathioprine and Infliximab: Monotherapy or Combination Therapy in the Treatment of Crohn's Disease. *Clinical Medical Insights: Gastroenterology*. 2011, **4**: 21-30
9. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, Lichtiger S, D'haens G, Diamond RH, et al. Infliximab, Azathioprine, or Combination Therapy for Crohn's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2010, **362**(15): 1383-1395.
10. Yarur AJ, Kubiľun MJ, Czul F, Sussman DA, Quintero MA, Jain A, Drake KA, Hauenstein SI, Lockton S, Deshpande AR, Barkin JS, Singh S, Abreu MT. Concentrations of 6-Thioguanine Nucleotide Correlate With Trough Levels of Infliximab in Patients With Inflammatory Bowel Disease on Combination Therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015, **13**(6): 1118-1124.e3.