

Farmacokinetiek en toxiciteit van intravesicaal toegediend TMX-101: een preklinische studie bij varkens

H.C. Arentsen ^{a*}, C.A. Hulsbergen-van de Kaa ^b,
C.F.J. Jansen ^a, R. Maj ^c, L.M. Leoni ^c, E. Oosterwijk ^a en
J.A. Witjes ^a

^a Afdeling Urologie, Radboudumc, Nijmegen.

^b Afdeling Pathologie, Radboudumc, Nijmegen.

^c Telormedix, Bioggio, Zwitserland.

* Correspondentie: harm.arentsen@radboudumc.nl.

Kernpunten

- Toll-like receptor 7 (TLR7) kent een hoge expressie in humaan blaaskankerweefsel.
- De verdeling van TLR7 in varkens- en humaan blaasweefsel is vergelijkbaar.
- Imiquimod is een TLR7-agonist en het werkzame bestanddeel van het veelbelovende intravesicale middel tegen blaaskanker, TMX-101.
- Intravesicaal toegediend imiquimod bij varkens wordt goed getolereerd en veroorzaakt geen blaaswandtoxiciteit.
- Formuleringen van imiquimod met poloxameer en hydroxypropyl- β -cyclodextrine blijven langer in de blaas en vertonen minder systemische absorptie.

Inleiding

De incidentie van niet-spierinvasieve urotheliale blaaskanker is hoog [1] en de prevalentie is zelfs nog hoger door de hoge recidive na primaire transurethrale resectie. Bij patiënten met een grote kans op recidive en/of progressie naar spierinvasieve ziekte is intravesicale immuuntherapie met bacillus Calmette-Guérin (BCG) gedurende minimaal een jaar geïndiceerd. BCG is echter slechts deels effectief en er kunnen zich ernstige lokale en systemische bijwerkingen voordoen [2]. Daarom blijft de ontwikkeling van nieuwe intravesicale behandelmogelijkheden essentieel om recidive en progressie van niet-spierinvasieve urotheliale blaaskanker te verminderen.

TMX-101 is een geoptimaliseerde formulering van imiquimod, 1-(2-methylpropyl)-1*H*-imidazo[4,5-*c*]chinolin-4-amine. Dit synthetische immuunmodulans met laag molecuulgewicht (240,3 g/mol) is de belangrijkste vertegenwoordiger van de imidazochinolinen (agonisten van toll-like receptor 7 [TLR7]). Activering van TLR7 door imiquimod leidt tot een intracellulaire signaalcascade (MyD88/NF- κ B *pathway*) die een sterke antivirale en antikanker-immuunrespons veroorzaakt [3]. Imiquimod is

ABSTRACT

Pharmacokinetics and toxicity of intravesical TMX-101: a preclinical study in pigs

OBJECTIVE

To study the pharmacokinetic and toxicity profile of intravesically administered TMX-101, with its active ingredient imiquimod, a synthetic toll-like receptor (TLR) 7 agonist, in a pig model.

DESIGN AND METHODS

TLR7 expression was determined by immunohistochemistry in human and pig bladder tissue. Four groups of six pigs received a 1-h intravesical instillation with imiquimod of different formulations. Pharmacokinetic analysis was performed on plasma. Toxicity evaluation included monitoring the well-being of the animals, peripheral blood cell counts, and interleukin-6 and creatinine measurements. Urine was collected for imiquimod measurement and dipstick analysis. In total, three pigs per group were sacrificed 24 h post-treatment, and the remaining animals were sacrificed after 1 week. Histopathological examination of the bladder wall was performed.

RESULTS

TLR7 was homogeneously expressed in human and pig urothelium. Imiquimod and vehicle were well tolerated without deterioration in animal well-being. Systemic imiquimod absorption was low. Mean maximum plasma concentration of imiquimod differed depending on the formulation. Post-treatment, plasma levels were negligible at 24 h. Histopathological examination of the bladders did not show significant abnormalities, apart from the intended inflammatory reaction in the imiquimod treated groups.

CONCLUSION

Intravesically administered imiquimod in pigs, which showed a similar TLR7 distribution in bladder tissue as humans, is well tolerated and causes no bladder wall toxicity, and formulations with poloxamer and hydroxypropyl- β -cyclodextrin showed less systemic absorption.

Arentsen HC, Hulsbergen-van de Kaa CA, Jansen CFJ, Maj R, Leoni LM, Oosterwijk E, Witjes JA. Farmacokinetiek en toxiciteit van intravesicaal toegediend TMX-101: een preklinische studie bij varkens. PW Wetenschappelijk Platform. 2015;9:a1537.

Dit artikel is een vertaling van: Arentsen HC, Hulsbergen-Van de Kaa CA, Jansen CF, Maj R, Leoni LM, Oosterwijk E, Witjes JA. Pharmacokinetics and toxicity of intravesical TMX-101: a preclinical study in pigs. BJU Int. 2011 okt;108(7):1210-4.

effectief en goed verdraagbaar als lokaal geneesmiddel (Al-dara; Graceway Pharmaceuticals, Bristol, Verenigde Staten) voor de behandeling van diverse goed- en kwaadaardige huidziekten [4].

TLR7 komt ook tot expressie in blaaskankercellijnen van muizen en mensen. Imidazochinolinen hebben sterke directe biologische effecten op urotheelkankercellen door inductie van apoptose en cytokineproductie [5]. De directe effecten blijken het resultaat te zijn van c-Myc-downregulatie en zouden synergistisch kunnen werken met de immuunmodulerende werking van de imidazochinolinen [6]. Bovendien wijzen de eerste resultaten in een immuuncompetent, orthotopisch muismodel op werkzaamheid tegen tumoren in vivo [5, 6]. Imidazochinolinen zijn dus potentiële kandidaten voor intravesicale therapie van blaaskanker.

Om vast te stellen of imiquimod geschikt is voor behandeling van blaaskanker, bestudeerden we expressie van TLR7 in humaan blaaskankerweefsel en normaal blaasweefsel. In dierproeven zijn drie verschillende intravesicale formuleringen van imiquimod en een blanco controle onderzocht op zowel therapeutische potentie als veiligheid. We onderzochten dierenwelzijn, farmacokinetiek, cytokineproductie en histologie van de blaaswand.

Methoden

TLR7-expressie

Bij 15 met formaline gefixeerde, in paraffine ingesloten blaaskankermonters, 6 normale blaasmonsters en 28 verschillende menselijke weefselmonsters (anders dan blaasweefsel) werd TLR7-kleuring toegepast door Mosaic Laboratories (Lake Forest, Verenigde Staten). Ook werden varkensweefselmonsters van blaas, tonsil, hart, lever, milt en nier getest. Na *antigen retrieval* (Mosaic Laboratories) werden de weefselpreparaten gedurende 5 minuten geblokkeerd met *protein block* (Dako, Carpinteria, Verenigde Staten), gevolgd door 30 minuten incubatie met anti-TLR7-antilichamen (GeneTex, Irvine, Verenigde Staten) in Dako Diluent (Dako). Na spoelen in buffer volgde detectie met Envision+ Rabbit HRP detectiereagens (Dako) gedurende 30 minuten. Na spoelen en ontwikkelen met 3,3'-diaminobenzidine (Dako) ondergingen de preparaten een tegenkleuring met hematoxyline en werden ze ingesloten.

De kleurintensiteit van elk preparaat werd vergeleken met de intensiteit van een controlepreparaat van een aangrenzende sectie die was gekleurd met een irrelevant antilichaam passend bij species en isotype; deze laatste kleur werd beschouwd als 'achtergrond'. Preparaten werden gescoord als 0 (geen kleuring in vergelijking met de achtergrond), 1+ (lichte kleuring), 2+ (matige kleuring) of 3+ (sterke kleuring). Voor elk monster werd de totale positieve kleuring (de som van alle scores 1+, 2+ en 3+) vastgelegd. De *H*-score werd berekend als de som van de producten van percentages cellen bij elke kleurintensiteit met de vergelijking:

$$H = (3 \times \% \text{ cellen met kleuring } 3+) + (2 \times \% \text{ cellen met kleuring } 2+) + (1 \times \% \text{ cellen met kleuring } 1+).$$

De *H*-scores liepen van 0 tot 300.

Dierproeven

Dierproeven zijn uitgevoerd volgens het protocol dat was goedgekeurd door de Dier Experimenten Commissie van de Radboud Universiteit en overeenkomstig nationale en Europese regelgeving.

Voor dit onderzoek zijn vrouwelijke varkens (Nederlands landras) gebruikt omdat het urogenitale stelsel van het varken sterk lijkt op het menselijke stelsel. Bij mannelijke varkens belemmeren de vorm van de penis en de uitstulping van de voorhuid de transuretrale katheterisatie. De zeugen werden ondergebracht in speciale roestvrijstalen varkenskooien (Kezkhaff RVS, Ven-Zelderheide) en kregen universeel varkensvoer (Havens Voeders, Maashees).

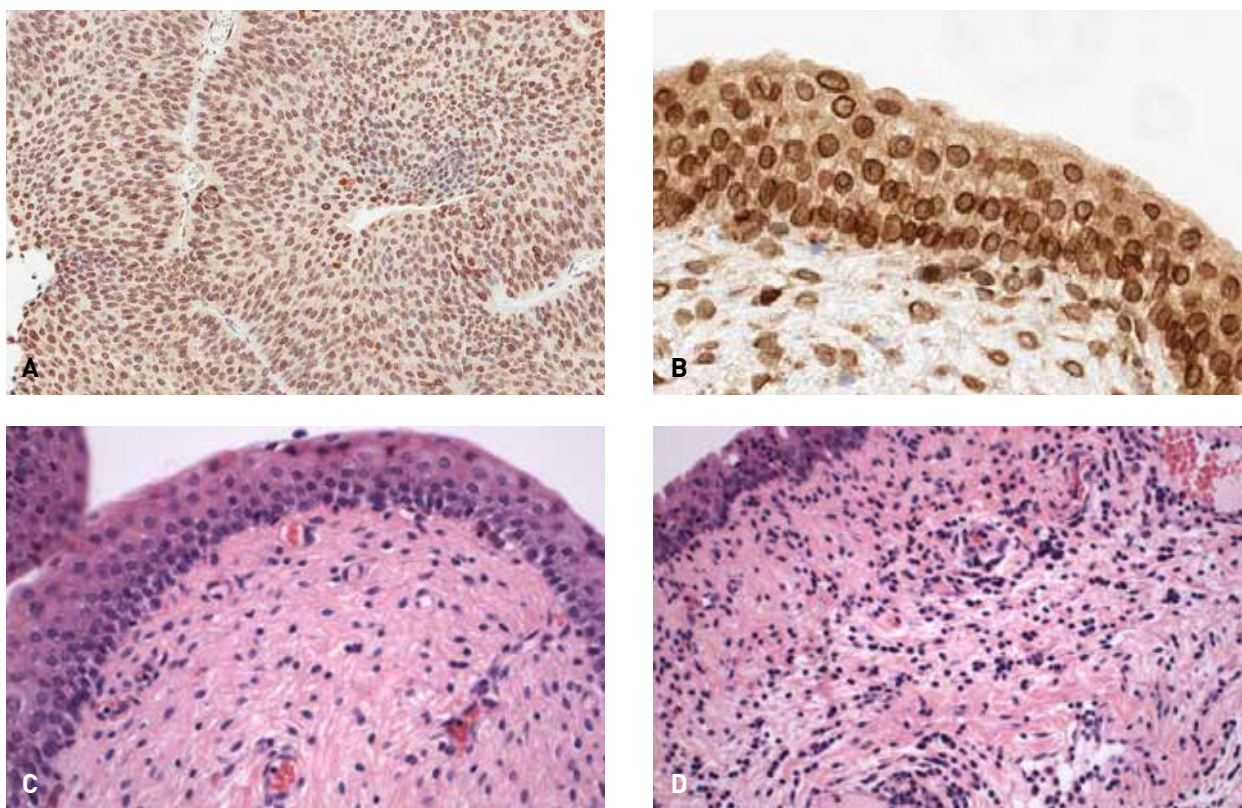
De varkens werden verdeeld in 4 groepen van 6 dieren. Experimenten werden verricht onder algemene anesthesie. Premedicatie bestond uit een mengsel van 10 mg/kg ketamine en 0,5-1,0 mg/kg midazolam in één intramusculaire injectie. Sedatie werd onderhouden met de halve dosis van hetzelfde mengsel elke 45 minuten. De blaas werd gelegeerd voor de start van de behandeling (met een 12-F Foley-katheter) en 50 mL van het te onderzoeken middel werd in de blaas geïnstilleerd.

De dieren ontvingen een oplossing van 0,5% imiquimod in 0,1 mol/L melkzuur (groep 1), 0,5% imiquimod in 0,1 mol/L melkzuur met 16% poloxameer 407 als emulgator en 15% hydroxypropyl- β -cyclodextrine (HPBCD) als stabilisator (groep 2), 0,5% imiquimod in 0,1 mol/L melkzuur met 16% poloxameer 407 en 5% HPBCD (groep 3) of 0,1 mol/L melkzuur als blanco controle (groep 4). De stabiliteit van imiquimod in alle formuleringen was vooraf gecontroleerd en degradatie werd niet waargenomen. De katheter werd afgeklemd en de geïnstilleerde vloeistof verbleef 60 minuten in de blaas; vervolgens werd de blaas gelegeerd. De blaas werd daarna niet gespoeld.

Bloedmonsters voor de telling van bloedcellen en de bepaling van creatinine werden genomen voor de instillatie en 60 minuten, 24 uur en 7 dagen (kort voor de cystectomie) na het begin van de instillatie. Bloedmonsters voor farmacokinetische analyse en bepaling van cytokinen (interleukine 6) werden genomen voor instillatie en 15, 30, 60, 120, 240 en 480 minuten na het begin van de instillatie en kort voor de cystectomie. Plasma werd bemonsterd voor farmacokinetische analyse en cytokinebepaling, bewaard bij -80°C en op vast koolzuur getransporteerd voor analyse.

De concentratie imiquimod werd bepaald in de blaasinhoud 60 minuten na instillatie en in de blaasinhoud net voor de cystectomie. Urine werd terstond bevroren, in plastic buizen bewaard bij -80°C en op vast koolzuur getransporteerd.

Dipstick-analyse werd uitgevoerd op urinemonsters van voor en na de instillatie en op de urinemonsters van net voor de cystectomie.

Figuur 1 Histologische opnamen

- A. Immunohistochemische kleuring van toll-like receptor 7 (TLR7) van humane niet-spierinvasieve blaaskanker (oorspronkelijke vergroting, $\times 20$)
 B. Immunohistochemische kleuring van TLR7 van (sub)mucosa van varkensblaas (oorspronkelijke vergroting, $\times 40$)
 C. Normaal uiterlijk van (sub)mucosa van een varkensblaas (hematoxyline-eosinekleuring; oorspronkelijke vergroting, $\times 20$)
 D. Matige, overwegend lymfocyttaire ontstekingsreactie van submucosa 1 dag na instillatie van imiquimod (groep 3) (hematoxyline-eosinekleuring; oorspronkelijke vergroting, $\times 20$)

Imiquimodconcentraties in plasma en urine werden bepaald door CHIMAN (Rottofreno, Italië) met vloeistofchromatografie en tweevoudige massaspectrometrie (LC-MS-MS). Deze methode is eerder gevalideerd voor humane urinemonsters in het bereik 2-5000 mg/L imiquimod en werd beoordeeld als voldoende nauwkeurig (gemiddelde nauwkeurigheid 104,0%; gemiddelde relatieve standaardafwijking 1,7%).

Plasmamonsters voor bepaling van interleukine 6 werden geanalyseerd door Areta International (Gerenzano, Italië) met de Quantikine Porcine IL-6 kit (P6000; R&D Systems, Minneapolis, Verenigde Staten).

De lichaamstemperatuur werd rectaal gemeten voor de behandeling en 1, 8 en 24 uur en 7 dagen erna. Het welbevinden van de dieren werd door ervaren personeel bepaald aan de hand van een lijst met geselecteerde tekenen en symptomen van toxiciteit; dit gebeurde voor het experiment, direct na de instillatie en kort voor het offeren.

Uit elke groep werden 24 uur na de behandeling 3 dieren geofferd en de overige dieren 7 dagen erna. Vervolgens werd de blaas verwijderd en werden monsters genomen

voor histologie: blaasbiopsieën van 1 cm² uit de koepel, het trigonum, de rechter en de linker zijwand werden overgebracht in 10% formaline in fosfaatbuffer. De biopsieën werden ingesloten in paraffine, gesneden en gekleurd met hematoxyline-eosine. De plakjes werden beoordeeld op tekenen van ontsteking of allergische reacties in submucosa en mucosa. Microscopische afwijkingen werden geclassificeerd als geen, zwakke, matige of sterke reactie.

Resultaten

TLR7-expressie

De expressie van TLR7 in de 15 menselijke blaaskankermonsters bleek uit positieve kleuring in alle monsters, met een gemiddelde van 90% (standaardafwijking [SD] 9%; spreiding 70-100%). De meest intense kleuring betrof het kernmembraan en het perinucleaire gebied; het cytoplasma was zwakker van kleur (figuur 1A). De gemiddelde H-score was 127 (SD 23; spreiding 90-165).

Positieve kleuring werd ook waargenomen in de 6 monsters van normaal blaasepitheel, met een gemiddelde

Tabel 1 Totale hoeveelheid intravesicaal toegediend imiquimod en totale hoeveelheid imiquimod die na de instillatie werd teruggevonden in urine bij de verschillende groepen

Groep	Totale hoeveelheid imiquimod toegediend (mg)	Totale hoeveelheid imiquimod teruggevonden	
		(mg; spreiding)	%
1	269	219 [23-320]	81,4
2	258	133 [64-176]	51,5
3	248	122 [46-219]	49,1
4	0	0 [-]	-

van 95% (SD 8%; spreiding 80-100%) en een gemiddelde *H*-score van 179 (SD 55; spreiding 100-230).

TLR7-expressie werd waargenomen in vrijwel alle onderzochte niet-blaasweefselmonsters (gegevens niet getoond), vooral in lymfoïde weefsels, maar niet in hart- en gladde spierweefsel.

De expressie van TLR7 in varkensweefsels (figuur 1B) kwam overeen met die in soortgelijke menselijke weefsels.

Dierproeven

24 varkens met een gemiddeld gewicht van 57,1 kg (spreiding 40,0-85,0 kg) werden ingedeeld in 4 groepen van 6 varkens die werden behandeld met verschillende formuleringen van imiquimod als eenmalige blaasinstillatie gedurende 60 minuten. Gedurende de gehele week die volgde op de instillatie (3 dieren per groep) werd geen verslechtering van hun welbevinden waargenomen. Lichte tekenen van toxiciteit die mogelijk resulteerden uit het onderzochte geneesmiddel, werden waargenomen bij 4 varkens (verminderde voedselopname bij 3 varkens in groepen 1, 2 en 4; brijge ontlasting bij 1 varken in groep 1). Er waren geen andere tekenen van verminderd dierenwelzijn.

De lichaamstemperatuur na de behandeling werd niet beïnvloed door de instillatie van het middel en kwam in alle groepen overeen met de temperatuur voor de behandeling.

Een lichte stijging van de creatininespiegel werd een week na de behandeling waargenomen in de groepen 1 en 2, zonder een duidelijke correlatie met de behandelomstandigheden.

Hematologische parameters waren in het normale gebied, met uitzondering van 1 varken in groep 1, dat aan het eind van de 60 minuten instillatie abnormale waarden vertoonde (hemoglobine 2,5 mmol/L; hemacocriet 12%; trombocytenaantal 18×10^9 /L; leukocytenaantal $8,8 \times 10^9$ /L). 24 uur na de behandeling waren alle hematologische parameters van dit dier weer binnen de normale waarden, uitgezonderd het trombocytenaantal (53×10^9 /L), maar een week na de instillatie lag ook dit weer binnen het normale gebied.

Analyse van de urine na de behandeling (60 minuten na het begin van de instillatie) liet bij alle groepen grote hoeveelheden imiquimod zien, behalve bij de groep met de blanco controle (tabel 1). In de urine van dieren uit groep 1 werd bijna tweemaal zo veel imiquimod gevonden als in

die van de groepen 2 en 3, maar het verschil was niet significant (ANOVA: $P = 0,096$). Na 24 uur waren de concentraties imiquimod erg laag (< 5 mg/L).

Farmacokinetische analyse liet slechts een geringe systemische absorptie zien (figuur 2 en tabel 2). Gemiddeld was de maximale plasmaspiegel in groep 1 driemaal zo hoog als die in de groepen 2 en 3 (algemene analyse; ANOVA: $P = 0,026$), wat resulteerde in een tweemaal zo hoge AUC. Na 8 uur kon bijna geen imiquimod meer worden aangetoond in het plasma van enig varken ($< 2,10$ µg/L).

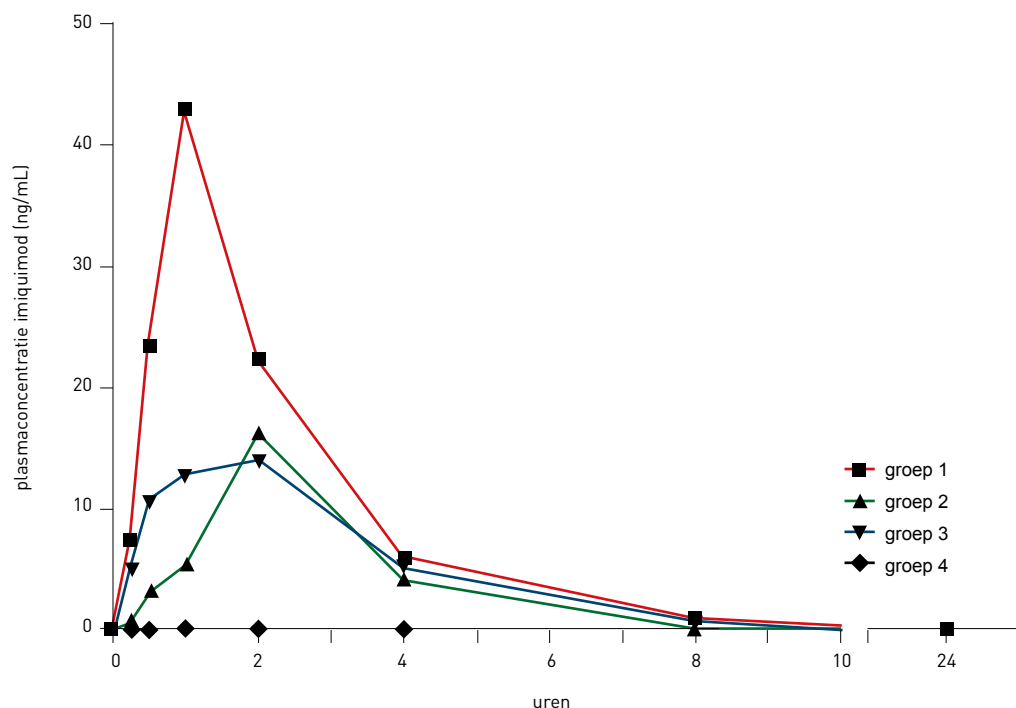
De spiegels van interleukine 6 waren in alle groepen vergelijkbaar, inclusief de blancogroep, waarbij de maxima werden bereikt 8 uur na de instillatie van de onderzoekmedicatie (gegevens niet getoond).

Bij macroscopische beoordeling van de uitgenomen blazen waren geen afwijkingen zichtbaar, behalve enkele gebieden met een bloedig voorkomen in de varkens die 24 uur na de instillatie van imiquimod werden geofferd (groepen 1-3). Bij de dieren die 7 dagen na de instillatie werden geofferd, was zulk bloedig voorkomen minder duidelijk of afwezig.

Microscopische beoordeling van de weggenomen blazen liet geen verschillen zien tussen de vier bemonsterde gebieden. Bij de meeste dieren van de 3 behandelde groepen was 24 uur na de intravesicale instillatie een matige, overwegend lymfocyttaire ontstekingsreactie van de submucosa zichtbaar (figuur 1D); die nam af tot een zwakke ontsteking bij de dieren die na 7 dagen werden geofferd. 24 uur na de instillatie werd lymfocyttaire vasculitis waargenomen bij 3 dieren, 1 uit elke behandelde groep. Matige myositis werd waargenomen bij 1 varken uit groep 1. Bij nagenoeg alle dieren die na 24 uur werden geofferd, werd licht reactief atypisch blaasepitheel waargenomen dat in de loop van de tijd verdween en niet zichtbaar was bij dieren die na 7 dagen werden geofferd. Erosie, submucosaal oedeem en bloedingen waren mild en er was geen allergische reactie waarneembaar.

Beschouwing

Transuretrale resectie en adjuvante immuuntherapie met BCG vormen de standaardbehandeling van hooggradige niet-spieerinvasieve blaaskanker. Bij veel patiënten keert de ziekte echter terug en het effect op ziekteprogressie

Figuur 2 Farmacokinetische waarden van imiquimod in plasma per behandelde groep**Tabel 2** Farmacokinetische waarden van imiquimod in plasma per behandelde groep (gemiddelde ± standaardafwijking)

Groep	$C_{\max}$ (mg/L)	AUC (mg·L ⁻¹ ·h)	$t_{1/2}$ (h)
1	45 ± 30	97 ± 50	1,2 ± 0,1
2	16 ± 10	46 ± 27	1,6 ± 1,0
3	17 ± 7	57 ± 25	1,9 ± 1,1
4	0 ± 0	0 ± 0	–

$C_{\max}$: maximumconcentratie; AUC: *area under the curve*; $t_{1/2}$: halfwaardetijd.

is slechts beperkt [7] of zelfs afwezig [8]. Bovendien kan BCG-behandeling leiden tot ernstige lokale en systemische bijwerkingen [2]. Daarom zijn nieuwe therapeutische mogelijkheden dringend nodig om bij niet-spierinvasieve blaaskanker het totale succespercentage te verbeteren (wellicht met een lager toxiciteitsprofiel).

Imiquimod, een vertegenwoordiger van de imidazochinolinen, bleek werkzaam tegen vele tumortypen [9]. De stof bindt aan TLR7, wat de productie en uitscheiding induceert van pro-inflammatoire cytokinen, die vervolgens een sterke, tumorspecifieke, celgemedieerde immuunrespons opwekken, vergelijkbaar met het veronderstelde werkingsmechanisme van BCG. Daarnaast kan imiquimod directe apoptotische effecten veroorzaken bij tumorcellen, TLR-onafhankelijke genexpressie stimuleren en interfereren

met signaaltransductie via adenosinereceptoren.

Imiquimod is effectief en goed verdraagbaar als middel voor de lokale behandeling van diverse goed- en kwaadaardige huidziekten. Lokale huidreacties vormen de meest voorkomende bijwerking [10]. Imiquimod is ook onderzocht als kandidaat voor systemische behandeling: wekelijkse toediening van hoge orale doses imiquimod is onderzocht in een fase-I-onderzoek bij patiënten met kanker [11]. Dosislimiterende bijwerkingen waren griepachtige symptomen en milde lymfocytopenie.

Blaaskanker is een interessant doelwit voor behandeling met imiquimod. Intravesicale toediening van imiquimod heeft overeenkomsten met lokale behandeling van huidziekten, waarbij imiquimod direct in contact komt met kwaadaardige cellen en direct cytotoxiciteit of apoptose

induceert, onafhankelijk van een immuunrespons. Intravesicale instillatie voorkomt bovendien verliezen door *first pass*-metabolisme en maakt het mogelijk het therapeutisch effect van een geneesmiddel te lokaliseren op de gewenste plaats, met minimale systemische bijwerkingen.

Experimenteel bewijs dat imidazochinolinen inderdaad geschikte behandelingen bieden voor blaaskanker, is geleverd door Smith e.a. [5]. Zij lieten zien dat TLR7 tot expressie komt in blaaskankercellijnen van muizen en mensen en dat imidazochinoline directe biologische effecten heeft op deze cellijnen: de levensvatbaarheid van de cellen nam af, apoptose en cytokineproductie werden geïnduceerd. De eerste resultaten in een immuuncompetent, orthotopisch muismodel wezen bovendien op antitumoreffecten in vivo [5, 6, 12].

Om na te gaan of het doelwit van imiquimod, TLR7, tot expressie komt in menselijke blaaskanker, evalueerden we de TLR7-expressie in 15 monsters. Positieve kleuring werd in alle monsters gevonden, met een gemiddelde van 90%, al was er enige heterogeniteit in intensiteit, die leidde tot *H*-scores met een spreiding van 90 tot 165.

Om de farmacokinetiek en eventuele toxiciteit van imiquimod-instillatie te beoordelen, werden experimenten uitgevoerd bij varkens. TLR7-expressie was vergelijkbaar in monsters van varkens- en humane blaasweefsels, wat de validiteit van het varkensmodel bevestigt. Bovendien komen de urogenitale stelsels van varkens en mensen sterk overeen, wat in een preklinische situatie de relevantste informatie oplevert.

Drie verschillende intravesicale instillaties met imiquimod en een blanco controleoplossing (melkzuur) werden onderzocht. Geen van de beproefde formuleringen beïnvloedde het algemene welbevinden van de varkens, te oordelen naar mucosa-histochemie, gedrag en inname van voedsel en water.

Analyse van plasma liet slechts een geringe systemische absorptie zien van imiquimod na intravesicale instillatie, ongeacht de gebruikte formulering. Grote hoeveelheden imiquimod werden teruggevonden in de urine na instillatie. Urinespiegels bij dieren die imiquimod ontvingen in een eenvoudige melkzuuroplossing (groep 1) waren bijna tweemaal zo hoog als die bij dieren die imiquimod ontvingen in formuleringen met poloxameer en HPBCD (groepen 2 en 3), maar dit verschil was niet significant. Niettemin waren de plasmaspiegels van imiquimod in groep 1 driemaal zo hoog als bij de groepen 2 en 3 ($P = 0,026$), waarschijnlijk doordat de formuleringen met poloxameer en HPBCD sterker en langduriger aan de blaaswand hechten. Dit effect duurde echter maar kort: na 8 uur kon bijna geen imiquimod meer worden aangetoond in varkensplasma en na 24 uur waren de urineconcentraties van imiquimod erg laag, ongeacht de formulering van imiquimod. Het is mogelijk dat de formuleringen 2 en 3 leiden tot langer aanhoudende membraanspiegels van imiquimod.

Plasmaspiegels van interleukine 6 waren vergelijkbaar in alle groepen; maximumwaarden werden bereikt 8 uur na de intravesicale instillatie, waarschijnlijk meer als gevolg

van de stressreactie na algehele anesthesie en blaaskatheterisatie dan als gevolg van immuunstimulatie door imiquimod. Bovendien waren plasmaspiegels van imiquimod te laag om fysiologisch van belang te zijn.

Histopathologische beoordeling van de blaaswand liet de beoogde ontstekingsreacties zien in de met imiquimod behandelde groepen. Behalve deze beoogde ontstekingsreactie zijn geen afwijkingen waargenomen. Enkel de vasculitis wijst op een zekere toxiciteitsreactie, al was deze tijdelijk. Vasculitis werd niet waargenomen bij dieren die na 7 dagen werden gedood. Het is niet mogelijk met deze kleine aantallen per groep zinvolle onderlinge vergelijkingen te maken; er werden evenwel geen wezenlijke verschillen waargenomen tussen de onderzochte imiquimod-formuleringen.

Het huidige onderzoek was specifiek gericht op de toxiciteit van imiquimod in verschillende formuleringen en vormt een uitbreiding van het onderzoek van Hayashi e.a. [12], die verschillende formuleringen met imiquimod en verschillende verhoudingen van melkzuur, poloxameer en HPBCD onderzochten bij muizen. Formuleringen met poloxameer verlaagden bij muizen de systemische absorptie van imiquimod en verminderden significant de systemische en lokale inductie van *keratinocyte-derived chemokine*. De toevoeging van HPBCD (om stabiliteit en oplosbaarheid te vergroten) verlaagde de systemische en lokale concentraties van tumornecrosefactor α en *keratinocyte-derived chemokine*. In dit onderzoek hebben we dergelijke verschillen niet gevonden. De effecten bij muizen zijn echter alleen waargenomen bij hoge doseringen en in dit onderzoek is imiquimod toegepast in een lagere concentratie (0,5%) dan die in de muisonderzoeken (1%). Bovendien resulteren de verschillende verhoudingen van volume en oppervlakte bij muis- en varkensblazen in een extra verlaging van mogelijke systemische effecten. Bijgevolg was voorzien dat het huidige onderzoek niet in staat zou zijn tussen de groepen verschillen in toxiciteit aan te tonen.

Conclusie

Intravesicaal geïnstilleerd imiquimod wordt door varkens goed verdragen, is niet toxisch voor de blaaswand, en formuleringen met poloxameer en HPBCD verblijven langer in de blaas met minder systemische absorptie. Het veiligheidsprofiel van intravesicaal imiquimod lijkt gunstiger dan dat van gangbare therapieën zoals BCG. Gezien de sterk overeenkomende farmacokinetische en veiligheidskenmerken van de formuleringen in de groepen 2 en 3, zullen verdere effectiviteitsonderzoeken worden gestart met 0,5% imiquimod in 0,1 mol/L melkzuur, 16% poloxameer 407 en 5% HPBCD.

Wij danken de personele ondersteuning en dienstverlening door het Centraal Dierenlaboratorium van het Radboudumc.

Roberto Maj is werknemer bij Telormedix SA; Lorenzo M. Leoni is werknemer en bestuurslid van Telormedix SA; J. Alfred Witjes is betaald consultant voor Telormedix SA. Bron van financiering: Telormedix SA.

Literatuur

- 1 Babjuk M, Oosterlinck W, Sylvester R, et al. EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol*. 2008 aug;54(2):303-14.
- 2 Witjes JA, Palou J, Soloway M, et al. Clinical practice recommendations for the prevention and management of intravesical therapy-associated adverse events. *Eur Urol Suppl* 2008 okt;7(10):667-74.
- 3 Hemmi H, Kaisho T, Takeuchi O, et al. Small anti-viral compounds activate immune cells via the TLR7 MyD88-dependent signaling pathway. *Nat Immunol*. 2002 feb;3(2):196-200.
- 4 Tying S, Conant M, Marini M, van der Meijden W, Washenik K. Imiquimod; an international update on therapeutic uses in dermatology. *Int J Dermatol*. 2002 nov;41(11):810-6.
- 5 Smith EB, Schwartz M, Kawamoto H, et al. Antitumor effects of imidazoquinolines in urothelial cell carcinoma of the bladder. *J Urol*. 2007 jun;177(6):2347-51.
- 6 Liu H, Schwartz MJ, Hwang DH, Scherr DS. Tumour growth inhibition by an imidazoquinoline is associated with c-Myc down-regulation in urothelial cell carcinoma. *BJU Int*. 2008 apr;101(7):894-901.
- 7 Sylvester RJ, van der Meijden AP, Lamm DL. Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol*. 2002 nov;168(5):1964-70.
- 8 Malmström PU, Sylvester RJ, Crawford DE, et al. An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guérin for non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol*. 2009 aug;56(2):247-56.
- 9 Schön MP, Schön M. Imiquimod: mode of action. *Br J Dermatol*. 2007 dec;157 Suppl 2:8-13.
- 10 Geisse J, Caro I, Lindholm J, Golitz L, Stampone P, Owens M. Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from two phase III, randomized, vehicle-controlled studies. *J Am Acad Dermatol*. 2004 mei;50(5):722-33.
- 11 Witt PL, Ritch PS, Reding D, et al. Phase I trial of an oral immunomodulator and interferon inducer in cancer patients. *Cancer Res*. 1993 nov 1;53(21):5176-80.
- 12 Hayashi T, Crain B, Corr M, et al. Intravesical Toll-like receptor 7 agonist R-837: optimization of its formulation in an orthotopic mouse model of bladder cancer. *Int J Urol*. 2010 mei;17(5):483-90.

NEDERLANDS FARMACEUTISCH ONDERZOEK IN DE INTERNATIONALE LITERATUUR

2015;9:E1525

Medicatiebeoordeling bij patiënten met verstandelijke beperking en gedragsproblemen

Bart van den Bemt

Mensen met een verstandelijke beperking gebruiken dikwijls veel en langdurig geneesmiddelen. Met name antipsychotica worden regelmatig gebruikt, naar schatting door 25-60% van alle mensen met een verstandelijke beperking. Omdat de communicatie met deze mensen vaak suboptimaal is, is het moeilijk de therapie te evalueren, bijwerken goed te monitoren en het effect te objectiveren. Geneesmiddelen (en dan met name antipsychotica) worden dan ook vrijwel alleen bij noodsituaties gestart en gestopt.

Tot op heden hebben publicaties over medicatie-interventies bij verstandelijk beperkten zich vooral gericht op het stoppen van medicatie. Scheifes e.a. hebben echter gekeken naar het effect van medicatiebeoordeling bij mensen met matige verstandelijke beperking tot borderline-stoornis en gedragsproblemen, die zijn opgenomen in een psychiatrische instelling én minimaal één antipsychoticum gebruiken. Voor de studie zijn 55 cliënten geïncludeerd, die totaal 284 geneesmiddelen gebruikten. De interventie bestond uit een medicatiebeoordeling door een apotheker en een farmaceutische anamnese door een verpleegkundige en de patiënt (op basis van een formulier).

Deze farmaceutische anamnese keek naar geneesmiddelgebruik, ervaringen, begrip, cognities en het gebruik van zelfmedicatie. Bij 106 geneesmiddelen (34%) zijn (door de apotheker en de psychiater vastgestelde) medicatiegerelateerde problemen gezien. Hiervan was het meest voorkomende probleem het feit dat er geen indicatie voor het geneesmiddel was. 60% van alle adviezen zijn ingewilligd. De studie heeft niet gekeken naar het effect van een medicatiebeoordeling op klinische uitkomsten.

- Scheifes A, Egberts TC, Stolker JJ, Nijman HL, Heerdink ER. Structured medication review to improve pharmacotherapy in people with intellectual disability and behavioural problems. *J Appl Res Intellect Disabil*. 2015 Apr 16. [online prepublicatie]

van den Bemt B. Medicatiebeoordeling bij patiënten met verstandelijke beperking en gedragsproblemen. *PW Wetenschappelijk Platform*. 2015;9:e1525.