

# Selectineremming als anti-adhesieve therapie bij sikkelcelziekte

Anti-adhesive therapy by selectin inhibition in sickle cell disease

dr. B.J. Biemond

## Samenvatting

Sikkelcelziekte kenmerkt zich door een chronische hemolytische anemie en recidiverende vaso-occlusie met als gevolg ischemie, inflammatoire respons en hevige pijn. De ziekte leidt tot veel morbiditeit, orgaanschade en een sterk verminderde levensverwachting. Recent onderzoek heeft laten zien dat selectines een belangrijke rol spelen bij het ontstaan van vaso-occlusie. Selectines zijn eiwitten die tot expressie worden gebracht op het endotheel en verantwoordelijk zijn voor de adhesie van leukocyten, erythrocyten en trombocyten. Anti-adhesieve therapie bleek effectief bij de behandeling van sikkelcelcrisen in een recent afgeronde gerandomiseerd fase 2-onderzoek en kan een waardevolle aanvulling zijn op de behandeling van sikkelcelziekte. In dit artikel wordt een overzicht gegeven van selectineremmende therapie bij sikkelcelziekte.

(*Ned Tijdschr Hematol* 2016;13:270-4)

## Summary

Sickle cell disease is characterized by chronic hemolytic anemia and recurrent vaso-occlusion resulting in ischemia, inflammatory response and severe pain. Sickle cell disease is associated with high morbidity, organ damage and reduced life expectancy. Recently is demonstrated that selectins play an important role in the initiation of vaso-occlusion. Selectins are transmembrane proteins that are exposed at the endothelial surface and are responsible for cell adhesion of leukocytes, erythrocytes and platelets. Anti-adhesive therapy by selectin inhibition has demonstrated to be effective in a randomized phase 2 clinical trial and could be a valuable new form of therapy in sickle cell disease. In this manuscript a review of selectin inhibition in the treatment of sickle cell disease is given.

## Achtergrond

Sikkelcelziekte is een van de meest frequente genetische aandoeningen in de wereld met naar schatting meer dan 13 miljoen patiënten wereldwijd. In Nederland is er, net als in andere Noord-Europese landen, sprake van een toename in het aantal patiënten met sikkelcelziekte ten gevolge van toegenomen migratie. Sikkelcelziekte komt oorspronkelijk uit Centraal- en West-Afrika, het Midden-Oosten en India, maar kan nu vrijwel in de gehele wereld worden gevonden.<sup>1</sup> In Nederland zijn er naar schatting 1.500-2.000 patiënten die voor het grootste deel afkomstig zijn uit Suriname en de Nederlandse Antillen en meer recentelijk uit voornamelijk West-Afrikaanse landen. Sikkelcelziekte leidt tot aanzienlijke morbiditeit en gaat gepaard met een sterk ver-

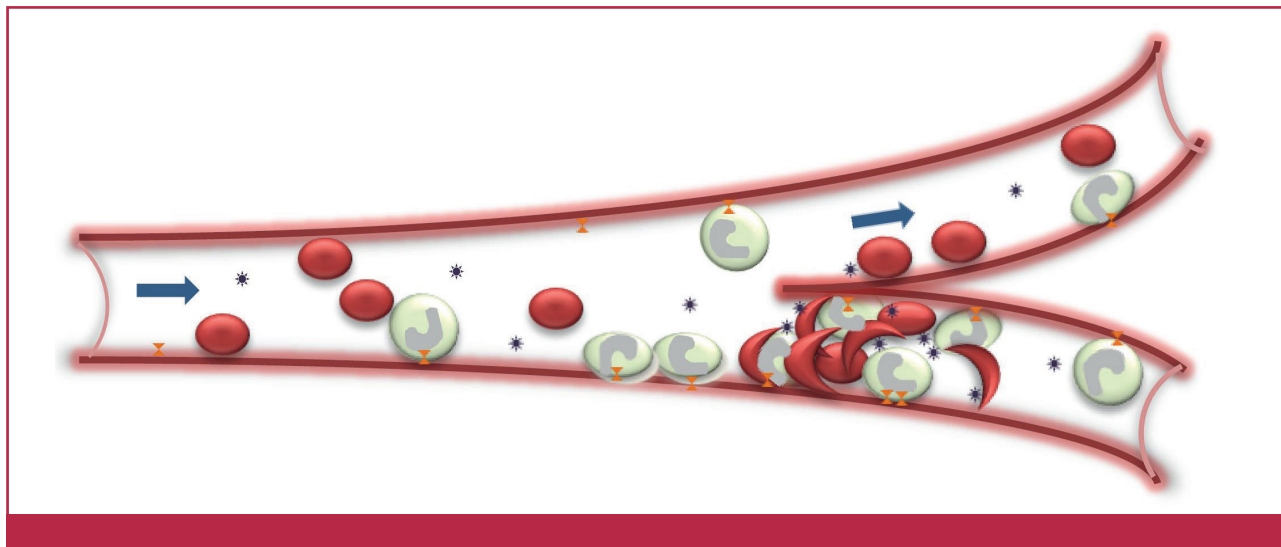
minderde levensverwachting.<sup>2</sup> Door een aantal veranderingen in de zorg voor kinderen met sikkelcelziekte, zoals de in 2007 geïntroduceerde hielprikscreening op sikkelcelziekte, profylactische antibiotica, vaccinaties en screening op cerebrale vaatstenosen met behulp van transcraniële Doppler, is de levensverwachting van kinderen met sikkelcelziekte spectaculair verbeterd, waardoor >95% van de kinderen die worden geboren met sikkelcelziekte de volwassen leeftijd bereikt.<sup>3</sup> Sikkelcelziekte is het gevolg van een puntmutatie in het  $\beta$ -globinegen dat tot polymerisatie van hemoglobine leidt bij desaturatie. Het gepolymeriseerde hemoglobine leidt tot vervormde en stijve erythrocyten (sikkelcellen) met als gevolg chronische hemolytische anemie. De

Correspondentie graag richten aan dhr. dr. B.J. Biemond, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Academisch Medisch Centrum, Meibergdreef 9, 1105 AZ, Amsterdam, tel.: 020 566 57 85, e-mailadres: b.j.biemond@amc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

**Trefwoorden:** selectines, sikkelcelziekte, therapie, vaso-occlusie

**Keywords:** selectins, sickle cell disease, therapy, vaso-occlusion



**Figuur 1.** Adhesie van leukocyten, erythrocyten en trombocyten leidend tot vaso-occlusie.

polymerisatie en chronische hemolyse gaat gepaard met complexe interactie van leukocytose, neutrofielenactivatie, endotheelschade, cytokinerelase, oxidatieve stress en versterkte celadhesie. Dit pro-inflammatoire proces leidt uiteindelijk tot microvasculaire vaso-occlusie ter hoogte van de postcapillaire venulen, wat aanleiding geeft tot weefselischemie en de karakteristieke hevige pijnklachten. Dit laatste is een van de belangrijkste uitingvormen van sikkelcelziekte, waarmee patiënten zich vaak acuut presenteren. De behandeling van vaso-occlusieve pijnaanvallen is symptomatisch en bestaat uit hydratatie en adequate pijnstilling waarvoor in de meeste gevallen opiaten noodzakelijk zijn. De enige tot op heden bewezen effectieve preventieve therapie van dergelijke pijnaanvallen is hydroxycarbamide (Hydrea, Siklos).<sup>4</sup>

In de laatste jaren is er veel meer inzicht gekomen in de complexe pathofysiologie van deze recidiverende vaso-occlusieve crises. Anders dan aanvankelijk werd aangenomen, lijkt versterkte leukocytenadhesie aan het endotheeloppervlak een belangrijk initiërend proces te zijn bij het ontstaan van microvasculaire vaso-occlusie (zie *Figuur 1*). De vertraagde bloeddorstrooming als gevolg van de versterkte leukocytenadhesie leidt tot desaturatie van passerende erythrocyten, waarna polymerisatie van het hemoglobine, sikkelcelvorming en uiteindelijk vaso-occlusie optreedt. In diverse in-vitro-modellen en muismodellen van sikkelcelziekte is het belang van deze versterkte celadhesie nader onderzocht, waaruit blijkt dat selectines hierin een belangrijke rol spelen.<sup>5</sup> In de laatste jaren zijn verschillende selectineremmende geneesmiddelen ontwikkeld die nu

in gerandomiseerde fase 2- en fase 3-studies worden onderzocht.

### Rol van selectines

Selectines zijn transmembraneuze lectines die tot expressie kunnen worden gebracht op endotheelcellen en circulerende bloedcellen en zijn verantwoordelijk voor zowel cel-celadhesie als voor adhesie aan het endotheel. Selectines kunnen in experimentele modellen in korte tijd tot expressie worden gebracht op endotheelcellen na inductie met inflammatoire cytokines zoals tumornecrosefactor (TNF), maar ook door trombine of histamine. Selectines spelen een belangrijke rol bij de 'homing' van leukocyten bij acute en chronische ontstekingsprocessen. Er worden verschillende selectines onderscheiden die in meer of mindere mate specifiek zijn voor bepaalde bloedcellen. Zo worden L- en P-selectine tot expressie gebracht op circulerende bloedcellen en E-selectine op endotheelcellen, waar ze een belangrijke rol spelen bij de celadhesie tijdens acute inflammatie. Versterkte selectine-expressie is in verband gebracht met post-ischemische inflammatie, atherosclerose en ontstekingsprocessen. Bij patiënten met sikkelcelziekte is duidelijk geworden dat er sprake is van chronische inflammatie die aanleiding geeft tot verhoogde endotheelactivatie, stollingsactivatie en leukocytenactivatie. Deze chronische pro-inflammatoire staat leidt tot verhoogde celadhesie waarbij selectines een belangrijke rol spelen. Tijdens vaso-occlusieve crises is er sprake van een sterke toename in selectine-expressie, wat tot versterkte celadhesie en uiteindelijk vaso-occlusie aanleiding geeft. Uit preklinisch onderzoek is gebleken dat

vooral P-selectine en E-selectine een grote rol spelen in de verhoogde leukocyten- en erythrocytenadhesie aan endotheel bij sikkelcelziekte. In verschillende muismodellen is de rol van selectines in de microcirculatie en experimenteel geïnduceerde vaso-occlusie onderzocht.

### Dierexperimentele studies

In transgene muismodellen van sikkelcelziekte zijn verschillende selectieve P-selectine- of pan-selectineremmers (P-, L-, en E-selectine) onderzocht. Uit deze experimenten is gebleken dat door remming van P-selectine en E-selectine adhesie van leukocyten en erythrocyten in transgene sikkelcelmuizen kan worden geremd en dat de microcirculatie daarmee verbeterde.<sup>6</sup> Ook experimentele vaso-occlusie, wat meestal wordt opgewekt door hypoxie of de toediening van een pro-inflammatoire stimulus (zoals TNF), kon worden voorkomen door P- en/of E-selectine te remmen. In deze dierexperimenten werd gebruikgemaakt van verschillende soorten selectineremmers zoals P-selectineneutraliserende aptamer of monoklonale antistoffen die beide effectief bleken in het verbeteren van de microcirculatie en experimenteel geïnduceerde vaso-occlusie konden voorkomen.<sup>7</sup> Interessant is het effect van heparine. Standaard ongefractioneerde heparine heeft een sterk P-selectineremmend effect.<sup>8</sup> Behandeling van sikkelcelmuizen met heparine (in een dosis van 32 U/kg) kon experimenteel geïnduceerde vaso-occlusie vrijwel even effectief remmen als een P-selectineneutraliserende monoklonale antistof.<sup>9</sup> Rivipansel (GMI-1070) is een glycoproteïne dat een remmende werking heeft op zowel E-selectine als P-selectine (en in minder mate L-selectine) en in verschillende diermodellen effectief bleek in het remmen van zowel erythrocyten- als leukocytenadhesie en experimentele vaso-occlusie kon voorkomen.<sup>6</sup> Een ander middel waar nu de eerste klinische studies mee zijn gestart is sevuparin. Sevuparin is een gemodificeerd laagmoleculairgewicht-heparine (LMWH) waaruit de antitrombinebindingsplaats is verwijderd. In dierexperimentele studies bleek sevuparin niet alleen een krachtige remmer van P-selectine, maar ook nauwelijks effect te hebben op de stolling, waardoor veel hogere plasmaconcentraties konden worden bereikt in vergelijking met een ongemodificeerd LMWH.

### Klinische studies

De eerste klinische studie naar het effect van P-selectineremming is misschien wel een studie uit 2007 waarin patiënten met een sikkelcelcrise werden gerandomiseerd tussen placebo en tinzaparine, een LMWH, in thera-

peutische dosis.<sup>10</sup> In deze studie werd een significant verschil gevonden in de opnameduur ( $7,08 \pm 1,8$  versus  $12,06 \pm 2,2$  dagen) en de duur van hevige pijn ( $2,57 \pm 0,45$  versus  $4,35 \pm 0,78$  dagen) tussen de 2 studiegroepen. Ondanks de opmerkelijk lange gemiddelde opnameduur in de controlegroep van de studie toonde de studie aan dat tinzaparine de duur van een sikkelcelcrise kan bekorten. In latere studies werd aangetoond dat tinzaparine naast zijn bekende antistollende werking, ook een krachtige P-selectineremmer is en wordt steeds aannemelijker dat de positieve effecten van tinzaparine in deze studie achteraf waarschijnlijk worden verklaard door de remming van P-selectine, wat in de discussie van de studie verder niet wordt genoemd. Het is echter niet uitgesloten dat de anticoagulante werking ook een bijdrage heeft geleverd aan deze observatie. Recentelijk zijn de resultaten gepubliceerd van een gerandomiseerde fase 2-studie waarin sikkelcelpatiënten met een vaso-occlusieve crisis werden gerandomiseerd tussen de pan-selectineremmer rivipansel (GMI-1070) en placebo.<sup>11</sup> In deze multicentrumstudie werden 76 patiënten gerandomiseerd en was het primaire eindpunt de duur tot het einde van de crisis, gedefinieerd als verminderde pijn, geen noodzaak meer voor parenterale pijnstilling en bereidheid uit het ziekenhuis ontslagen te worden (naar inzicht van de patiënt en arts). Secundaire eindpunten waren de mate van pijn, optreden van complicaties en cumulatief opiaatgebruik. Bij analyse bleken patiënten behandeld met rivipansel een kortere duur van hun crisis te hebben (104 versus 145 uur), wat echter niet statistisch significant bleek. Wel werd er een indrukwekkend en significant verschil gevonden in de cumulatieve opiaatconsumptie tussen de 2 studiegroepen. Patiënten behandeld met rivipansel gebruikten ruim 80% minder opiaten tijdens hun opname dan de patiënten in de controlegroep. Op grond van deze resultaten is een wereldwijde gerandomiseerde fase 3-studie gestart die op dit moment in een groot aantal centra in met name de Verenigde Staten loopt. Een andere recent gestarte studie is een multicentrum gerandomiseerde fase 2 studie met sevuparin met dezelfde eindpunten als de rivipansel-studie. De studie loopt nu sinds eind oktober in het AMC, naast centra in Libanon, Turkije, Bahrein en het Erasmus MC.

Interessant is te filosoferen over hoe een selectineremmer de duur van een crisis kan beïnvloeden, terwijl ten tijde van een crisis al op grote schaal vaso-occlusie is opgetreden. Dit moet waarschijnlijk worden verklaard door het feit dat vaso-occlusie een dynamisch proces is

waarin ischemie en reperfusie elkaar afwisselen en waarbij de pijn zich ook tijdens de opname op wisselende plaatsen kan manifesteren. Selectineremming tijdens een reeds manifeste sikkelcelcrise zou dus nieuwe vaso-occlusie en ischemie kunnen voorkomen en daarmee de crisis kunnen bekorten. Vanuit pathofysiologisch oogpunt zou selectineremmende therapie om die reden misschien nog wel geschikter zijn als preventieve therapie teneinde de celadhesie te remmen die aan een vaso-occlusieve crisis voorafgaat. In een kleine fase 2-studie, waarin 41 patiënten werden gerandomiseerd tussen een orale P-selectineremmer (pentasan polysulfate sodium) en placebo, werden verlaagde sVCAM-spiegels gevonden in het plasma van de experimentele groep, wat mogelijk wijst op verminderde endotheelactivatie, maar werd geen effect op pijn waargenomen.<sup>12</sup> De studie moest echter om economische redenen voortijdig worden afgebroken (terugtrekkende sponsor), waardoor de 'power' van de studie om klinische effectiviteit aan te tonen sterk verminderd was. Als de 2 klinische studies aan de verwachtingen voldoen, zal selectineremming in eerste instantie een nieuwe therapeutische interventie kunnen worden voor de behandeling van patiënten met een acute pijnlijke crisis. Een mogelijkheid om dit preventief in te zetten in de toekomst is patiënten de mogelijkheid te geven zichzelf een selectineremmer toe te dienen op het moment dat een crisis begint in de thuissituatie. De meeste patiënten voelen een dergelijke aanval vaak al enige uren en soms zelfs dagen van tevoren aankomen. De waarde van een dergelijke preventieve interventie of vroege behandeling zal uiteraard nog moeten worden uitgezocht. Een alternatief is een orale selectineremmer te ontwikkelen.

### Bespreking

Sikkelcelziekte is wereldwijd een veel voorkomende aandoening en kenmerkt zich door ernstige morbiditeit en mortaliteit op relatief jonge leeftijd. De belangrijkste oorzaak van overlijden is meestal gerelateerd aan complicaties van een acute vaso-occlusieve crisis, zoals acuut 'chest'-syndroom, respiratoire insufficiëntie of multi-organafalen. Effectievere en vooral meer gerichte behandeling van een sikkelcelcrisis zoals selectineremming kan hopelijk de morbiditeit en mortaliteit van vaso-occlusieve crises verminderen. Minstens zo belangrijk zijn de in de rivipansel-studie gerapporteerde effecten op het opiaatgebruik en de duur van de crisis die door patiënten als zeer belastend en extreem pijnlijk wordt ervaren en een directe relatie hebben met de kwaliteit van leven.<sup>13,14</sup> De huidige lopende studies zullen moeten

bevestigen dat selectineremming inderdaad een effectieve behandeling blijkt te zijn voor de behandeling van een vaso-occlusieve crisis. Met de beschikbaarheid van een effectieve behandeling van vaso-occlusieve crises opent zich ook de mogelijkheid patiënten in een eerdere fase te gaan behandelen om het ontstaan van een crisis te voorkomen. Bekend is dat de meeste patiënten vaak al enige uren tot dagen voorafgaand aan hun presentatie in het ziekenhuis klachten hebben van vaso-occlusie.<sup>15</sup> Vroege behandeling met een selectineremmer in de thuissituatie zou in die gevallen mogelijk het ontwikkelen van een volledige sikkelcelcrisis kunnen voorkomen. Daarmee zou selectineremming een aanvulling kunnen zijn op de behandeling met hydroxycarbamide. Belangrijk is echter zich te realiseren dat in vrijwel alle centra in de wereld hydroxycarbamide onvoldoende wordt voorgeschreven, ondanks het feit dat hydroxycarbamide, mits adequaat ingenomen en gedoseerd, niet alleen vaso-occlusieve crises en acute complicaties met 50% kan reduceren, maar ook sterfte en cerebrale complicaties kan voorkomen.<sup>16-18</sup>

### Conclusie

Selectines lijken een belangrijke rol te spelen in de pathofysiologie van vaso-occlusie bij sikkelcelziekte. Met anti-adhesieve therapie is er nu mogelijk een nieuwe behandeling voor patiënten die zich met een sikkelcelcrisis presenteren met als doel de crisis te bekorten en de morbiditeit te verlichten. De eerste gerandomiseerde fase 2-studie met een pan-selectineremmer (rivipansel) laat bemoedigende resultaten zien met een sterke reductie in opiaatbehoefte. Het wachten is op de resultaten van de lopende studies waarvoor voor wat betreft de behandeling met sevuparin nu ook in Nederland patiënten worden geïncludeerd. Ondanks de relatieve vroege fase van het klinisch onderzoek naar de effectiviteit van selectineremming bij sikkelcelziekte, is het bemoedigend om te zien dat er sinds enkele jaren wereldwijd initiatieven worden genomen om therapieën te ontwikkelen die gericht zijn op nieuw ontdekte aangrijpingspunten in de pathofysiologie van sikkelcelziekte.

### Referenties

1. Piel FB, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet* 2013;381:142-51.
2. Hamideh D, et al. Sickle cell disease related mortality in the United States (1999-2009). *Pediatr Blood Cancer* 2013;60:1482-6.
3. Quinn CT, et al. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. *Blood* 2010;115:3447-52.

## Aanwijzingen voor de praktijk

- 1. Pijnaanvallen bij sikkelcelziekte zijn het gevolg van vaso-occlusie van postcapillaire venulen met hypoxie, ischemie en inflammatie tot gevolg.**
- 2. Selectines (P- en E-selectine) spelen een belangrijke rol in het ontstaan van vaso-occlusie bij sikkelcelziekte.**
- 3. Met de ontwikkeling van specifieke selectineremmers en de toepassing van in het bijzonder gemodificeerde heparines, is er een nieuwe behandelingsmogelijkheid voor patiënten die zich presenteren met een sikkelcelcrise.**
- 4. Gerandomiseerd fase 2-onderzoek met een P- en E-selectineremmer heeft laten zien dat de duur en de pijn van een crise kan worden gereduceerd met anti-adhesieve therapie.**
- 5. Op dit moment vindt een multicentrum gerandomiseerde fase 2-studie plaats naar de werkzaamheid van een P-selectineremmer (sevuparin) bij de behandeling van sikkelcelcrisen in Nederland.**

4. Wong TE, et al. Update on the use of hydroxyurea therapy in sickle cell disease.

Blood 2014;124:3850-7.

5. McEver RP. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall. Cardiovasc Res 2015;107:331-9.

6. Telen MJ. Cellular adhesion and the endothelium: E-selectin, L-selectin, and pan-selectin inhibitors. Hematol Oncol Clin North Am 2014;28:341-54.

7. Gutsaeva DR, et al. Inhibition of cell adhesion by anti-P-selectin aptamer: a new potential therapeutic agent for sickle cell disease. Blood 2011;117:727-35.

8. Matsui NM, et al. Heparin inhibits the flow adhesion of sickle red blood cells to P-selectin. Blood 2002;100:3790-6.

9. Embury SH, et al. The contribution of endothelial cell P-selectin to the microvascular flow of mouse sickle erythrocytes in vivo. Blood 2004;104:3378-85.

10. Qari MH, et al. Reduction of painful vaso-occlusive crisis of sickle cell anaemia by tinzaparin in a double-blind randomized trial. Thromb Haemost 2007;98:392-6.

11. Telen MJ, et al. Randomized phase 2 study of GMI-1070 in SCD: reduction in time to resolution of vaso-occlusive events and decreased opioid use. Blood 2015;125:2656-64.

12. Kutlar A, et al. A potent oral P-selectin blocking agent improves microcirculatory blood flow and a marker of endothelial cell injury in patients with sickle cell

disease. Am J Hematol 2012;87:536-9.

13. Van Tuijn CF, et al. Pain rate and social circumstances rather than cumulative organ damage determine the quality of life in adults with sickle cell disease. Am J Hematol 2010;85:532-5.

14. Van Beers EJ, et al. Sickle cell disease-related organ damage occurs irrespective of pain rate: implications for clinical practice. Haematologica 2008;93:757-60.

15. Ballas SK, et al. Sickle cell pain: a critical reappraisal. Blood 2012;120:3647-56.

16. Charache S, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. N Engl J Med 1995;332:1317-22.

17. Voskaridou E, et al. The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes: results of a 17-year, single-center trial (LaSHS). Blood 2010;115:2354-63.

18. Ware R, et al. Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia-TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWITCH): a multicentre, open-label, phase 3, non-inferiority trial. Lancet 2016;387:661-70.

Ontvangen 14 maart 2016, geaccepteerd 8 augustus 2016.