



Tanja Rosalinde Zijp

Samenvatting proefschrift T.R. Zijp

“Optimising tacrolimus treatment in solid organ transplant recipients - Bioanalysis, clinical variability, and monitoring”

Promotie: 11 september 2024
Rijksuniversiteit Groningen

Promotors:

Prof. dr. D.J. Touw
Prof. dr. S.J.L. Bakker
Prof. Dr. J.F.M. van Boven

Co-promotor:

Dr. C.T. Gan

Solide orgaantransplantatie is een effectieve, levensreddende interventie om de orgaanfunctie te herstellen. Het belangrijkste aandachtspunt na transplantatie is het voorkomen van afstoting van het orgaan. Daarom worden patiënten behandeld met immunosuppressieve medicatie, waarbij tacrolimus een hoeksteen in de behandeling is. De therapie met tacrolimus is complex vanwege een delicaat evenwicht tussen effectiviteit en bijwerkingen, en een grote variabiliteit in blootstelling bij een vaste dosis. Om deze redenen wordt therapeutische geneesmiddel monitoring (in het Engels *Therapeutic Drug Monitoring*, afgekort als TDM) aanbevolen, hetgeen dosispersonalisatie op basis van gemeten geneesmiddelconcentraties van tacrolimus mogelijk maakt. Op het gebied van geneesmiddel monitoring van tacrolimus bestaan er verschillende uitdagingen, aangezien na transplantatie vaak bijwerkingen optreden en er risico op orgaanafstoting is.

Het doel van dit proefschrift was om de therapie met tacrolimus te optimaliseren bij ontvangers van een solide orgaantransplantatie. In dit werk werden de volgende aspecten van tacrolimus onderzocht: (I) meerdere benaderingen voor de bioanalyse van tacrolimus, (II) redenen voor klinische variabiliteit in tacrolimus spiegels, en (III) methoden voor het monitoren van de blootstelling aan tacrolimus. In **hoofdstuk 2** zijn verschillende benaderingen voor de bioanalyse van tacrolimus beschreven, waaronder metingen in verschillende vormen van patiëntmateriaal, het verbeteren van een systeemconfiguratie voor routine metingen in volbloed en de ontwikkeling van een meetmethode voor tacrolimus in plasma.

Hoofdstuk 2a bevat een systematisch literatuuronderzoek, in de vorm van een *scoping review*, dat liet zien hoe *Dried Blood Spots* (gedroogde bloeddruppels, DBS), speeksel en hoofdhaar kunnen worden gebruikt voor het monitoren van chronisch toegediende geneesmiddelen, waaronder tacrolimus. Dit monitoren omvat zowel TDM als het beoordelen van therapietrouw. Deze methodes kunnen de acceptatie en toegankelijkheid voor de patiënt verbeteren, omdat de monsters thuis en/of pijnloos kunnen worden afgenomen. In dit review werd een uitgebreid overzicht gegeven van gepubliceerde bioanalyses met hun klinische validatiestatus, hetgeen werd opgebouwd uit informatie over of -en hoeveel- patiëntmonsters er waren gemeten, de gebruikte validatiemethoden en de beoordeling van de bruikbaarheid van de methode. In het review gaven we aanbevelingen voor verder



onderzoek, bijvoorbeeld duidelijkere richtlijnen voor klinische validatie van de nieuwe bioanalyse methoden om de interpretatie van hun waarde, acceptatie en gebruik in de routine zorg te verbeteren.

In **Hoofdstuk 2b** van het proefschrift gaan we dieper in op de noodzaak van klinische validatie van bioanalysemethoden voordat ze in de praktijk worden toegepast.

In **hoofdstuk 2c** wordt de ontwikkeling van een innovatief systeem voor vloeistofchromatografie in combinatie met massaspectrometrie (ofwel LC-MS/MS) beschreven. De opstelling bestond uit twee vloeistofchromatografen die binnen één behuizing waren aangesloten op één massaspectrometer. Hierbij werd gebruik gemaakt van om-en-om monsterinjecties door twee verschillende injectoren in één gedeelte autosampler. Dit maakt, ten opzichte van het oude systeem, een verdubbeling van het aantal metingen in dezelfde tijd mogelijk, zonder wijzigingen in de methode of de workflow. De geldigheid van de resultaten werd gecontroleerd met een prestatiekwalificatie, waaruit geen verschillen naar voren kwamen tussen de nieuwe 'dubbele LC'-MS/MS en het oude 'enkele' LC-MS/MS-systeem.

In **hoofdstuk 2d** wordt de analytische validatie beschreven van een gevoelige, eenvoudige en snelle methode voor de kwantificering van tacrolimus in plasma met behulp van LC-MS/MS. Tacrolimus wordt in volbloed gemeten, maar er is groeiende belangstelling voor plasma metingen, wat een twintig keer hogere meetgevoeligheid vereist. Daarnaast zijn er analytische uitdagingen op het gebied van stabiliteit en hemolyse. De ontwikkelde bioanalyse bleek haalbaar voor onderzoeksdoeleinden bij een grote groep transplantaatontvangers, waarbij ruim 2000 monsters zijn gemeten. Deze bioanalyse maakt verder onderzoek mogelijk naar plasma tacrolimus concentraties in relatie tot bijvoorbeeld bijwerkingen. Na de validatie van de plasma tacrolimus bioanalyse beschrijven we in **hoofdstuk 2e** het effect van hemolyse op de plasma tacrolimus meting. We vonden een positieve relatie tussen de hemolytische index (een semi-kwantitatieve maat voor vrij plasma hemoglobine, ofwel Hb) en de plasma tacrolimus concentratie, waarbij de verhouding plasma tot volbloed Hb evenredig was met de verhouding plasma tot volbloed tacrolimus. Voor een goede plasma tacrolimus analyse moet de integriteit van het patiëntmateriaal worden gecontroleerd met behulp van een meting van de hemolytische index. In dit hoofdstuk is een formule ontwikkeld om correctie van hemolyse mogelijk te maken voor onderzoeksdoeleinden of in bepaalde klinische gevallen waarin een herhaling van de bloedafname niet mogelijk is.

Hoofdstuk 3 richt zich op klinische variabiliteit en de verschillende factoren die kunnen bijdragen aan verschillen in gemeten tacrolimus concentraties, zowel tussen patiënten als binnen eenzelfde patiënt in de loop van de tijd. Het beschrijft hoe twee tacrolimus formuleringen een verschillende mate van geneesmiddelinteractie vertonen, en de invloed van geslacht en menopauzestatus op tacrolimus concentraties.

In **hoofdstuk 3a** wordt een prospectief observationeel, parallel open-label farmacokinetisch geneesmiddelinteractieonderzoek, uitgevoerd bij ontvangers van een longtransplantaat, beschreven. Patiënten gebruikten tacrolimus met onmiddellijke afgifte (IR-tac) of tacrolimus met verlengde afgifte (LCPT), en hadden een indicatie voor orale behandeling met voriconazol voor schimmelinfecties. Zelfs met een beperkt aantal deelnemers werden verschillen waargenomen tussen de twee tacrolimus formuleringen, waar er bij IR-tac een significant grotere tacrolimus blootstelling was ten gevolge van de geneesmiddelinteractie, zoals blijkt uit een grotere toename van het dosis-gecorrigeerde gebied onder de concentratie-tijdcurve.

In **hoofdstuk 3b** wordt een cross-sectioneel (dwarsdoorsnede) onderzoek, uitgevoerd onder TransplantLines-deelnemers om vast te stellen of menopauze het tacrolimus metabolisme beïnvloedt bij ontvangers van long-, nier- en levertransplantaten, beschreven. Vrouwen in de premenopauze (van



de leeftijd 30-45 jaar) werden vergeleken met vrouwen in de postmenopauze (leeftijd 50-65 jaar), waarbij mannen uit dezelfde leeftijdsgroepen werden gebruikt als controle voor mogelijke leeftijdseffecten. De dosis-gecorrigeerde dalspiegels van tacrolimus (C0/d-ratio's) waren bij postmenopauzale vrouwen hoger dan bij premenopauzale vrouwen, wat duidt op een lager metabolisme na de menopauze. Dit effect was niet significant bij mannen van dezelfde leeftijdsgroep. Er waren geen verschillen tussen mannen en vrouwen in de gemeten dalspiegels van tacrolimus, maar vrouwen hadden over het algemeen een significant hogere dosis nodig om deze concentraties te bereiken dan mannen. Longitudinaal onderzoek wordt aanbevolen, maar dit onderzoek impliceert dat tacrolimus mogelijk intensiever moet worden gemonitord bij vrouwen in de overgang.

Hoofdstuk 4 behandelde het objectief monitoren van geneesmiddelgebruik met behulp van slimme medicijnverpakkingen en bioanalytische methodes, waarbij de nadruk ligt op de ontwikkeling van nieuwe slimme medicijnverpakkingen en het gebruik van bioanalytische methoden als hulpmiddel voor het meten van therapietrouw, beiden om *personalised medicine* (op het individu afgestemde zorg) mogelijk te maken.

In **hoofdstuk 4a** wordt besproken dat therapie-ontrouw niet alleen voorkomt in de dagelijkse praktijk, maar ook in klinisch geneesmiddelenonderzoek, waarbij slimme medicijnverpakkingen kunnen worden gebruikt om op een objectieve manier de therapietrouw te meten. Er wordt geconcludeerd dat er formele richtlijnen moeten komen voor het meten van therapietrouw in klinische onderzoeken, en dat er kennis over therapietrouw nodig is voor implementatie van *personalised medicine*.

Hoofdstuk 4b toont vervolgens een *proof-of-concept*-studie waarin een slimme medicijnverpakking is getest voor praktisch gebruik. Het doel van het onderzoek was om de aanvaardbaarheid en technische robuustheid te testen van een prototype van een slim pilpotje, dat via een smartphone-app was verbonden met een online database. Het onderzoek werd uitgevoerd bij een kleine groep gezonde vrijwilligers, die gedurende 2 weken placebocapsules uit de verpakking haalden en vragenlijsten invulden over therapietrouw, bruikbaarheid van het systeem en verbeterpunten, gevolgd door een kort interview. In deze groep werd het slimme pilpotje goed geaccepteerd, alhoewel er enkele belangrijke punten werden vastgesteld die verder moesten worden geoptimaliseerd voordat het ontwerp geschikt zou zijn voor gebruik in klinische onderzoeken.

Ten slotte rapporteert **Hoofdstuk 4c** over de ontwikkeling en validatie van een bioanalyse methode van tacrolimus in hoofdhaar, inclusief resultaten van een *proof-of-concept* studie en de ATHAIRE-studie (Analyse van Tacrolimus in Haar). In totaal namen 14 long- en niertransplantaat ontvangers deel aan het ATHAIRE-onderzoek, waarbij gegevens over tacrolimus spiegels, doses, zelf-gerapporteerde therapietrouw en comediatie werden verzameld. Een periode van drie maanden aan tacrolimus gebruik werd beoordeeld binnen drie haarsegmenten van 1 centimeter, waarbij werd aangenomen dat het haar gemiddeld 1 cm per maand groeit. Het eerste segment, dat zich het dichtst bij de hoofdhuid bevindt ('de laatste maand') was gecorreleerd met de tacrolimus dalspiegels van die maand. In segmenten verder van de hoofdhuid was deze correlatie niet aanwezig, hoewel er nog wel tacrolimus in het haar meetbaar was. Dit toont aan dat haar een haalbare materiaalsoort is om tacrolimus in te meten, en dat deze methode potentieel heeft voor lange-termijn monitoring van tacrolimus.

