

ICM als sensibler Parameter zur Messung der Verbesserung der CFTR-Funktion bei CF-Patienten mit einer G551D Mutation unter Ivacaftor-Therapie

Simon Y. Gräber¹, Martin J. Hug², Olaf Sommerburg¹, Stephanie Hirtz¹, Julia Hentschel³, Andrea Heinzmann⁴, Christian Dopfer⁵, Angela Schulz⁵, Jochen G. Mainz³, Burkhard Tümmler⁵ und Marcus A. Mall¹

¹Sektion Pädiatrische Pneumologie & Allergologie und Mukoviszidose-Zentrum, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin und Abteilung Translationale Pneumologie, Zentrum für Translationale Lungenforschung (TLRC), Mitglied des Deutschen Zentrums für Lungenerkrankung, Universitätsklinikum Heidelberg, ²Apotheke, Universitätsklinikum Freiburg, ³Mukoviszidosezentrum, Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Jena, ⁴Klinik für Allgemeine Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Freiburg, ⁵Klinik für Pädiatrische Pneumologie, Allergologie und Neonatologie, Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin und Biomedical Research in Endstage and Obstructive Lung Disease Hannover (BREATH), Mitglied des Deutschen Zentrums für Lungenerkrankung, Medizinische Hochschule Hannover

Hintergrund

Sensitive Endpunkte zur Bestimmung der CFTR-Funktion könnten die Einführung mutationsspezifischer Therapien mit CFTR-Modulatoren bei Mukoviszidosepatienten mit seltenen nicht-G551D Mutationen unterstützen. Die intestinale Kurzschlussstrommessung (ICM) ist eine sensitive Methode zur funktionellen Analyse von mutiertem CFTR in Rektumschleimhautbiopsien (1). In Vorarbeiten konnten wir zeigen, dass mit dieser Methode Effekte des Potentiators 1-EBIO *ex vivo* detektiert werden können (2). Das Ziel dieser Studie war es zu untersuchen, ob ICM eine sensitive Methode ist, die Verstärkung der CFTR-abhängigen Cl⁻ Sekretion durch Ivacaftor-Therapie bei Mukoviszidosepatienten mit einer G551D Mutation zu erfassen.

Ergebnisse

	At baseline visit	After ivacaftor initiation	P value
Sweat Cl ⁻ , mmol/l	88.9 ± 20.3 (44.0 - 116.0)	41.5 ± 15.1 (16.0 - 63.0)	< 0.001
FEV1, % predicted	88.8 ± 21.7 (61.0 - 119.0)	97.8 ± 24.5 (49.0 - 128.0)	0.011
MEF25, % predicted	52.5 ± 32.1 (8.4 - 98.5)	75.6 ± 37.8 (9.5 - 118.0)	0.004
VCmax, % predicted	93.4 ± 15.5 (75.1 - 117.0)	99.0 ± 15.2 (74.0 - 119.0)	0.048
BMI, kg/m ²	18.0 ± 3.2 (14.2 - 23.3)	18.3 ± 3.1 (14.6 - 23.5)	0.035

Tabelle 2: Therapie mit Ivacaftor reduziert den Chloridgehalt im Schweiß und verbessert die Lungenfunktion bei CF Patienten mit einer G551D Mutation. Tabelle mit Patienteneigenschaften und Werte der Endpunkte Chloridgehalt im Schweiß, den Lungenfunktionsparametern forciertes expiratorisches Volumen in einer Sekunde (FEV1), midexpiratorischer Fluss bei 25% der forcierten Vitalkapazität (MEF25), maximale Vitalkapazität (VCmax) und dem BMI.

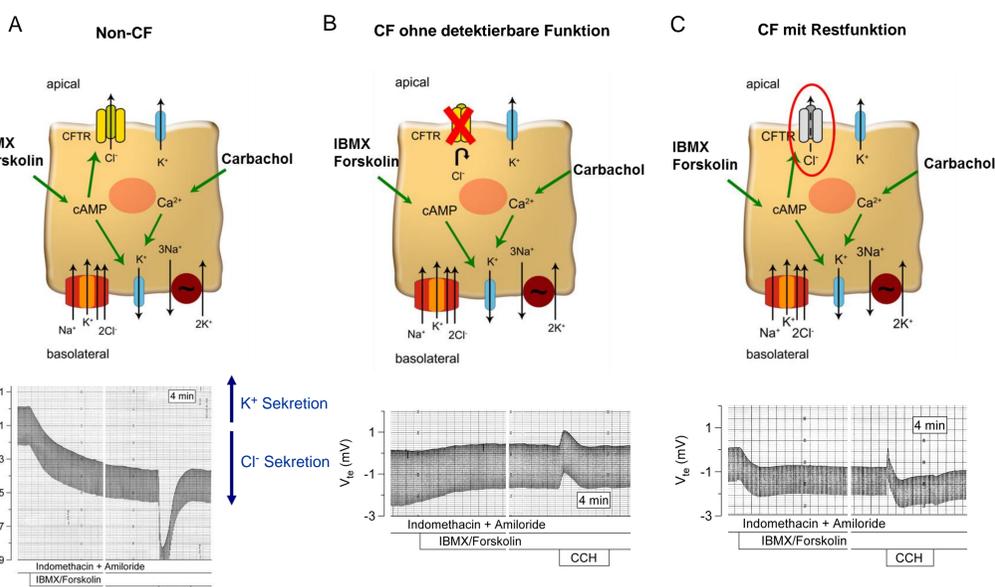


Abbildung 1: Intestinale Kurzschlussstrommessung korreliert mit dem Genotyp bei Mukoviszidose. (A-C) Modell und Originalaufzeichnungen der Effekte von cAMP-vermittelter (100 µmol/L IBMX und 1 µmol/L Forskolin, basolateral) und cholinerg (100 µmol/L Carbachol, basolateral) Aktivierung auf die transepitheliale Spannung (V_{te}) und Widerstand (R_{te}) in Rektumschleimhautbiopsien von (A) einem gesunden Probanden, (B) einem CF Patienten ohne messbare Cl⁻ Sekretion (R1162X/Q552X) und (C) einem CF Patienten mit residualer Cl⁻ Sekretion (S1159F/S1159F). Die Experimente wurden in Anwesenheit von Indomethacin und Amilorid durchgeführt. R_{te} wurde durch von Stromimpulsen induzierten V_{te} Ablenkungen bestimmt. CFTR= Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Kanal, cAMP = zyklisches Adenosinmonophosphat, IBMX= 3-isobutyl-1-methylxanthin. Originalaufzeichnungen adaptiert von (1).

Methoden

Rektumschleimhautbiopsien wurden von 12 Patienten mit einer G551D-CFTR Mutation vor und mindestens vier Wochen nach dem Start der Ivacaftor-Therapie entnommen. Rektales Gewebe wurde in mikro-Ussingkammern eingespannt und die CFTR-abhängige Cl⁻ Sekretion wurde nach cAMP (IBMX/Forskolin)- und Ca²⁺ (Carbachol)-vermittelter Stimulation erfasst. Rektumschleimhautbiopsien von 37 altersgeparten gesunden Kontrollen (mittleres Alter 15,4 ± 8,4 Jahre, Bereich: 5,1 bis 42,2 Jahre) wurden als Referenzwert für die normale CFTR-vermittelte Chloridtransport im rektalen Gewebe eingeschlossen.

Anzahl	12
Alter, Jahre	14,8 ± 11,9 (5,3 - 47,2)
Männlich	6 (50)
Genotyp	
G551D / F508del	10 (83)
G551D / 3849+10kbC>T	2 (17)
Pancreatic sufficiency	2 (17)

Tabelle 1: Klinische Eigenschaften der G551D-CF-Patienten. Daten sind als Mittelwert ± SD (Bereich) oder n (%) dargestellt

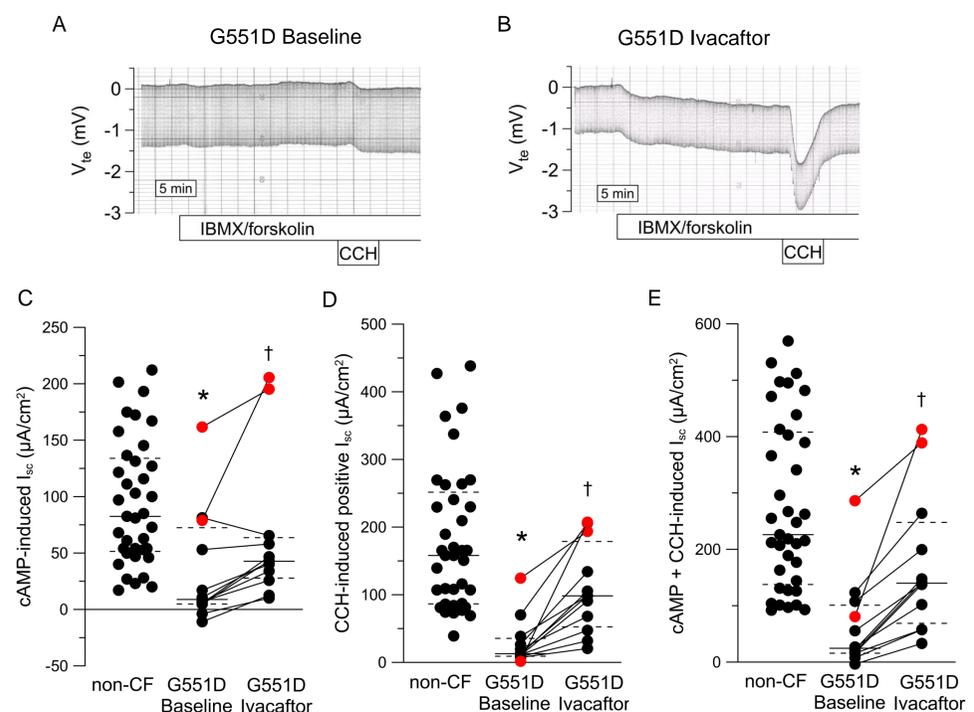


Abbildung 2: ICM ist eine sensitive Methode um die Verbesserung der CFTR-Funktion bei CF-Patienten mit einer G551D Mutation unter Ivacaftortherapie zu erfassen. (A, B) Originalaufzeichnungen der Effekte von cAMP-vermittelter und cholinerg Aktivierung auf die transepitheliale Spannung (V_{te}) und Widerstand (R_{te}) in Rektumschleimhautbiopsien von einem CF Patient (F508del/G551D) (A) vor und (B) unter Therapie mit Ivacaftor. (C-E) Zusammenfassung der Ergebnisse der (C) cAMP-induzierten (IBMX/Forskolin) und (D) cholinerg-induzierten (CCH) Kurzschlussströme (I_{sc}) und (E) der gesamten Lumennegativen Antwort (CCH + cAMP) von gesunden Kontrollen ($n = 37$) und G551D-Patienten ($n = 12$) mit exokriner Pankreasinsuffizienz (schwarze Punkte) oder Pankreassuffizienz (rote Punkte) vor und unter Therapie mit Ivacaftor. * und †, $P < 0.05$.

Zusammenfassung

1. Transfer von CFTR Modulatoren in die Klinik benötigt sensitive Biomarker zur Messung der CFTR Funktion
2. ICM ist eine sensitive Methode um die Verbesserung der Funktion von G551D-CFTR *in vivo* zu erfassen
3. ICM ist geeignet den Therapieerfolg auf der Ebene des CF Basisdefekts von Ivacaftor und potentiell anderen klinischen CFTR-Modulatoren bei Mukoviszidosepatienten mit nicht-G551D Mutationen zu messen

Referenzen

1. Hirtz S, Gonska T, Seydewitz HH, Thomas J, Greiner P, Kuehr J, Brandis M, Eichler I, Rocha H, Lopes AI, Barreto C, Ramalho A, Amaral MD, Kunzelmann K, Mall M. CFTR Cl⁻ channel function in native human colon correlates with the genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Gastroenterology*. 2004 Oct;127(4):1085-95.
2. Roth EK, Hirtz S, Duerr J, Wenning D, Eichler I, Seydewitz HH, Amaral MD, Mall MA. The K⁺ channel opener 1-EBIO potentiates residual function of mutant CFTR in rectal biopsies from cystic fibrosis patients. *PLoS One*. 2011;6(8):e24445.

Förderung

Unterstützt durch