

Retinoic acid metabolism blocking agents (RAMBAS) in hyperkeratotic disorders

Citation for published version (APA):

Verfaillie, C. J. (2007). *Retinoic acid metabolism blocking agents (RAMBAS) in hyperkeratotic disorders*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

Document status and date:

Published: 01/01/2007

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary

The outer layers of the human skin (epidermis) serve as the first line of defence between the internal body organs and the environment; it is a mechanical barrier that protects from pathogens, irritants and allergens whilst regulating the loss of water. Disturbance of the barrier can lead to significant water loss, the penetration of microbes and allergens and to the onset of inflammation. In order to produce and maintain that barrier function, the epidermis is a dynamic, continually renewing structure with a homeostasis that is carefully regulated. It is a stratifying epithelium consisting of stacked layers of keratinocytes connected by protein bridges called desmosomes. At the bottom, in the basal layers, are cells that continually divide and thereby regenerate the skin. As cells move outwards from the basal layer, they differentiate into their terminal state and desquamate. During this maturation process the physiology, chemical composition, shape and orientation of the keratinocytes changes. Under various pathophysiologic conditions, these orderly processes of growth and differentiation become disturbed and may lead to hyperkeratotic skin disorders like ichthyosis, psoriasis and acne. These three main hyperkeratotic disorders, their current and future treatment options are introduced in **Chapter 1**.

Hyperkeratosis (aberrant scaling) is mostly the result of an abnormal cell turnover caused by changes in the keratinocyte life-cycle, which may or may not be immune-mediated. The best known example is psoriasis, where hyperkeratosis is associated with aberrant differentiation and inflammation caused by the release of cytokines into the epidermis by keratinocytes and lymphocytes. Hyperkeratosis is also one of the factors involved in the pathogenesis of acne. The keratinocytes lining the inside of a hair follicle normally detach from the lining, attach to the growing hair and die, while converting themselves into corneocytes and forming the hair cuticle. In hyperkeratinization, a number of these cells convert too fast, clumping together instead of attaching to the cuticle. When such a clump of cells blocks the follicle exit, it contributes to acne. Genetic abnormalities in structural cytoskeleton proteins or in

enzymes responsible for the formation of the cornified cell envelope or the metabolism of the intercellular lipids are among the main causes of keratinization disorders such as ichthyosis. These, however, are relatively rare.

All-*trans*-retinoic acid (all-*trans*-RA), the naturally occurring derivative of vitamin A is one of the principal endogenous compounds that controls growth and differentiation of epithelial tissue. Since the discovery that vitamin A-deficiency leads to keratinizing metaplasia and hyperkeratosis, numerous studies have focused on the metabolism and pharmacological action of 'retinoids' in the skin which has led to the establishment of retinoid treatment for various skin diseases like psoriasis, ichthyosis and acne. The retinoids comprises the natural and synthetic compounds that share structural and/or functional similarity with vitamin A.

Although very effective, the use of oral retinoids is hampered by systemic toxicity and topical retinoids have not been proved a successful alternative because of skin irritation. A different clinical approach to administering retinoids is to modulate the retinoic acid concentrations at the cellular level by using a Retinoic Acid Metabolism Blocking Agent or RAMBA. RAMBAs (e.g. liarozole, R115866) are compounds that block a cytochrome P450-dependent enzyme i.e. the retinoic acid 4-hydroxylase (CYP26) responsible for the intracellular catabolism of all-*trans*-RA in specific target cells. This targeted selective increase in all-*trans*-RA is expected to result in a good therapeutic effect and a better safety profile compared to oral retinoids. The main objective of this work is to answer the question whether RAMBAs, liarozole and R115866 in particular, could represent an effective and safer therapeutic approach for hyperkeratotic disorders like ichthyosis, psoriasis and acne. The history and the mechanism of action of both the retinoids and the RAMBAs are elaborated in **Chapter 1**.

Chapter 2 describes the effect of 3 generations RAMBAs (ketoconazole, liarozole and R115866) on cell proliferation and viability of 3 major skin cell types i.e. keratinocytes, fibroblasts and endothelial cells. The *in vitro* comparison points out a different sensitivity of the cell types towards the RAMBAs with the keratinocytes being the most sensitive. In the light of a future topical development, the effect of R115866 on cell viability and skin permeability has been studied *in vitro* using human reconstituted epidermis as an alternative for animal testing. R115866 is found to be devoid of enhancing the permeation of H³-water through reconstructed skin epidermis or inducing morphological changes, see **Chapter 3**.

Interest in liarozole, the first RAMBA once in clinical development in the nineties for psoriasis and ichthyosis, has today received a boost because of its orphan drug status for congenital ichthyosis in Europe and the US. A review of liarozole's *in vivo* pharmacology related to dermatology is presented in **Chapter 4** whilst the next two chapters cover

its clinical use in several ichthyosis subtypes (XRI, LI and CBIE). The short (10 weeks) and long-term (72 weeks) clinical efficacy and safety of topical liarozole 5% cream is described in **Chapter 5**. After a 4 weeks double-blind treatment versus placebo, a significant unilateral improvement in extent and severity of skin lesions was observed in favour of the liarozole-treated side. The lesions further improved during the following 6 weeks open phase and 72 weeks open maintenance phase. Clinical side effects were only minimal and the treatment was well tolerated. These clinical findings justify consideration of liarozole cream as a front-line treatment for ichthyosis.

The results of a 12 week double-blind comparative trial between oral liarozole and acitretin, the only drug approved today for the treatment of congenital ichthyosis are discussed in **Chapter 6**. The data suggest that oral liarozole at a daily dose of 150 mg is equally effective as 35 mg acitretin daily but shows a trend towards a more favourable tolerability profile. Both the number of adverse events and the incidence of hypertriglyceridaemia in this trial are lower in the liarozole than in the acitretin group; however a larger trial will be needed to show statistical significance.

The clinical use of retinoids and RAMBAs in psoriasis is reviewed in **Chapter 7**. Specific information on the pharmacology and pharmacokinetics of R115866, the most selective and specific RAMBA, is also provided here.

Chapter 8 discusses the results of an 8 week exploratory study with oral R115866, 1 mg daily in patients with moderate to severe plaque-type psoriasis. Of the complete cases, 38% had at least PASI50 at end of treatment and 54% at follow-up which is comparable to efficacy data found on acitretin, the preferred systemic retinoid in the treatment of psoriasis for more than 10 years. A treatment duration extending 8 weeks may be needed to achieve optimal clinical efficacy. The kinetic data from this study reveal no accumulation of R115866 and a rapidly clearance from the body once treatment is stopped (within hours) which could significantly minimize the 'safe time' to conceive as compared to acitretin (2 years in EU). Throughout the study, the increases in plasma all-*trans*-RA levels remain within physiological limits. The data from this study suggest that R115866 may be an effective and well tolerated treatment for plaque type psoriasis which warrants further investigation.

Chapter 9 presents a 12-week exploratory study with oral R115866, 1 mg daily in patients with moderate to severe facial acne vulgaris. The data indicate that R115866 could not only be an effective but also a well tolerated treatment for this skin disorder with equally good effects on inflammatory and non-inflammatory lesions. A significant mean reduction in inflammatory lesions of 77.4% ($p < 0.001$), in non-inflammatory lesions of 58.3% ($p < 0.001$), and in total lesion count of 76% ($p < 0.001$) is observed at the end of treatment compared to baseline. This improvement is still pronounced 4

SUMMARY

weeks after the last drug intake. Although the series of patients is small, it is worth mentioning that the reported side effects are low in incidence and severity and no elevated blood triglyceride levels are reported as adverse event. General considerations and future perspectives related to the treatment of hyperkeratotic disorders with RAM-BAs are dealt with in **Chapter 10**.

Samenvatting

De buitenste lagen van de huid, de epidermis, vormen een mechanische barrière tussen onze interne organen en de omgeving waarin we leven. Ze biedt bescherming tegen pathogenen, irriterende producten en allergenen terwijl ze het waterverlies regelt. Wanneer de epidermis beschadigd wordt, komt de barrièrefunctie in gevaar wat kan leiden tot waterverlies, het binnendringen van kiemen en allergenen en uiteindelijk tot ontstekingen. Om er voor te zorgen dat de barrièrefunctie intact blijft, wordt de epidermis voortdurend vernieuwd op een zorgvuldig gereguleerde manier. Het is een gestratificeerd epithelium d.w.z. het is opgebouwd uit verschillende lagen cellen met name keratinocyten, die met elkaar verbonden zijn door eiwitbruggen of desmosomen. De onderste of basale laag bevat cellen die zich continu delen en zodoende de epidermis hernieuwen. Vanuit deze basale lagen schuiven de cellen op naar bovenliggende lagen waar ze differentiëren tot verhoorde cellen (corneocyten) en uiteindelijk afschilferen. Tijdens dit maturatie- of rijpings-proces verandert niet alleen de fysiologie en de chemische compositie maar ook de vorm en de oriëntatie van de keratinocyten.

Onder bepaalde patho-fysiologische condities kan dit netjes geordend proces van groei en differentiatie verstoord worden en leiden tot hyperkeratiniserende huidziekten zoals ichthyosis, psoriasis en acne. In **hoofdstuk 1** worden deze 3 belangrijke hyperkeratotische huidziekten samen met hun huidige en toekomstige behandelingen geïntroduceerd. Hyperkeratinisatie (overmatige hoorn/schilfervorming), is meestal het gevolg van een abnormale celvernieuwing veroorzaakt door veranderingen in de levenscyclus van de keratinocyten, al dan niet gestuurd door het immuunsysteem. Het meest bekende voorbeeld hiervan is psoriasis waar de hyperkeratosis samengaat met een aberante proliferatie/differentiatie en inflammatie die veroorzaakt wordt door de vrijstelling van cytokines in de epidermis door keratinocyten en lymfocyten. Hoewel niet onmiddellijk zichtbaar is hyperkeratinisatie ook één van de factoren betrokken in de pathogenese van acne. In normale omstandigheden komen de keratinocyten die zich aan de binnenkant van de haarfollikel bevinden los, hechten zich vast aan het groeiende haar en sterven af. Bij

hyperkeratinisatie komt een groot deel van deze keratinocyten te snel los en klitten ze samen tot een klompje. Hierdoor treedt er een vernauwing op van de follikels waardoor de afvloeiing van talg wordt belemmerd en de ontwikkeling van acne wordt bewerkstelligd. Genetische afwijkingen in structurele eiwitten van het cytoskelet of in enzymen verantwoordelijk voor de vorming van de cornified envelope of het metaboliseren van de intracellulaire vetten liggen aan de basis van keratinisatiestoornissen zoals de icht-hyosis, die eerder zeldzaam zijn.

All-*trans*-vitamine A zuur, een natuurlijk derivaat van vitamine A, is één van de belangrijkste endogene moleculen verantwoordelijk voor de groei en differentiatie van epitheliale weefsels. Sinds de ontdekking dat een tekort aan vitamine A o.a. leidt tot hyperkeratinisatie is er heel wat onderzoek geweest naar het metabolisme en het farmacologisch effect van vitamine A in de huid. Dit heeft geleid tot het ontwikkelen van tal van retinoïden (= natuurlijke en synthetische stoffen die structureel en/of functioneel verwant zijn met vitamine A) voor de behandeling van verschillende huidziekten als ichthyosis, psoriasis and acne. Hoewel ze heel efficiënt werken is het gebruik van orale retinoïden beperkt door een aantal storende neveneffecten. Topische retinoïden zijn minder toxisch maar hebben dan weer het nadeel dat ze irriterend zijn waardoor ze tot op heden nog geen volwaardig alternatief kunnen bieden.

Een alternatieve aanpak om retinoïden toe te dienen is de concentratie van het natuurlijke vitamine A zuur binnenin de cellen te verhogen door gebruik te maken van een Retinoic Acid Metabolism Blocking Agent of RAMBA. RAMBAs, zoals liarozole en R115866, zijn chemische stoffen die een bepaald enzyme blokkeren nl. het vitamine A zuur-4-hydroxylase, een cytochrom P450 afhankelijk enzyme dat verantwoordelijk is voor de afbraak van het vitamine A zuur in bepaalde cellen van het lichaam. Door het endogene all-*trans*-vitamine A zuur op een doelgerichte en selectieve manier te verhogen wordt niet alleen een betere doeltreffendheid maar vooral een beter veiligheidsprofiel verwacht in vergelijking tot orale retinoïden. Het hoofddoel van dit werk is het beantwoorden van de vraag of de RAMBAs, en met name liarozole en R115866, niet alleen een doeltreffende maar ook een veilige behandeling zouden kunnen zijn voor hyperkeratotische huidziekten zoals ichthyosis, psoriasis en acne.

De geschiedenis van de ontwikkeling van de retinoïden en de RAMBAs alsook hun werkingsmechanisme is samengevat in **hoofdstuk 1**.

In **hoofdstuk 2** wordt het effect van 3 generaties RAMBAs (ketoconazole, liarozole en R115866) beschreven op celproliferatie en celviabiliteit en dit in de 3 voornaamste huidceltypes nl. keratinocyten, fibroblasten en endotheelcellen. De *in vitro* resultaten tonen aan dat de verschillende celtypes een verschillende gevoeligheid hebben t.o.v. de RAMBAs waarbij de keratinocyten de meest gevoelige zijn. Gezien de toekomstige

ontwikkeling van R115866 als een topische geneesmiddel werd in **hoofdstuk 3** het effect op celviabiliteit en huidpermeabiliteit bestudeerd *in vitro* gebruikmakend van menselijk gereconstrueerde epidermis als alternatief voor dierproeven. R115866 blijkt noch de doorlaatbaarheid van getritieerd water doorheen gereconstrueerde epidermis te beïnvloeden noch een effect te hebben op de morfologie.

Liarozole, de eerste RAMBA ooit in klinische ontwikkeling voor de behandeling van psoriasis in de jaren negentig heeft vandaag terug alle aandacht wegens het verkrijgen van de status van weesgeneesmiddel voor congenitale ichthyosis, zowel in Europa als in de U.S. De *in vivo* farmacologie van liarozole met betrekking tot dermatologie is samengevat in **hoofdstuk 4**, terwijl de volgende 2 hoofdstukken het klinisch gebruik van liarozole bespreken in verschillende ichthyosis subtypes zoals XRI, LI en CBIE.

De klinische efficiëntie en veiligheid van topische liarozole crème zowel op korte (10 weken) als lange (72 weken) termijn wordt beschreven in **hoofdstuk 5**. Na een 4 weken dubbel-blinde behandeling met 5% liarozole crème vs. placebo is er een unilaterale significante verbetering te zien van de huidletsels aan de zijde behandeld met liarozole. De huidletsels verminderen verder tijdens de daaropvolgende 6 weken open en de 72 weken onderhoudsbehandeling met liarozole crème. De neveneffecten zijn minimaal en de behandeling wordt goed verdragen. De klinische data bemoedigen een verdere ontwikkeling van liarozole crème als eerstelijnsbehandeling voor ichthyosis.

Hoofdstuk 6 behandelt de resultaten van een dubbel blinde studie waar orale liarozole wordt vergeleken met acitretin, het enige goedgekeurde geneesmiddel voor de behandeling van congenitale ichthyosis. De data suggereren dat een behandeling van 12 weken met liarozole (150 mg per dag) even efficiënt is als acitretin (35 mg per dag) maar dat liarozole een beter veiligheidsprofiel vertoont. Zowel het aantal nevenwerkingen als het aantal keren dat bij patiënten hypertriglyceridemie optreedt is lager in de liarozole groep dan in de acitretin groep maar gezien het beperkt aantal patiënten kon geen statistische significantie worden aangetoond.

Hoofdstuk 7 geeft een overzicht van het klinisch gebruik van retinoïden en RAMBAs in psoriasis. In dit hoofdstuk wordt ook dieper ingegaan op de farmacologie en de farmakokinetiek van R115866, de meest selectieve en specifieke RAMBA op dit moment.

De resultaten van een exploratieve klinische studie met oraal R115866, 1 mg per dag gedurende 8 weken in patiënten met moderate tot severe plaque psoriasis worden besproken in **hoofdstuk 8**. Achtendertig procent van de patiënten die de volledige studie hebben doorlopen zien een verbetering van hun PASI van minstens 50% op het einde van de behandeling (week 8). Bij follow-up (week 10) zijn het er 54% wat vergelijkbaar is met de efficaciteitsdata van acitretin, sinds 10 jaar het meest gebruikte retino-

id voor de behandeling van psoriasis. Een behandeling van meer dan 8 weken zal waarschijnlijk nodig zijn om een grotere doeltreffendheid te bekomen. De kinetische data in deze studie tonen aan dat er geen opstapeling is van R115866 en dat na de laatste inname de moleculen heel snel (binnen enkele uren) uit het lichaam verwijderd is. Dit betekent dat de sperperiode om zwanger te worden enorm kan worden gereduceerd in vergelijking met acitretin (2 jaar in Europa). Tijdens de behandeling blijven de verhogingen van all-*trans*-vitamine A zuur spiegels in het plasma binnen de fysiologische grenzen. De data van deze studie suggereren dat R115866 een doeltreffende en goed verdraagbare behandeling zou kunnen zijn voor plaque psoriasis wat uitnodigt voor verder onderzoek.

In **hoofdstuk 9** worden de resultaten voorgesteld van een 12 week durende exploratieve studie met oraal R115866, 1mg per dag in moderate to severe acne vulgaris in het aangezicht. R115866 blijkt niet alleen een doeltreffende maar ook een goed verdraagbare behandeling te zijn voor deze huidziekte. R115866 grijpt aan op zowel de inflammatoire als niet-inflammatoire letsels. Op het eind van de behandeling wordt ten opzichte van de baseline een gemiddelde reductie behaald van 77% ($p < 0.001$) op de inflammatoire letsels, van 58% ($p < 0.001$) op de niet inflammatoire letsels en van 76% ($p < 0.001$) op de som van alle letsels samen. Vier weken na de laatste inname van R115866 is deze reductie nog steeds aanwezig. Ondanks het feit dat het hier om een kleine patiëntengroep gaat is het toch noodzakelijk om er op te wijzen dat zowel het aantal als de intensiteit van de nevenwerkingen in deze studie heel laag is en dat er geen verhoogde triglyceriden als een nevenwerking zijn gerapporteerd.

De algemene bevindingen en de toekomstplannen met betrekking tot het behandelen van hyperkeratotische huidziekten met RAMBAs zijn samengevat in **hoofdstuk 10**.