

Abstrakt

Ziele

Ziel dieser Studie war es, die Sicherheit und Wirksamkeit des Nukleosidanalogs GS-441524 bei Katzen zu bestimmen, die an verschiedenen Formen der natürlich erworbenen infektiösen Katzenperitonitis (FIP) leiden.

Methoden

Katzen im Alter von 3,4 bis 73 Monaten (Mittelwert 13,6 Monate); 26 hatten einen FIP-Effekt von Erguss oder von trocken zu Erguss und fünf hatten eine Krankheit ohne Erguss. Katzen mit schwerer neurologischer und okularer FIP wurden nicht rekrutiert. Die Gruppe wurde mit GS-441524 bei einer Dosierung von 2,0 mg / kg SC q24h für mindestens 12 Wochen begonnen und erhöht, wenn angezeigt, auf 4,0 mg / kg SC q24h.

Ergebnisse

Vier der 31 Katzen mit schwerer Erkrankung starben oder wurden innerhalb von 2 bis 5 Tagen eingeschläfert, eine fünfte Katze nach 26 Tagen. Die 26 verbleibenden Katzen beendeten die geplante Behandlung von 12 Wochen oder mehr. Achtzehn dieser 26 Katzen blieben zum Zeitpunkt der Veröffentlichung (OnlineFirst, Februar 2019) nach einer Behandlungsrunde gesund, acht andere erlitten innerhalb von 3 bis 84 Tagen einen Krankheitsrückfall. Sechs der Rückfälle waren nicht neurologisch und zwei neurologisch. Drei der acht Katzen mit einem Rezidiv wurden erneut mit der gleichen Dosis behandelt, während bei fünf Katzen die Dosis von 2,0 auf 4,0 mg / kg q24h erhöht wurde. Die fünf Katzen, die ein zweites Mal mit der höheren Dosis behandelt wurden, einschließlich der neurologischen Erkrankungen, sprachen gut an und blieben zum Zeitpunkt der Veröffentlichung ebenfalls gesund. Eine der drei Katzen, die in der ursprünglich niedrigeren Dosierung erneut behandelt wurden, erlitt einen Rückfall mit neurologischer Erkrankung und wurde eingeschläfert, während die beiden verbleibenden Katzen positiv reagierten, aber ein zweites Mal einen Rückfall erlebten. Diese beiden Katzen wurden ein drittes Mal mit der höheren Dosis erfolgreich behandelt, was 25 Langzeitüberlebende ergab. Eine der 25 erfolgreich behandelten Katzen wurde anschließend aufgrund einer vermutlich nicht damit zusammenhängenden Herzerkrankung eingeschläfert, während 24 gesund blieben.

Schlussfolgerungen und Relevanz

Es wurde gezeigt, dass GS-441524 eine sichere und wirksame Behandlung für FIP ist. Es wurde gefunden, dass die optimale Dosierung für mindestens 12 Wochen 4,0 mg / kg SC q24h betrug.

Einführung

Medikamente, die die Virusreplikation hemmen, sind zu einem Hauptbestandteil bei der Behandlung von akuten und chronischen RNA- und DNA-Virusinfektionen von Menschen geworden.¹ Das Interesse an antiviralen Medikamenten gegen Tierinfektionen ist jedoch gering. Dies gilt insbesondere für Katzen, die an mehreren chronischen Virusinfektionen leiden, die denen bei Menschen ähneln. Zu den Infektionserregern zählen Katzenleukämie- und Immundefizienzviren (FeLV bzw. FIV), Katzenherpesviren (FHV), virulentes systemisches Calicivirus und ein Coronavirus, das Katzenperitonitis (FIPV) verursacht Untersuchung, Isolierung und / oder Impfung. Die FHV-assoziierte Krankheit war die erste Virusinfektion bei

Katzen, bei der ein antivirales Mittel zur Behandlung eingesetzt wurde. Das hochtödliche systemische Calicivirus betrifft nur eine kleine Anzahl von Katzen. Eine FIPV-Infektion ist der beste Kandidat für die Entwicklung antiviraler Medikamente, da Impfstoffe unwirksam sind, die Vorbeugung durch mehrere Katzen äußerst schwierig ist und 0,3–1,4% der Katzen auf der ganzen Welt getötet werden.

Die Entstehung exotischer Krankheiten wie Ebola, das Atemwegssyndrom im Nahen Osten und das schwere akute Atemwegssyndrom bei Menschen hat zu intensiven Forschungen über Medikamente geführt, die die Replikation von RNA-Viren hemmen. Eines der vielversprechendsten antiviralen Medikamente gegen aufkommende RNA-Viren ist das Adenosin-Nucleosid-Monophosphat-Prodrug GS-5734 (Remdesivir; Gilead Sciences). GS-5734 hat experimentelles Ebola bei Rhesusaffen wirksam verhindert und sowohl epidemische als auch zoonotische Coronaviren in Gewebekultur- und Mausinfektionsmodellen gehemmt. Diese vielversprechenden Ergebnisse führten zu ersten Forschungen über GS-5734 und dessen Ausgangsnucleosid GS-441524 gegen FIPV-Infektion von Katzen. Es wurde festgestellt, dass GS-441524 und GS-5734 vergleichbare EC₅₀- (1,0 µM) und CC₅₀-Werte (> 100 µM) gegen FIPV in Katzenzellen aufwiesen. Daher wurde beschlossen, sich für weitere Tests mit Laborkatzen auf das chemisch weniger komplexe GS-441524 zu konzentrieren. Eine pharmakokinetische Studie an zwei Laborkatzen zeigte über einen Zeitraum von 24 Stunden nach subkutaner (SC) oder intravenöser Verabreichung (IV) eine anhaltende und wirksame Plasmakonzentration von GS-441524. Diese Ergebnisse wurden dann auf 10 Laborkatzen mit experimentell induzierter abdominaler effusiver infektiöser Peritonitis (FIP) bei Katzen ausgeweitet. Diese Studie zeigte, dass GS-441524 gegen experimentelle FIP hochwirksam ist und ebnete den Weg für den vorliegenden Feldversuch.

Ziel dieser Studie war es, die Sicherheit und Wirksamkeit von GS-441524 bei der Behandlung von Katzen mit natürlich vorkommendem FIP nachzuweisen. Wirkstoffe mit kleinen Molekülen wie GS-441524 haben ein Gewicht von <900 Dalton und eine Größe von etwa 1 nm. Sie können leicht in Zellen eindringen und mit wichtigen Zielmolekülen interagieren. Im Gegensatz zu veröffentlichten Substanzen oder Medikamenten, die FIPV hemmen, indem sie zelluläre Prozesse behindern, die von Viren für ihre Replikation usurpiert wurden, stören kleine Moleküle wie GS-441524 direkt die vom Virus kodierte Replikationsprozesse.

Materialien und Methoden

Arzneimittelzubereitung

GS-441524 wurde von Gilead Sciences als reines und hochstabiles Pulver bereitgestellt und auf eine Konzentration von 10 oder 15 mg / ml in 5% Ethanol, 30% Propylenglykol, 45% PEG 400, 20% Wasser (pH 1,5 mit HCl) verdünnt). Die Mischung wurde in sterile 50-ml-Glasinjektionsflaschen gegeben, bis zur Suspension gerührt und dann für 5–20 Minuten in ein beschalltes Wasserbad gestellt, bis sie klar war. Das verdünnte Medikament wurde gekühlt und innerhalb von 3–4 Wochen verwendet.

Studiendesign

Diese Studie wurde gemäß den Protokollen 19336 und 19863 durchgeführt, die vom Institutional Animal Care and Use Committee und dem Clinical Trial Review Board des Clinical Trials Committee des Veterinary Medical Teaching Hospital (VMTH) der University of California (UC), Davis, genehmigt wurden. Die institutionellen Vorschriften schlossen die Verwendung erkrankter Katzen aus, die

direkt aus Tierheimen oder Kätzchen-Pflege- / Rettungsgruppen bezogen wurden, und erforderten daher, dass alle Katzen unter bestimmten Bedingungen und mit Zustimmung des Besitzers rechtmäßig in Besitz genommen / adoptiert und behandelt werden (zusätzliches Material). Die Studie umfasste keine Kontrollgruppe, da es keine wirksame Behandlung gibt, mit der sie verglichen werden könnte. Eine Placebo-Behandlungsgruppe wurde nicht eingeschlossen, da vorbereitende In-vitro- und In-vivo-Studien darauf hinwiesen, dass GS-441524 sicher und wirksamer als keine Behandlung ist.

Fallauswahl und Krankheitsbestätigung

Katzen mit FIP wurden von Besitzern oder ihren Tierärzten angeworben, die nach aktuellen Behandlungsoptionen oder Zugang zu einer früheren Studie mit antiviralen Arzneimitteln suchten. Die Erstdiagnose von FIP basierte hauptsächlich auf charakteristischen Signalen, klinischen Anamnesen und Krankheitszeichen, Routinetestergebnissen im Labor und der Untersuchung von Bauch- oder Brustergüsse. Eine definitivere Diagnose auf der Basis von RT-PCR oder Immunhistochemie war wünschenswert, aber für die Aufnahme nicht unbedingt erforderlich. Katzen mit offensichtlichen Augen- oder neurologischen Erkrankungen wurden wegen Bedenken hinsichtlich der Fähigkeit von antiviralen Arzneimitteln, einschließlich GS-441524, die Blut-Hirn- oder Blut-Augen-Schranke zu durchdringen, von der Teilnahme an der Studie abgehalten.

31 Katzen und ihre Besitzer wurden letztendlich rekrutiert (Tabelle 1). Besitzer oder Vertreter von 26 Katzen kamen zur Erstbehandlung zu UC Davis, und fünf Besitzer und ihre Katzen (CT59, CT73, CT76, CT78, CT80) wurden von ihrem örtlichen Tierarzt behandelt. Katzen, die an der UC Davis gesichtet wurden, wurden erneut bewertet und ihre FIP-Diagnose auf der Grundlage von Signalisierung, klinischer Anamnese, körperlicher Untersuchung, vorherigen Labortestergebnissen und einer Wiederholung von Blutbild- (CBC), Serumprotein- und Ergussanalysen bestätigt. Thorax- oder Bauchergüsse von Katzen mit feuchtem FIP wurden durch RT-PCR positiv auf FIPV 7b-RNA getestet. 16 Katzen mit Anzeichen von nicht effusivem FIP wurden durch Ultraschalluntersuchung des Abdomens und des Brustraums auf primäre Läsionen weiter untersucht. Augenkrankheit wurde durch den Augenheilkundendienst des VMTH, UC Davis, bestätigt. Der neurologische Status in Fällen mit möglichen Anzeichen einer Erkrankung des Zentralnervensystems wurde vom VMTH-Neurologiedienst bewertet.

Behandlungsschema

Die Anfangsdosis für GS-441524 betrug 2,0 mg / kg SC q24h, basierend auf früheren Gewebekulturversuchen und pharmakokinetischen Studien an Laborkatzen. Die Mindestbehandlungsdauer betrug 12 Wochen, basierend auf Erfahrungen mit dem 3CL-Proteaseinhibitor GC376 gegen natürlich vorkommendes FIP .6 Die Behandlung wurde bei Katzen, die noch abnormale Serumproteinwerte aufwiesen, um eine oder mehrere Wochen verlängert. Die Dosierung wurde in späteren Stadien des Versuchs von 2,0 auf 4,0 mg / kg erhöht, wenn die Behandlung verlängert werden musste oder wenn ein Krankheitsrückfall auftrat. Die Eigentümer erhielten alle 4 Wochen einen neuen Vorrat an Medikamenten in Form vorgeladener 1 oder 3 ml Luer-Lock-Spritzen mit 1 Zoll 22 G Luer-Hub-Nadeln. Die Spritzen wurden im Kühlschrank aufbewahrt und vor der Injektion auf Raumtemperatur erwärmt. Die Injektionen wurden über den Rücken von 2 cm hinter den Schulterblättern bis zur Mitte der Lendenwirbelsäule und die Hälfte des Abstands entlang der angrenzenden Brust und Flanken verteilt.

Überwachung während der Erstbehandlung

Die Katzen wurden zum Zeitpunkt des Studieneintritts von allen nicht wesentlichen Behandlungen wie Antibiotika, Kortikosteroiden, Interferonen, Pentoxifyllin, nichtsteroidalen entzündungshemmenden Medikamenten oder Schmerzmitteln befreit. Sie wurden dann alle 12 Stunden während ihres Aufenthalts an der UC Davis auf Temperatur, Appetit, Aktivität, Wasserlassen und Stuhlgang überwacht. In Abständen von 1–3 Tagen wurde auch Blut abgenommen, um den Hämatokrit, das Gesamtprotein, Bilirubin, die Anzahl der weißen Blutkörperchen und die Differenzialzahl der weißen Blutkörperchen zu bestimmen.

Aszitesproben wurden am Eingang und in Abständen von einem oder mehreren Tagen so lange wie möglich gesammelt und mittels quantitativer (q) RT-PCR (IDEXX Molecular Diagnostics) auf die Niveaus von FIPV 7b-RNA-Transkripten getestet. Immunhistochemie für das FIPV-Nukleokapsidprotein wurde durchgeführt an formalinfixierten Gewebeschnitten von fünf Katzen, die einer Autopsie unterzogen wurden.

Überwachung der anfänglichen und langfristigen Reaktion auf die Behandlung

Katzen wurden an ihre Besitzer entlassen, wenn ein signifikant günstiges Ansprechen auf die Behandlung festgestellt wurde, üblicherweise innerhalb von 3–5 Tagen. Die Eigentümer wurden während dieser Zeit in die richtige subkutane Injektion des Arzneimittels eingewiesen und aufgefordert, die täglichen Aufzeichnungen zu Körpertemperatur, Aktivität, Appetit, Stuhlgang und Urinierung sowie die wöchentlichen Körpergewichtsmessungen fortzusetzen. Ein Gremium für CBC- und Serumchemie wurde in monatlichen Abständen von örtlichen Tierärzten oder während des Besuchs des VMTH durchgeführt. Auffällige Anzeichen oder Verhaltensweisen waren zu notieren und umgehend zu melden. Die Sterbehilfe wurde bei Bedarf in der Regel vom Tierarzt des Inhabers oder, wenn möglich, von der UC Davis durchgeführt. Die Leichen wurden in Plastiktüten versiegelt, sofort gekühlt und innerhalb von 2 Tagen oder weniger in isolierten Behältern mit Eispackungen per Expresspost über Nacht an UC Davis versandt. Nekropsien wurden von einem der Autoren (ML) im Anatomic Pathology Service der School of Veterinary Medicine, UC Davis, durchgeführt. Dem Wunsch des Eigentümers nach endgültiger Verfügung über die Leiche wurde entsprochen.

Ergebnisse

Signal und Krankheitsvorstellung

Einunddreißig Katzen im Alter von 3,4 bis 73 Monaten (durchschnittlich 13,6 Monate) wurden in die Studie aufgenommen (Tabelle 1). 18 Katzen waren kurz- oder langhaarige Hauskatzen und 13 stammten aus 10 verschiedenen Rassen (Tabelle 1). Die Hauskatzen wurden von Kitten- / Pflegerettungsorganisationen (n = 13), formellen Unterkünften (n = 2) oder als Streuner aus der Nachbarschaft (n = 3) adoptiert. Die Studie umfasste 14 Frauen (sieben intakt; sieben kastriert) und 17 Männer (eines intakt; 16 kastriert).

Sechszwanzig der 31 Katzen zeigten eine effusive FIP (sechs Brust-, 20 Bauch). Fünf Katzen mit nicht effusiver FIP vorgestellt; vier von ihnen (CT59, CT64, CT73, CT78) mit Erkrankungen, die am Bauch lokalisiert sind (Mesenterial- und Ileo- / Cecal- / Kolik-Lymphknoten) und eine (CT79) an der Brust (Lunge, Hilus-Lymphknoten) (Tabelle 1). Vier weitere Katzen wiesen Anzeichen einer früheren nicht effusiven FIP auf, die zur effusiven Form übergegangen war (CT57, CT65, CT67, CT71) (Tabelle 1). Bei drei der 31 Katzen (CT56, CT65, CT71) wurden durch ophthalmoskopische Untersuchung grobe Anzeichen einer Augenerkrankung im Einklang mit der zugrunde liegenden FIP bestätigt. Zwei Katzen (CT71, CT80)

zögerten oder konnten nicht mehr an höhere Stellen springen, was auf eine neurologische Beteiligung hindeutet.

Behandlungsergebnis

Vier Katzen wurden in den ersten 2 bis 5 Tagen aufgrund schwerer Erkrankungen und sonstiger Komplikationen eingeschläfert (CT62, CT72, CT75) oder starben (CT56), und eine fünfte Katze wurde nach 26 Tagen aufgrund fehlender Reaktion auf die Behandlung eingeschläfert (CT54) (Abbildung 1). Die Behandlungsperioden wurden nicht unterbrochen, mit Ausnahme von drei Katzen, denen in Woche 4 (Kat. CT80) oder Woche 8 (Kat. CT53, CT71) eine zweiwöchige Ruhepause gewährt wurde, da Probleme mit der Injektion und Hautreaktionen auftraten (Abbildung 1). Cat CT53 wurde nach einem zweiten Rückfall für 8 anstatt 12 Wochen wegen eines Anstiegs der Blutharnstoff- und Serumspiegel von symmetrischem Dimethylarginin (SDMA) behandelt.

Abbildung 1 Zeitskala für die Behandlung und das klinische Ergebnis von 31 Katzen, die in den GS-441524-Feldversuch aufgenommen wurden. Die Behandlungsdauer ist durch eine durchgezogene Linie (2 mg / kg Dosis) oder eine gestrichelte Linie (4 mg / kg Dosis) angegeben. Sternchen kennzeichnen den Rückfallpunkt. Das Enddatum der Behandlung für die Katzen, bei denen eine anhaltende klinische Remission erzielt wurde, ist in Klammern angegeben. Der Zeitpunkt und die Todesursache sind durch ein Kreuz gekennzeichnet

Das klinische Ansprechen der 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden, war dramatisch. Das Fieber verschwand normalerweise innerhalb von 12 bis 36 Stunden (Abbildung 2), gleichzeitig mit einer deutlichen täglichen Verbesserung des Appetits, des Aktivitätsniveaus und der Gewichtszunahme. Bauchergüsse verschwanden innerhalb von 1–2 Wochen, beginnend etwa 10–14 Tage nach der Behandlung, rasch. Katzen mit Thoraxergüssen waren bei der Präsentation bei privaten Tierärzten in der Regel dyspnoisch, was zur Entfernung von Pleuraergüssen führte, bevor sie zu UC Davis kamen. Die verbleibende Dyspnoe und der Thoraxerguss sprachen schnell auf die Behandlung an und waren nach 7 Tagen nicht mehr sichtbar. Der Ikterus verschwand langsam über 2–4 Wochen, parallel zu einer abnehmenden Hyperbilirubinämie. Die Anzeichen einer Augenkrankheit begannen sich innerhalb von 24 bis 48 Stunden zu klären und waren nach 7 bis 14 Tagen äußerlich oder ophthalmoskopisch nicht mehr erkennbar. Vergrößerte Mesenterial- und Ileo- / Cecal- / Colic-Lymphknoten nahmen im Verlauf der Behandlung langsam an Größe ab. Alle 26 Katzen zeigten sich nach Einschätzung der Besitzer nach 2 Wochen Behandlung äußerlich normal oder nahezu normal. Der Schwerpunkt der Behandlung nach 2 Wochen lag auf der Überwachung mehrerer Bluttestparameter. Die Schlüsselwerte umfassten das gepackte Zellvolumen (PCV), die Gesamtzahl der weißen Blutkörperchen, die absolute Lymphozytenzahl, das Gesamtserumprotein, das Serumglobulin, das Serumalbumin und das Albumin: Globulin (A: G) - Verhältnis.

Abbildung 2 Mittelwert (durchgezogene Linie) und 1 SD (Striche) der Körpertemperaturen während der ersten 5 Tage der GS-441524-Behandlung. Der normale Temperaturbereich für Katzen liegt zwischen 37,7 und 39,1 ° C. Die Temperaturen fielen innerhalb von 12 bis 36 Stunden nach Beginn der Behandlung in den normalen Bereich

18 von 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen ununterbrochener Erstbehandlung unterzogen wurden, erforderten keine weitere Behandlung. Acht andere Katzen erlitten jedoch innerhalb von 3–84 Tagen (durchschnittlich 23 Tage) einen

Krankheitsrückfall (Abbildung 1). Diese Gruppe umfasste die drei Katzen, die in der Anfangsbehandlung vorübergehend Pausen hatten (CT53, CT71, CT80), und fünf Katzen (CT53, CT57, CT60, CT68, CT73), die eine erweiterte Primärbehandlung benötigten (Abbildung 1). Krankheitsrückfälle bei 2/8 Katzen (CT57, CT71) waren eindeutig neurologischer Natur mit hohem Fieber und schwerer hinterer Ataxie und Koordinationsstörung, während Krankheitsrückfälle bei den verbleibenden sechs Katzen hauptsächlich aus Fieber, Magersucht und Bewegungsmangel bestanden. Nur eine Katze (CT60) hatte beim Rückfall einen offensichtlichen Abdominalerguss. Eine Katze (CT57) wurde 2 Wochen nach einem Rückfall mit neurologischen Symptomen eingeschlafert, die auf eine zweite Behandlungsrunde nicht ansprachen.

Es wurde beschlossen, die Dosis von GS-441524 bei acht Katzen von 2,0 auf 4,0 mg / kg zu erhöhen, da die Behandlung verlängert werden musste (CT77, CT80), weil sie eine hatten (CT60, CT68, CT71, CT73) oder zwei Rückfälle (CT53, CT63) oder weil der Rückfall neurologisch war (CT71). Alle acht Katzen sprachen gut auf das höhere Dosierungsschema an.

Insgesamt erreichten 25/26 Katzen, die 12 Wochen oder länger behandelt wurden, eine anhaltende Remission der FIP, obwohl eine von ihnen später an einem nicht damit zusammenhängenden Herzproblem verstarb (siehe „Obduktionsbefund“). Die längsten Überlebenden zum Zeitpunkt der Veröffentlichung (OnlineFirst, Februar 2019) beendeten die Behandlung im August 2017 und die kürzeste im Mai 2018, und zwar nach Ablauf der längsten Zeitspanne für Rückfälle (dh 84 Tage nach Beendigung der Behandlung). Die 24 überlebenden Katzen werden sorgfältig auf Anzeichen von Krankheiten überwacht und im ersten Jahr regelmäßig auf das Gesamtprotein-, Globulin-, Albumin- und A: G-Verhältnis getestet. Eine weniger intensive Überwachung wird für den Rest des Lebens der Katzen aufrechterhalten. Die Besitzer wurden gewarnt, in den ersten 3 Monaten unnötigen Stress für ihre Katzen zu vermeiden, obwohl vier Katzen (CT52, CT58, CT65, CT79) kastriert und eine Katze (CT76) ohne Komplikationen kastriert wurden.

Positive Indikatoren für das Ansprechen auf die Behandlung

Das einfachste Langzeitmaß für die Wirksamkeit der Behandlung war das Körpergewicht. Während und nach der Behandlung trat eine Gewichtszunahme von 20–120% auf, selbst bei Katzen, die 1 Jahr und älter waren, als die Krankheit einsetzte. Jüngere Katzen wuchsen ebenfalls mit zunehmender Geschwindigkeit an Statur, wie von den Besitzern unabhängig festgestellt wurde. Diese Wachstumsschübe nach der Behandlung zeigten, dass FIP bei vielen Katzen vor der Diagnose einige Zeit subklinisch war und das Wachstum beeinflusste. CBCs und ein Chemieprofil erwiesen sich auch als hilfreich, um die späteren Auswirkungen der Behandlung zu überwachen und mögliche Arzneimitteltoxizitäten festzustellen.

CBCs

Katzen zeigten erhöhte Leukozytenzahlen, die innerhalb der ersten 2 Wochen nach der Behandlung auf normale Werte abfielen (Abbildung 3a). Die Lymphopenie wurde zum Zeitpunkt des Eintritts festgestellt und trat in der ersten Behandlungswoche wieder auf (Abbildung 3b). Beim Eintritt wurde eine leichte bis mittelschwere Anämie beobachtet, die sich im gepackten Zellvolumen (PCV) widerspiegelte (Abbildung 4). PCVs kehrten erst nach 6–8 Wochen Behandlung auf normale Werte zurück. Daher waren die absoluten Gesamtzahlen der weißen Blutkörperchen und Lymphozyten nur in der ersten Woche der Behandlung von Wert, während das PCV ein genaueres Bild des Behandlungsfortschritts in den ersten 8 Wochen lieferte.

Abbildung 3 (a) Mittlere Anzahl weißer Blutkörperchen mit Standardfehler für 26 Katzen, die das primäre Behandlungsschema von 12 oder mehr Wochen abgeschlossen haben. (b) Mittlere absolute Blutlymphozytenzahl mit Standardfehler für 26 Katzen, die mindestens 12 Behandlungswochen abgeschlossen haben.

Abbildung 4 Mittleres gepacktes Zellvolumen (PCV) mit Standardfehler für 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden. Die gepunktete Linie zeigt den Trend des Anstiegs des PCV über die Zeit an

Veränderungen in Serumproteinen

Katzen mit FIP zeigten häufig eine überdurchschnittlich hohe Gesamtserumproteinkonzentration, hohes Serumglobulin, niedrige Serumalbuminspiegel und ein niedriges A: G-Verhältnis (Abbildungen 5–7). Abnormale Serumproteinwerte verbesserten sich progressiv und erreichten nach 8–10 Wochen Behandlung normale Werte (Abbildungen 5–7). Die Menge an Gesamtprotein war am wenigsten aussagekräftig, wie aus dem schwachen R²-Wert (0,1883) für die Trendlinie hervorgeht (Abbildung 5). Ein dramatischer und vorübergehender Anstieg der Gesamtproteinspiegel trat jedoch 3 Wochen nach der Behandlung auf (Abbildung 5). Es war mit einem Anstieg der Serumglobuline verbunden (Abbildung 6a) und trat zu einem Zeitpunkt auf, an dem sich die Abdominalergüsse rasch auflösten.

Abbildung 5 Mittlere Gesamtproteinkonzentration im Serum und Standardfehler bei 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden

Abbildung 6 (a) Mittlerer Serumglobulinspiegel und Standardfehler für 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden. (b) Mittlere Serumalbuminwerte und Standardfehler für 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden

Abbildung 7 Mittleres Albumin: Globulin (A / G) -Verhältnis und Standardfehler für 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden

Die Plasmaglobulinspiegel stiegen während der ersten 3 Wochen der Behandlung an, erreichten ihren Höhepunkt und fielen dann bis Woche 9 langsam auf einen maximalen Referenzwert von 4,5 g / dl oder weniger (6a). Obwohl die Globulinspiegel im Laufe der Zeit den Status der Behandlung anzudeuten schienen, machte der niedrige R²-Wert (0,3621) dies zu einem weniger zuverlässigen Indikator für den Behandlungsfortschritt.

Die Albuminspiegel im Serum der 26 Katzen, die mindestens 12 Wochen lang behandelt wurden, waren zum Zeitpunkt des Beginns der Behandlung gewöhnlich niedrig (~ 3,2 g / dl) (6b). Die Albuminspiegel stiegen dann langsam an und erreichten nach 8 Wochen normale Werte. Die Trendlinie für diesen Albuminanstieg hatte einen starken R²-Wert (0,79), was Serumalbuminspiegel sowie PCV zu einem guten Indikator für den Behandlungsfortschritt machte. Erwartungsgemäß zeigte das A: G-Verhältnis im Zeitverlauf eine ebenso starke Trendlinie und erreichte etwa in der achten Behandlungswoche einen Wert über 0,70 (Abbildung 7).

Abnahme der Virus-RNA-Spiegel in Zellen aus Ascitesflüssigkeit, die mit der Behandlung verbunden sind

Sequentielle Aszitesproben wurden von acht Katzen über die ersten 2–9 Tage der antiviralen Behandlung gesammelt und mittels qRT-PCR auf Virus-RNA-Spiegel getestet (Tabelle 2). Ganze Ergüsse oder deren Zellfraktionen waren die

zuverlässigsten Quellen für FIPV-RNA. Bei 7/8 Katzen sanken die Virus-RNA-Spiegel um 2–5 Tage, oftmals auf nicht nachweisbare Werte. Nur eine Katze (CT54) zeigte über einen Zeitraum von 9 Tagen keinen signifikanten Abfall der Virus-RNA-Spiegel.

Nebenwirkungen, die während und nach der Behandlung beobachtet wurden

Reaktionen an der fokalen Injektionsstelle

Es gab zwei Arten von Reaktionen an der Injektionsstelle, und es wurde nicht bestimmt, ob sie durch das Arzneimittel, das Verdünnungsmittel oder beide verursacht wurden. Sofortige Schmerzreaktionen zeigten sich durch Vokalisierung, gelegentliches Knurren und Haltungsveränderungen, die 30 bis 60 Sekunden anhielten. Diese anfänglichen Reaktionen nahmen mit der Zeit ab, da die Besitzer die Injektion besser verabreichten und sich die Katzen besser an die Routine anpassten. 16 von 26 behandelten Katzen zeigten Reaktionen an der Injektionsstelle (Tabelle 3). Die Reaktionen waren in den ersten 4 Wochen am häufigsten und entwickelten sich nur bei 7/16 Katzen zu offenen Wunden. Geschwüre heilten innerhalb von 2 Wochen ab, indem das umliegende Haar abgeschnitten und die Wunde vorsichtig mit einem Wattebausch gereinigt wurde, der zweimal täglich mit einem Teil Wasserstoffperoxid und zwei Teilen Wasser getränkt wurde. Nur drei Katzen hatten an den Injektionsstellen sichtbare Narben.

Systemische Arzneimittelreaktionen

Die Behandlung mit GS-441524 über einen Zeitraum von insgesamt 12 bis 30 Wochen war bemerkenswert sicher. Bei den CBC-Werten wurden keine langfristigen Anomalien beobachtet (Abbildungen 3 und 4). Die Leber- und Nierenfunktionstests sowie die Amylase / Lipase-Spiegel blieben während und nach der Behandlung normal (ergänzende Abbildungen S1 – S3). Die einzige Ausnahme bildete die Katze CT53 mit einem progressiven Anstieg des Harnstoffstickstoffs im Blut (BUN) auf 35 mg / dl (Referenzintervall [RI] 16–37 µg / dl) und einem plötzlichen Anstieg des SDMA (20 µg / dl) (RI) 0–14 µg / dl) nach 8 Wochen in eine dritte Behandlungsrunde mit dem höheren Dosierungsschema von 4 mg / kg. Obwohl diese Anzeichen noch milder Natur waren, wurde aus Vorsicht beschlossen, die Behandlung abubrechen. Diese Anomalien waren 1 Monat später bei der Untersuchung nicht erkennbar und die Katze befindet sich derzeit in Remission.

Autopsiebefunde

Vier Katzen (CT56, CT62, CT72, CT75) wurden eingeschläfert oder starben innerhalb von 2 bis 5 Tagen nach der Einschreibung, und alle außer der Katze CT75 wurden einer Autopsie unterzogen. Eine fünfte Katze (Katze CT54) wurde nach 26 Tagen Behandlung eingeschläfert. Alle fünf dieser Katzen hatten eine schwere abdominale Effusionskrankheit. Die Katzen CT54 und CT56 wiesen Anzeichen einer weit verbreiteten pyogranulomatösen Vaskulitis auf, an der die Eingeweide des Abdomens, das Zentralnervensystem und die Augen beteiligt waren. Cat CT56 hatte auch einen Kompromiss der Ileumwand in einem Bereich mit dichtem Infiltrat und sekundärer bakterieller Sepsis. Cat CT72 hatte eine schwere pyogranulomatöse Vaskulitis, die auf den Bauch beschränkt war, mit einem mittelschweren bis schweren peripheren Ödem und einer Mineralisierung der Nebennierenrinde. Cat CT62 litt an einer schweren pyogranulomatösen und fibrinosuppurativen Peritonitis, die durch eine akute Magenperforation in Verbindung mit Pflanzenmaterial und intraläsionalen Bakterien, die auf eine Sepsis hindeuten, kompliziert wurde. Cat CT75 zeigte eine chronische Form von FIP, die durch starke Wachstumsstörungen, einen massiven Abdominalguss mit niedrigem Proteingehalt / niedrigen Zellwerten, einen Galopprrhythmus, der auf eine beeinträchtigte Herzfunktion hinweist, und ein mäßig schweres peripheres Ödem gekennzeichnet ist. Ein Echokardiogramm zeigte eine bilaterale

Vorhofvergrößerung, jedoch keinen Hinweis auf eine primäre Herzerkrankung. Die Katze schien auf GS-441524 zu reagieren und wurde entlassen. Die Katze geriet 2 Tage später in einen Schockzustand und wurde ohne Autopsie eingeschläfert.

FIPV wurde bei den Katzen CT56, CT72 und CT75 zum Zeitpunkt der Sektion nicht durch qRT-PCR nachgewiesen, obwohl die Aszites-Proben vor der Behandlung positiv getestet worden waren. Aszites von CT54 der Katze war während der gesamten Behandlung mittels qRT-PCR positiv getestet worden (Tabelle 2), und Gewebe waren zum Zeitpunkt der Sektion immunhistochemisch immer noch positiv.

Zwei weitere Katzen wurden nach erfolgreichem Abschluss einer oder mehrerer Behandlungsrunden eingeschläfert. Cat CT57 war nach einer Behandlungsrunde normal, 2 Wochen später jedoch mit schweren neurologischen Symptomen rückfällig. Die Katze reagierte nicht auf eine erneute Behandlung und wurde eingeschläfert. Typische FIP-Läsionen wurden im Gehirn und im Abdomen gefunden, waren jedoch immunhistochemisch für Nucleocapsid-Protein oder für 7b-RNA mittels qRT-PCR FIPV-negativ. Cat CT80 wurde erfolgreich gegen effusive abdominale FIP behandelt, entwickelte jedoch 4 Wochen später starke Schmerzen im Bereich des Hinterbeins und des unteren Rückens und wurde eingeschläfert. Bei der Katze wurde eine ausgeprägte Verdickung der linken Ventrikelwand und des Septums festgestellt, die zu einer starken Verengung der Kammer führte (Abbildung 8). Das mikroskopische Erscheinungsbild der linken Herzkammerwand war typisch für eine angeborene katzenartige hypertrophe Kardiomyopathie (HCM). Es wurden keine groben oder mikroskopischen FIP-Läsionen in Bauch, Brust, Augen, Gehirn oder Wirbelsäule gefunden, und FIPV-Antigen und -RNA wurden durch qRT-PCR nicht nachgewiesen.

Abbildung 8 Querschnitt durch das Herz der Katze CT80 mit extremer Hypertrophie der linken Ventrikelwand und des Septums sowie extremer Verengung der Kammer

Diskussion

GS-441524 ist das zweite gezielte antivirale Medikament nach GC376, das in den letzten zwei bis drei Jahren für die Behandlung von Katzen mit FIP untersucht wurde.^{6,12,15} Diese beiden Medikamente hemmten die Virusreplikation auf zwei sehr unterschiedliche Arten, entweder durch Beendigung des Virus RNA-Transkription oder Blockierung der viralen Polyproteinspaltung. Beide Prozesse sind gut etablierte Ziele für verschiedene Viruserkrankungen bei Menschen.¹ Eine Schlüsselfrage ist, wie sich die Behandlung mit einem Nukleosidanalogen mit der eines viralen Proteaseinhibitors vergleichen lässt. Die beiden Wirkstoffe ergaben in Gewebekultur- und experimentellen Katzeninfektionsstudien praktisch identische Ergebnisse. Die Wirksamkeit gegen natürlich vorkommendes FIP schien mit GS-441524 jedoch höher zu sein als mit GC376. Sechs von 20 mit GC376 behandelten Katzen sind bis heute in Remission (Pedersen NC, unveröffentlichte Daten, 2018), verglichen mit 25/31 mit GS-441524 behandelten Katzen. Krankheitsrückfälle, die nicht auf eine erneute Behandlung ansprachen, traten bei 14/20 Katzen mit GC376 und nur einer mit GS-441524 behandelten Katze auf. Acht der 14 mit GC376 assoziierten Rückfälle waren neurologischer Natur, verglichen mit 2/8 Rückfällen mit GS-441524. Einer von zwei neurologischen Rückfällen bei mit GS-441524 behandelten Katzen reagierte auf eine erneute Behandlung mit einer höheren Dosis, wohingegen neurologische Rückfälle mit GC376 selbst bei erhöhter Dosis nicht mehr behandelbar waren. Beide Behandlungen verursachten ähnliche Reaktionen an der Injektionsstelle. Beide Medikamente scheinen ziemlich sicher zu sein, obwohl GC376 die Entwicklung von bleibenden Zähnen beeinträchtigte, wenn es

jüngeren Kätzchen verabreicht wurde.

Obwohl die Ergebnisse von Feldtests GS-441524 zu bevorzugen scheinen, kann ein Teil des Unterschieds durch die Art und Weise der Verabreichung der beiden Arzneimittel beeinflusst worden sein. Die Wirksamkeit von GC376 könnte sich verbessert haben, wenn alle 20 Katzen 12 Wochen lang ohne Unterbrechung behandelt worden wären, anstatt ab nur 2 Wochen für immer längere Zeiträume behandelt zu werden. Fünf der sechs mit GC376 geheilten Katzen gehörten zu den sieben Katzen, die kontinuierlich behandelt wurden. Während 12 Wochen wurde nur eine von 13 Katzen geheilt, die über kürzere Zeiträume ein- oder mehrmals behandelt wurden. Diese kürzeren Behandlungszeiten waren für die Bestimmung des 12-wöchigen Zeitraums, der für alle Katzen in der vorliegenden Studie verwendet wurde, wesentlich. Der GC376-Feldversuch umfasste auch weniger Katzen und war durch eine begrenzte Zufuhr des Arzneimittels eingeschränkt, was es schwierig machte, andere Dosierungsschemata zu testen. Daher sollte GC376 mindestens 12 Wochen lang mit einer höheren Dosierung und einer größeren Anzahl von Katzen weiter untersucht werden, bevor endgültige Vergleiche durchgeführt werden. Es wäre auch zu einem späteren Zeitpunkt wichtig, beide Arten von Arzneimitteln in Kombination zu untersuchen, wie dies bei HIV / AIDS und Hepatitis C der Fall ist.

In jeder Studie dieser Art muss mit frühen Todesfällen gerechnet werden. Wie sollten sie bei der Analyse der Wirksamkeit berücksichtigt werden? Die fünf frühen Todesfälle in dieser Studie wurden in die Analyse der Wirksamkeit von GS-441524 einbezogen, jedoch in der GC376-Studie nicht berücksichtigt. Wenn sie in die Studie aufgenommen werden, ist es wichtig, den Virusstatus zum Zeitpunkt des Todes zu bestimmen. Bei den drei nekrotisierten Katzen, die nach 2 bis 5 Tagen GS-441524-Behandlung verstarben, wurde keine virale RNA nachgewiesen, was darauf hindeutet, dass das Medikament wirksam war, der Krankheitsprozess jedoch zu weit fortgeschritten war. Dies schien bei einer vierten, 26 Tage überlebenden, getöteten Katze nicht der Fall zu sein. Die Virus-RNA-Spiegel nahmen während der gesamten Behandlungsdauer nicht ab und die Anzeichen für eine Krankheit waren unvermindert. Daher ist es möglich, dass diese Katze gestorben ist, weil die Virusreplikation nicht gestoppt werden konnte. Die Resistenz gegen GS-5734 (Remdesivir), ein Prodrug von GS-441524, wurde mit Aminosäuremutationen in RNA-Polymerase und Korrekturlesen von Exonuklease in Coronaviren in Gewebekultur in Verbindung gebracht. Ob bei dieser Katze eine ähnliche Resistenz aufgetreten ist, muss noch bestimmt werden. Arzneimittelresistenz wurde auch bei einer Katze in der GC376-Studie beobachtet. Glücklicherweise zeigte keine der anderen Katzen in der aktuellen Studie zu irgendeinem Zeitpunkt Anzeichen einer Arzneimittelresistenz. Bei zukünftigen Katzen, die auf eine Primär- oder Sekundärbehandlung nicht oder nur unzureichend ansprechen, muss dies jedoch berücksichtigt werden.

Die Anfangsdosis von GS-441524, die in der vorliegenden Studie verwendet wurde, wurde aus früheren pharmakokinetischen und experimentellen Infektionsstudien mit Laborkatzen bestimmt. Diese Studien zeigten, dass sowohl 2,0 als auch 5,0 mg / kg SC q24h für 14 Tage für Feldtests gleichermaßen wirksam sind. Daher wurde für den Feldversuch die Dosis von 2,0 mg / kg gewählt, um den Drogenkonsum um 60% zu senken. Obwohl diese Entscheidung bei 18/26 Katzen bestätigt wurde, erlitten acht andere Katzen entweder einen Krankheitsrückfall (zwei zum zweiten Mal) oder benötigten längere Behandlungszeiten, um die wichtigsten Blutwerte wieder auf den Normalwert zu bringen. Daher wurde beschlossen, die Dosierung von GS-441524 bei Katzen, die einen Rückfall hatten oder eine längere Behandlung benötigten, von 2,0 mg / kg auf 4,0 mg / kg SC q24h zu erhöhen. Der Erfolg von

4,0 mg / kg SC q24h bei mindestens 12 solcher Katzen sowie einer Katze mit neurologischen Erkrankungen führte zu der Schlussfolgerung, dass es sich um eine wirksamere Dosierung handelt und die Grundlage für eine künftige Behandlung sein sollte.

Es war wichtig, einfache biologische Marker des Fortschritts über die Behandlungszeiträume von 12 Wochen zu verfolgen. PCV-, Serumgesamtprotein-, Globulin- und Albuminspiegel und das A: G-Verhältnis wurden als nützliche Marker identifiziert. Anhand dieser Parameter zeigte sich, dass sich die Katzen nach 6–10 Wochen Behandlung nicht vollständig erholt hatten. Dieser Befund bestätigte die in einem früheren GC376-Feldversuch festgelegte Mindestbehandlungsdauer von 12 Wochen.⁶ Anämie chronischer Erkrankungen (Entzündungsanämie) betrifft 18–95% der Menschen mit akuten und chronischen Infektionen und ist normozytisch / normochrom und nicht mit Eisenmangel assoziiert. Plasmaalbuminspiegel waren auch ein gutes Maß für die Krankheitsaktivität, und es ist bekannt, dass niedrige Albumin- und niedrige PCV-Werte bei chronischen Erkrankungen zusammenfallen. Hyperglobulinämie bei Katzen mit FIP wurde als infektiös / entzündlich eingestuft und wird durch Erhöhungen verursacht in allen Gammaglobulinklassen und mit variablem Anstieg der Alpha-2-Globuline. Die starke Tendenz bei Katzen mit FIP, einen hohen Serumglobulin- und einen niedrigen Albuminspiegel zu haben, macht das A: G-Verhältnis zu einem besonders guten Indikator für die Krankheitsaktivität.

Es wurde erwartet, dass die Rassekatzen aufgrund einer genetischen Schwäche in ihrer Fähigkeit, immunologisch auf FIPV22 zu reagieren, nicht so gut auf die Behandlung ansprechen würden und dass jüngere Katzen mit effusiver FIP am reaktionsfähigsten wären. Die Rassekatzen in der vorliegenden Studie antworteten jedoch ebenso wie die zufällig gezüchteten Katzen spiegelten auch die Rassen, die von den Katzen in der Studie vertreten wurden, hauptsächlich die aktuelle Beliebtheit der Rassen wider. Ältere Katzen und Katzen mit reinem, nicht effusivem FIP sprachen ebenso gut auf die GS-441524-Behandlung an wie junge Katzen und Katzen mit effusivem FIP. Wenn ein Teil der Katzen mit Augen- und neurologischen Erkrankungen auch erfolgreich mit GS-441524 behandelt werden kann, sollten keine klinischen Manifestationen von FIP als unbehandelbar angesehen werden.

Das Sicherheitsprofil des GS-441524 war beeindruckend. Mit einer möglichen Ausnahme wurde über die gesamten Behandlungszeiträume von 12 bis 30 Wochen kein systemisches Anzeichen einer Toxizität auf der Grundlage von CBC- und Serumchemiewerten beobachtet. Eine Katze (CT53) hatte einen leichten Anstieg von BUN und SDMA innerhalb von 8 Wochen in einer dritten Behandlungsrunde und musste vorsorglich gestoppt werden. Basierend auf früheren Erfahrungen mit GC376,⁶ gab es Bedenken hinsichtlich der Auswirkung von GS-441524 auf die Entwicklung des bleibenden Gebisses. Drei Katzen (CT52, CT74, CT77) in der vorliegenden Studie waren 4 Monate alt oder jünger und hatten immer noch ihr jugendliches Gebiss, und keine zeigte nachfolgende Zahnanomalien. Reaktionen an der Injektionsstelle wurden mit GS-441524 beobachtet, waren jedoch bemerkenswert selten und leicht zu behandeln. Es wurde nicht festgestellt, ob das Medikament, das Verdünnungsmittel oder beide schuld waren. Der pH-Wert des Verdünnungsmittels von 1,5 lag deutlich unter dem Mindestschwellenwert für die Verabreichung von Nahrungsmitteln und Arzneimitteln (FDA) von 4,5, doch ist es schwierig, Arzneimittel dieses Typs bei einem physiologischeren pH-Wert zu solubilisieren und zu stabilisieren. Es sollten jedoch mehr physiologische Verdünnungsmittel bewertet werden.

Eine Katze in der Studie (CT80) hatte verwirrende klinische Anzeichen. Obwohl die Katze eine effusive abdominale FIP aufwies, hatte sie auch langanhaltende Anzeichen einer vagen Lahmheit der Hinterbeine, Schmerzen im unteren Rückenbereich, periodische Sturzanfälle, Abneigung, zu höheren Stellen zu springen und unerklärliche und vorübergehende Verhaltensänderungen. Diese Anzeichen veranlassten die Katze, für eine lange Zeit behandelt zu werden, nachdem der Abdominalerguss verschwunden war. Letztendlich wurde entschieden, die Behandlung abubrechen und zu prüfen, ob charakteristischere FIP-Zeichen erneut auftreten würden. Die Katze wurde schließlich eingeschläfert und es wurde festgestellt, dass sie angeborene HCM vom Typ und keine verbleibenden Läsionen von FIP oder viraler RNA in irgendeinem Gewebe nach der Sektion aufwies. Eine dilatative Kardiomyopathie wurde bei 17,6% der HIV-Infizierten unter chronischer antiretroviraler Therapie berichtet.²³ Es wurde jedoch der Schluss gezogen, dass GS-441524 bei dieser Katze nicht die Ursache der Herzerkrankung war. Bei dieser Katze war die Herzkrankheit eher hypertroph als die bei HIV-Patienten beobachtete dilatative Form, und HCM ist eine häufige Erkrankung bei Schutzkatzen.²⁴

Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse der 31 mit GS-441524 behandelten Katzen übertrafen die Erwartungen und deuten darauf hin, dass FIP unabhängig von der Signal- oder Krankheitsform eine behandelbare Krankheit ist, bei der Nukleosidanaloga eingesetzt werden. Das Studiendesign und die Behandlungsparameter, die aus diesem begrenzten Feldversuch ermittelt wurden, werden für zukünftige Bemühungen zur Kommerzialisierung dieses oder ähnlicher Arzneimittel gegen FIP von entscheidender Bedeutung sein. Danksagung Wir möchten den Mitarbeitern des Zentrums für Gesundheit von Heimtieren für die Unterstützung bei Drogentransporten (Lyra Pineda-Nelson und Nancy Bei) und der Datenpräsentation (Cynthia Echeverria) danken. Wir sind besonders dankbar für die vielen Besitzer und die 31 Katzen, die an einer emotionalen und anstrengenden Reise teilgenommen haben, die alle Erwartungen übertroffen hat. Wir sind auch den privaten Tierärzten dankbar, die bei der regelmäßigen Blutuntersuchung behilflich waren und bei Bedarf für uns und ihre Patienten / Besitzer da waren.

Erstellt: 28. Dezember 2018