

УРОВЕНЬ АДАЛИМУМАБА И ТИТР АНТИТЕЛ К НЕМУ ОПРЕДЕЛЯЕТ ЭФФЕКТИВНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКОЙ (АНТИЦИТОКИНОВОЙ) ТЕРАПИИ ПРИ БОЛЕЗНИ КРОНА

Лазебник Л.Б., Сагынбаева В.Э.

ГБУЗ ЦНИИ гастроэнтерологии ЗД г. Москвы

Сагынбаева Венера Эсенбаевна.

E-mail: venera_32@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

Образование иммунных антител к адалимумабу (АДА) у больных болезнью Крона в настоящее время имеет большое клиническое значение, поскольку антитела (АТ) влияют на биодоступность, фармакокинетические, фармакодинамические показатели, что в конечном счете сказывается на выраженности клинического ответа на лечение. Результаты настоящего исследования свидетельствуют, что после терапии адалимумабом через 12–14 недель ни в одном случае не наблюдалось повышение антител к адалимумабу. Синхронное изучение концентрации адалимумаба (АДА) и антител к АДА в сыворотке крови позволяет определить эффективность антицитокиновой терапии адалимумабом при болезни Крона.

Ключевые слова: адалимумаб; антитела к адалимумабу; болезнь Крона; уровень лекарственного препарата (адалимумаба); ФНО- α

SUMMARY

Formation of immune antibodies to adalimumab (ADM) in patients with Crohn's disease currently has high clinical value, as antibodies (AT) influence on bioavailability, pharmacokinetic, pharmacodynamic indicators, that eventually affects expression of clinical response to treatment. The results of this study indicate that after treatment with adalimumab in 12-14 weeks in any case there was not an increase of antibodies to adalimumab. Synchronous study of concentration of adalimumab (ADA) and antibodies to ADA in serum to determine the effectiveness of anti-cytokine therapy with adalimumab in Crohn's disease.

Keywords: adalimumab; antibodies to adalimumab, Crohn's disease, the level of the drug (adalimumab), TNF- α

В патогенезе ВЗК доказана важная роль ФНО- α , который является новой мишенью для современной биологической терапии. У больных с болезнью Крона (БК) в ткани кишечника в глубоких слоях собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистого слоя обычно отмечаются высокие уровни ФНО- α , в то время как у больных с язвенным колитом (ЯК) высокие уровни ФНО- α обнаруживаются в субэпителиальном и верхнем слоях собственной пластинки слизистой оболочки. Вследствие высокой связи этих заболеваний с повышенным уровнем провоспалительного ФНО- α в пораженных тканях этот цитокин является целью терапевтического вмешательства [1]. ФНО- α является медиатором межклеточного взаимодействия и играет центральную роль в воспалительном ответе. Сигнальная трансдукция ФНО ФНО- α вовлекается

в клеточный метаболизм, процессы тромбоза, апоптоза и фибринолиза, что приводит к формированию гранулемы [2]. Считается, что при БК и ЯК ФНО- α оказывает влияние на кишечный барьер, запускает механизм апоптоза в кишечных ворсинках, стимулирует синтез хемокинов в эпителиальных клетках и увеличивая продукцию молекул адгезии, таких как Е-селектин [3].

Для разработки первого поколения противовоспалительных биологических препаратов, направленных на «нейтрализацию» ФНО- α , использовалась технология рекомбинантных моноклональных антител. В 1998 году Управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами (FDA — Food and Drug Administration) одобрило использование инфликсимаба (ИНФЛ) для лечения БК. С января 2010 года адалимумаб (хумира) был



одобрен для применения в 82 странах и использован для лечения 420 000 больных [4].

Адалимуаб (АДА) — первое моноклональное антитело, полностью идентичное человеческому. Адалимуаб структурно и функционально идентичен натуральному, полному человеческому иммуноглобулину G1 (IgG1), имеет те же свойства, что и натуральный человеческий IgG, такие как период полувыведения. Период полувыведения АДА составляет 14 дней, это обеспечивает удобный стандартный режим дозирования — 40 мг 1 раз в две недели. АДА обладает высоким сродством (аффинностью) к ФНО- α и нарушает способность ФНО- α связываться с растворимыми и мембранно-связанными рецепторами. АДА нейтрализует активность ФНО- α путем блокирования его взаимодействия с p55 и p75, рецепторами ФНО- α на поверхности клеток. АДА образует относительно крупные, стабильные, трехмерные комплексы, которые быстро и эффективно выводятся из организма [1,12]

Фармакокинетика адалимуаба. Выработка антител (АТ) к анти-ФНО- α препаратам снижает их минимальные концентрации в сыворотке крови, таким образом, влияя на фармакокинетику этих препаратов. АДА вводят подкожно, биодоступность активных соединений у больных различается, а минимальные уровни более восприимчивы к наличию АТ. Данные об уровнях АДА в сыворотке крови и их связи с эффективностью препарата ограничены, поскольку они не фиксировались во время основных регистрационных клинических исследований. Биодоступность АДА, рассчитанная в процессе усреднения данных трех исследований, в которых здоровые добровольцы получали АДА однократно в дозе 40 мг/кг, составляла 64%. Фармакокинетические показатели были линейны в этом диапазоне доз [5].

Иммуногенность адалимуаба. У генетически предрасположенных больных антитела (АТ) к ФНО- α препаратам могут вырабатываться в ответ на компоненты IgG1 человека. Как описывалось ранее, присутствие антител к препаратам может снижать их клинический эффект за счет влияния на биодоступность и/или фармакокинетические или фармакодинамические показатели, в конечном счете сказывается на уровне клинического ответа на лечение [6]. В некоторых случаях, если АТ к препаратам имеют низкую аффинность или не способны взаимодействовать с препаратом, эффективность антагонистов остается неизменной. Было показано, что сопутствующая иммуносупрессивная терапия, например с применением таких препаратов, как азатиоприн (АЗА) или метотрексат, повышает минимальные сывороточные уровни активированных анти-ФНО- α препаратов и снижает образования антител, хотя точный механизм этого процесса понятен не до конца.

Подобно инфликсимабу, АДА может стимулировать выработку антител к АДА у некоторых больных с БК, однако этот показатель для адалимуаба

исследован меньше, так как в большинстве клинических исследований уровень антител к АДА не регистрировался. Тем не менее предполагается, что этот показатель схож с таковым для ИНФЛ и на него оказывают влияние те же самые факторы. Так, в одном исследовании, изучавшем АДА в качестве препарата поддерживающей терапии, было обнаружено, что при лечении АДА АТ к нему появляются у 9,2% больных, что сопровождается низкими минимальными уровнями АДА в сыворотке крови [7]. Дополнительные данные, полученные в трех исследованиях ревматоидного артрита, показывают, что примерно у 5% больных развивается низкий титр АТ, которые впоследствии нейтрализуют АДА *in vitro*. У больных, получавших одновременно лечение метотрексатом, уровень АТ был ниже, чем у больных, получавших лечение только АДА (1 против 12%). [1]. В качестве отступления следует сказать, что данные, полученные при исследовании ревматоидного артрита, показывают, что риск образования АТ к АДА выше у больных, у которых ранее развились АТ к ИНФЛ [8]. Опыт показывает, что это не относится к больным с БК и ЯК. АДА вводили больным с БК, не отвечающим на лечение ИНФЛ, две трети которых успешно прошли лечение за средний период наблюдения за 2 года. Из всех пациентов только у 9,2% развились АТ против АДА [9]. Больных с потерей ответа на лечение и тех, у кого развилась непереносимость ИНФЛ, можно успешно лечить с помощью индукционной терапии АДА с последующим длительным поддерживающим лечением [10]

АДА оказался менее иммуногенным, чем ИНФЛ. В 3 рандомизированных исследованиях кумулятивная частота выявления АТ к АДА среди 1062 больных с ревматоидным артритом составила 6%. Сопутствующая терапия метотрексатом было сопряжена со сниженной частотой выработки АТ. У 12% больных, получавших только АДА, были выявлены АТ, в то время как среди больных, получавших АДА в комбинации с метотрексатом, АТ к АДА выявлены только у 1% случаев. Сходные данные получили Weinblatt и соавт., а именно что АТ к АДА выявлены только у 1% больных, дополнительно получавших метотрексат [11].

Хотя последствия образования АТ к анти-ФНО препаратам еще не полностью изучены, результаты новейших исследований позволяют предположить, что образование таких АТ может приводить к разнообразным клиническим проявлениям. По всей вероятности, иммуногенность связана с повышенной частотой инфузионных реакций и сокращенной продолжительностью клинического ответа. Уменьшению антителообразования и оптимизации лечения может способствовать сопутствующее назначение иммуносупрессивных препаратов, таких как метотрексат, и увеличение частоты приема АДА.

Таким образом, после введения препарата концентрация АДА в сыворотке крови и образование АТ к нему при БК еще не полностью изучены. Вышеизложенные обстоятельства определили цель настоящего исследования.

Цель исследования — изучить синхронно концентрацию провоспалительного цитокина — ФНО- α , уровень АДА и титр антител к нему в сыворотке крови для изучения эффективности антицитокиновой терапии при болезни Крона.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 7 больных БК с хроническим рецидивирующим и непрерывным течением, получавших адалимумаб, из них 4 мужчин, 3 женщины. Возраст больных составлял от 22 до 51 года, средний возраст — $39,8 \pm 3,8$ года ($M \pm \sigma$). Диагноз верифицирован данными клинических, лабораторных, гистологических и инструментальных методов исследования.

Из 7 больных БК у 3 наблюдалось БК тонкой и толстой кишки, у 2 — БК тонкой кишки, у 1 — БК толстой кишки. Длительность заболевания составляло от 1 до 20 лет, в среднем $5,5 \pm 2,3$ года ($M \pm \sigma$). По характеру течения у 6 (85,7%) больных наблюдалось хроническое рецидивирующее и у одного (14,3%) — непрерывное течение БК. Среди 7 больных БК гормонорезистентность была у одного (14,3%) и гормонозависимая форма БК — у 6 (85,7%). Среди 7 больных БК, получавших адалимумаб, у 5 чел. (71,4%) выявлено осложненное течение заболевания, из них у 3 (42,8%) обнаружены стеноз сигмовидной кишки, у 2 (28,5%) — кишечное кровотечение, у 3 (42,8%) больных выявлены внекишечные проявления: полиартрит.

Введение адалимумаба (Хумира®) осуществлялось согласно общепринятой схеме лечения больных БК. Индукционный курс: 160 мг в 1-й день (применяется по четыре инъекции по 40 мг в день или по две инъекции по 40 мг в день последовательно в течение двух дней), повторное введение препарата в дозе 80 мг производилось через 2 недели после первого введения. Поддерживающая терапия: введение адалимумаба по 40 мг каждые 8 недель.

Из 7 больных БК 4 получали АДА + азатиоприн (АЗА), двое — АДА + ГКС, один — АДА + 5-АСК. Для суждения об эффективности проводимой терапии у больных, получавших адалимумаб, одновременно определяли уровень ФНО- α , концентрацию АДА и уровень антител к нему в сыворотке крови иммуноферментным методом с применением тест-систем *Bender MedSystems* (Австрия), *Immunodiagnostik* (Германия). Статистическая обработка данных проводилась с использованием компьютерной программы *Statistica 6.0*, достоверность полученных величин определяли при помощи критерия Манна — Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали результаты настоящего исследования, у больных БК концентрация провоспалительного цитокина — ФНО- α в сыворотке крови больных БК после введения АДА через 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 недель находилась в пределах нормы и составляла $37,2 \pm 18,9$, $48,8 \pm 18,9$, $50,6 \pm 19,2$, $39,1 \pm 21,3$, $35,7 \pm 23,1$, $44,8 \pm 21,9$, $34,7 \pm 34,6$ пг/мл соответственно.

Концентрация АДА в сыворотке крови больных колебалась от 5 до 54 мкг/мл (максимальная концентрация) при средних значениях: $8,2 \pm 5,3$, $20,2 \pm 5,5$, $25,4 \pm 5,6$, $34,0 \pm 4,6$, $26,8 \pm 4,7$, $27,8 \pm 13,8$, $36,0 \pm 18,0$ мкг/мл соответственно. У всех больных БК после введения АДА отмечалось постепенное повышение концентрации препарата от $8,2 \pm 5,3$ до $34,0 \pm 4,6$ мкг/мл ($p < 0,001$), (при норме < 5 мкг/мл). Данное повышение концентрации препарата в течение 8 недель (при нормальном уровне ФНО- α) сопровождалось у большинства больных уменьшением активности БК — снижением индекса Беста с $227,8 \pm 16,2$ до $195,6 \pm 19,8$ балла ($p < 0,001$), урежением частоты стула с $2,6 \pm 0,4$ до $1,8 \pm 0,1$ раза в сутки ($p < 0,001$), лабораторные показатели активности воспалительного процесса — СРБ и число лейкоцитов — были в пределах нормы.

В 100% случаев не было отмечено повышения уровня антител к АДА, при этом средняя концентрация антител к АДА составляла: $0,67 \pm 0,1$, $0,61 \pm 0,06$, $0,56 \pm 0,1$, $0,66 \pm 0,05$, $0,88 \pm 0,1$, $1,27 \pm 0,02$, $0,82 \pm 0,1$ соответственно (при норме $< 1,5$). Динамика индексов клинической активности, частота стула, провоспалительного цитокина (ФНО- α), уровень АДА и АТ к АДА, уровни СРБ и число лейкоцитов представлены в *табл. 1*.

Однако через 10–12 недель после 6–7 введений АДА отмечалось постепенное снижение уровня АДА в сыворотке крови с $34,0 \pm 4,6$ до $26,8 \pm 4,7$ мкг/мл ($p < 0,01$), содержание АТ к АДА, напротив постепенно повышалось с $0,66 \pm 0,05$ до $1,27 \pm 0,02$ (при норме $< 1,5$) ($p < 0,001$). Снижение уровня АДА и незначительное увеличение содержания АТ к АДА сопровождалось с повышением индекса клинической активности заболевания по Best со $195,6 \pm 19,8$ до $238,0 \pm 34,6$ балла ($p < 0,01$), появлением боли в животе, увеличением частоты стула с $1,8 \pm 0,1$ до $3,4 \pm 1,0$ раз/сут ($p < 0,001$) и повышением уровня СРБ с $4,3 \pm 1,4$ до $13,7 \pm 9,3$ мг/л ($p < 0,02$). Далее, через 14 недель после очередного введения АДА, вновь отмечалось постепенное повышение концентрации препарата с $27,8 \pm 13,8$ до $36,0 \pm 18,1$ мкг/мл ($p = 0,359$), содержание АТ к АДА, напротив, снижалось с $1,27 \pm 0,02$ до $0,82 \pm 0,1$ ($p < 0,001$). Повышение концентрации препарата в течение 8 недель (при нормальном уровне ФНО- α) сопровождалось у большинства больных уменьшением активности БК — снижением индекса Беста с $238,0 \pm 34,6$ до $210,0 \pm 30,5$ балла

Таблица 2

| ДИНАМИКА ИНДЕКСОВ КЛИНИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ, ЧАСТОТЫ СТУЛА, УРОВНЯ АДА И АТ К АДА, УРОВНЯ СРБ, ЛЕЙКОЦИТОЗА И СОЭ НА ФОНЕ ПРОВОДИМОЙ ТЕРАПИИ АДАЛИМУМАБОМ БОЛЕЗНИ КРОНА У БОЛЬНОЙ Г., 31 ГОД | | | | |
|--|----------|-------------|--------------|----------|
| Показатели | 11 введ. | 12–13 введ. | 14–16 введ. | 17 введ. |
| Доза АДА (п/к) | 40 мг | 80 мг | 120 мг + МСК | 40 мг |
| Уровень АДА (мкг/мл) | 18,1 | 1,4 | 17,8 | 26 |
| АТ к АДА | 1,1 | 1,75 | 1 | 0,4 |
| Индекс Беста (баллы) | 325 | 380 | 280 | 235 |
| Частота стула (в/сут) | 2 | 10 | 6 | 4 |
| СРБ (мг/л) | 7,85 | 50,26 | 20,79 | 10,37 |
| Число лейкоцитов | 9,4 | 11,9 | 11,4 | 4,2 |
| СОЭ (мм/ч) | 16 | 50 | 29 | 22 |

($p = 0,134$), снижением частоты стула с $3,4 \pm 1,0$ до $2,3 \pm 0,8$ раз/сут ($p < 0,04$) и уменьшением уровня СРБ с $13,7 \pm 9,3$ до $9,4 \pm 5,7$ мг/л ($p = 0,310$).

Уровни лейкоцитов в крови колебались от 5 до 10,5 тыс. при средних значениях $6,1 \pm 0,6$, $8,2 \pm 0,7$, $7,0 \pm 0,7$, $7,5 \pm 0,7$, $7,1 \pm 0,7$, $7,7 \pm 1,1$, $6,8 \pm 1,8$ тыс. (при норме 4–9 тыс.) соответственно.

Однако после 12 введений из 7 больных БК у одной пациентки развился рецидив заболевания.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Больная Г, 31 лет. Диагноз: БК тонкой и толстой кишки, хроническое непрерывно рецидивирующее течение, гормонозависимая и гормонорезистентная форма, с внекишечными проявлениями: полиартрит.

Как видно из табл. 2, у больной Г, 31 год, после 11 введений АДА отмечалось обострение заболевания: периодические боли в животе, метеоризм, боли в суставах нижних конечностей, появился жидкий стул до 10 раз/сут с примесью слизи, без крови. При обследовании в отделении патологии кишечника клиническая активность (индекс Best) составила 380 баллов, уровень СРБ повышался до 50,26 мг/л, лейкоцитоз — до 11,9 тыс., повышение СОЭ — 50 мм/ч. В сыворотке крови содержание антител к АДА повышалось с 0,5 до 1,75 (при норме $< 1,5$), а уровень АДА, напротив, снизился с 34 до 1,4 мкг/мл. Больной проведено 12 введений подкожных инъекций АДА в дозе 80 мг (без осложнений). Через 2 недели, учитывая выявление при колоноскопии язвы в куполе слепой кишки, принято решение о сокращении интервала в лечении с 14 до 7 дней: больной проведено 13-е, 14-е, 15-е подкожные введения АДА в дозе 120 мг п/к (по 40 мг п/к с интервалом раз в неделю в течение 3 недель, без осложнений). Также, учитывая рецидив болезни Крона, помимо адалимумаба больной проведена однократная системная трансплантация аллогенных мезенхимальных стромальных клеток (МСК)

костного мозга с целью повышения эффективности проводимой антицитокиновой терапии. Далее поддерживающая доза 40 мг каждые 2 недели. У данной больной постепенно наступила клиническая ремиссия. Содержание АТ к АДА снизилось с 1,75 до 0,4, уровень АДА, напротив, поднялся с 1,4 до 26 мкг/мл. Индекс клинической активности заболевания по Best снизился с 380 до 235 баллов, боли в животе уменьшились, частота стула учредилась с 10 до 4 раз/сут. Также уменьшилась активность воспалительного процесса: уровень СРБ — с 50, мг/л до 10,37 мг/л, лейкоциты — с 11,9 до 4,2 тыс., СОЭ — с 50 до 22 мм/ч.

ВЫВОДЫ

Выполненные исследования свидетельствуют, что даже незначительное повышение содержания антител к адалимумабу может снижать его клинический эффект за счет влияния на биодоступность и/или фармакокинетические или фармакодинамические показатели, что в конечном счете сказывается на выраженности клинического ответа на лечение.

Трансплантация МСК способствует элиминации антител к адалимумабу, тем самым повышает эффективность проводимой антицитокиновой терапии.

При болезни Крона после терапии адалимумабом через 12–14 недель повышение содержания антитела к адалимумабу в сыворотке крови не наблюдалось, что коррелировало с улучшением клинической картины (уменьшением или купированием болевого синдрома, нормализацией стула и др.) и уменьшением индекса эндоскопической активности

Синхронное изучение концентрации адалимумаба, провоспалительного цитокина — ФНО- α и антител к адалимумабу в сыворотке крови позволяет оценить эффективность антицитокиновой терапии адалимумабом при болезни Крона.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kozuch, P.L.* General principles and pharmacology of biologics in inflammatory bowel disease / P.L. Kozuch, S.B. Hanauer // *Gastroenterol. Clin. North Am.* — 2006. — Vol. 35. — P. 757–773.
2. *Etchevers, M.J.* Optimizing the use tumor necrosis factor inhibitors in Crohns disease: a practical approach / M.J. Etchevers, I. Ordas, E. Ricart // *Drugs.* — 2010. — Vol. 70. — P. 109–120.
3. *Bosani, M.* Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases / M. Bosani, S. Ardizzone, G.B. Porro // *Biologics.* — 2009. — Vol. 3. — P. 77–97.
4. Evaluate Pharma. Available et: <http://evaluatepharma.com>. Accessed June. — 2010. — No. 8.
5. Abbott Laboratories. Humira-medication guide. North Chicago (IL): Abbott Laboratory. — 2009.
6. *Bendtzen, K.* Individual medicine in inflammatory bowel disease: monitoring bioavailability, pharmacokinetics and immunogenicity of anti-tumor necrosis factor-alpha antibodies / K. Bendtzen, M. Ainsworth, C. Steenholdt et al. // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 44. — P. 774–781.
7. *Karmiris, K.* Influence of trough serum levels and immunogenicity on long-term outcome of adalimumab therapy in Crohns disease / K. Karmiris, G. Paintaud, M. Noman et al. // *Gastroenterology.* — 2009. — Vol. 137. — P. 1628–1640.
8. *Bartelds, G.M.* Anti-infliximab and anti-adalimumab antibodies in relation to response to adalimumab in infliximab switchers and anti-tumor necrosis factor naïve patients: a cohort study / G.M. Bartelds, C.A. Wijbrandts, M.T. Nurmohamed et al. // *Ann. Rheum. Dis.* — 2010. — Vol. 69. — P. 817–821.
9. *Roch, J.R.* Retrospective evaluation of the safety and effect of adalimumab therapy (RESEAT) in pediatric Crohns disease / J.R. Roch, T. Lerer, J. Markowitz et al. // *Am. J. Gastroenterol.* — 2006. — Vol. 104. — P. 3042–3049.
10. *Affif, W.* Open-label study of adalimumab in patients with ulcerative colitis including those with prior loss of response or intolerance to infliximab / W. Afif, J.A. Leighton, S.B. Hanauer et al. // *Inflamm. Bowel Dis.* — 2009. — Vol. 15. — P. 1302–1307.
11. *Weinblatt, M.E.* Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate / M.E. Weinblatt, E.C. Ketystone, D.E. Furst et al. // *The ARMADA Trial. Arthritis Rheum.* — 2003. — Vol. 48. — P. 35–45.
12. *Халиф, И.Л.* Биологическая терапия болезнь Крона. Монография / И.Л. Халиф. — 2011. — С. 20.