



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PISA

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di laurea specialistica in Medicina e Chirurgia

TESI DI LAUREA

“Reazioni di ipersensibilità al Tocilizumab”

RELATORE

Prof.ssa Paola Migliorini

CANDIDATO

Giuseppe Cataldo

ANNO ACCADEMICO 2012/2013

INDICE

INTRODUZIONE.....	3
1. INTERLEUCHINA-6.....	3
2. RUOLO DELLA IL-6 NELL' INFIAMMAZIONE.....	4
3. L'ARTRITE REUMATOIDE.....	5
4. RUOLO DELL' IL-6 NELL' AR.....	9
5. I FARMACI BIOLOGICI: CARATTERI GENERALI.....	11
6. FARMACI ANTI-IL-6: TOCILIZUMAB (TCZ).....	11
6.1 Caratteristiche e meccanismo d'azione.....	12
6.2 Farmacocinetica.....	12
6.3 Studi clinici sull'efficacia del TCZ.....	14
7. REAZIONI DI IPERSENSIBILITA' AGLI AGENTI BIOLOGICI.....	16
7.1 Principi generali.....	16
7.2 Reazioni di tipo α	19
7.3 Reazioni di tipo β	19
7.4 Reazioni di tipo γ	22
7.5 Reazioni di tipo δ	23
7.6 Reazioni di tipo ϵ	24
8. REAZIONI DI IPERSENSIBILITA' AL TCZ.....	24
9. REAZIONI AVVERSE AL TCZ.....	25
SCOPO DELLO STUDIO.....	30
MATERIALI E METODI.....	31
RISULTATI.....	33
DISCUSSIONE.....	36
BIBLIOGRAFIA.....	39

INTRODUZIONE

1. Interleuchina 6 (IL-6)

L' Interleuchina 6 (IL-6) è un glicopeptide di 26-kDa il cui gene si trova sul cromosoma 7. Viene sintetizzata da vari tipi di cellule come le cellule T, cellule B, monociti, fibroblasti, osteoblasti, cheratinociti, cellule endoteliali, cellule mesangiali e alcune cellule tumorali (1). Viene considerata una delle citochine pro-infiammatorie maggiormente coinvolte nella regolazione dei linfociti B. Il suo recettore è costituito da una catena α specifica, CD126, e due catene gp130, che sono condivise con il recettore per l' IL-11, il fattore inibente la leucemia-1 (LIF-1), il fattore neurotrofico ciliare, l'oncostatina M e la cardiotropina-1 (2). Ci sono due forme di recettore, una di transmembrana di 80 kDa con un breve dominio citoplasmatico (IL-6R) ed una solubile (sIL-6R) (3). A differenza di altre citochine, IL-6 può attivare le cellule mediante due differenti vie: una convenzionale, che richiede il legame della citochina al recettore di membrana (IL-6R) e la via di trasduzione del segnale che richiede l'espressione a livello della superficie cellulare di una proteina di membrana nota come gp130 (1). Il complesso IL-6/sIL-6R si lega successivamente alla gp130 con conseguente dimerizzazione del gp130 e trasduzione del segnale. L'espressione della forma di transmembrana dell' IL-6R è essenzialmente limitata ad epatociti, monociti, macrofagi ed alcuni linfociti. Poiché la gp130 è ubiquitaria, e sIL-6R si trova nella maggior parte dei fluidi corporei, inclusi siero e fluidi sinoviali, l'azione dell' IL-6 mediante trasduzione del segnale consente all' IL-6 di esercitare la sua azione anche in quei tessuti che non esprimono la forma di transmembrana (per esempio le articolazioni).

La trasduzione del segnale, per entrambe le vie, coinvolge l'attivazione dei trasduttori di segnale (JAK), degli attivatori di trascrizione (STAT) e delle MAP chinasi a livello citoplasmatico con conseguente stimolazione dell'espressione genica di proteine pro-infiammatorie nel nucleo cellulare (4).

2. Ruolo della IL-6 nell'infiammazione

L'infiammazione è un processo biologico difensivo/ripartivo avente lo scopo di eliminare l'agente flogogeno in causa. È una reazione complessa che si verifica a livello dei tessuti e consiste fondamentalmente nella risposta vascolare e leucocitaria innescata da fattori chimici prodotti da vari tipi cellulari o derivati dalle proteine plasmatiche e sono generate o attivate in risposta allo stimolo infiammatorio (5).

L'IL-6 è considerata una citochina pro-infiammatoria fondamentale nei processi infiammatori in corso di patologie infettive ed autoimmuni.

Nella prima fase dell'infiammazione successiva ad uno stimolo infettivo, l'IL-6 viene prodotta da monociti e dai macrofagi in seguito alla stimolazione dei Toll-Like Receptors (TLRs) da parte di distinti pattern molecolari patogeni-associati (PAMP). Nel processi infiammatori non stimolati da agenti patogeni, come ustioni o traumi, i TLRs vengono stimolati da pattern molecolari associati al danno (DAMP), prodotti dalle cellule danneggiate. L'IL-6 regola diversi aspetti dell'infiammazione, agendo ad ampio spettro su popolazioni cellulari cruciali nella difesa dell'ospite. Quando agisce sugli epatociti, l'IL-6 stimola la produzione di proteine di fase acuta come la Proteina C Reattiva (PCR), siero amiloide A, fibrinogeno, anti-chimotripsina, mentre si riducono albumina, citocromo P450, fibronectina e transferrina.

Nei linfociti l'aumento dei livelli di IL-6 promuove la differenziazione delle cellule B in plasmacellule secernenti immunoglobuline. Insieme al TGF- β , l'IL-6 promuove preferenzialmente la differenziazione dei linfociti T in linfociti T helper secernenti IL-17 (Th17) che svolgono un ruolo cruciale nei processi infiammatori tissutali in corso di malattie autoimmuni. L'IL-6 inibisce inoltre la differenziazione delle cellule T regolatorie (Treg) indotta dal TGF- β . L'alterazione dell'equilibrio Th17/Treg a favore delle Th17 promuove lo sviluppo di varie malattie infiammatorie autoimmuni. IL-6 stimola anche cellule T CD8+ a generare cellule T citotossiche. In ematopoiesi l'IL-6 promuove la maturazione dei megacariociti in piastrine così come l'attivazione di cellule staminali ematopoietiche. La produzione di IL-6, nelle cellule stromali del midollo osseo, genera il receptor activator of NF- κ B ligand (RANKL), fattore essenziale per la differenziazione e l'attivazione degli osteoclasti e riassorbimento osseo, promuovendo l'osteoporosi.

La formazione di nuovi vasi (*angiogenesi*) e l'aumento della permeabilità vascolare sono caratteristiche essenziali dell'infiammazione. In tali processi il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) è fondamentale, promuovendo la proliferazione, migrazione e differenziazione delle cellule endoteliali. Nei processi infiammatori l'IL-6 stimola la produzione di VEGF sia da parte delle cellule stromali che dalle cellule ematopoietiche favorendo la formazione di nuovi vasi con conseguente amplificazione e cronicizzazione dell'infiammazione. Le diverse attività regolate dall'IL-6, come la proliferazione dei cheratinociti o la produzione di collagene nei fibroblasti dermici, possono contribuire allo sviluppo e cronicizzazione di malattie autoimmuni della pelle come per esempio la psoriasi e la sclerosi sistemica. Inoltre l'IL-6 stimola la crescita cellulare nel mieloma/plasmocitoma o la proliferazione di cellule mesangiali (6).

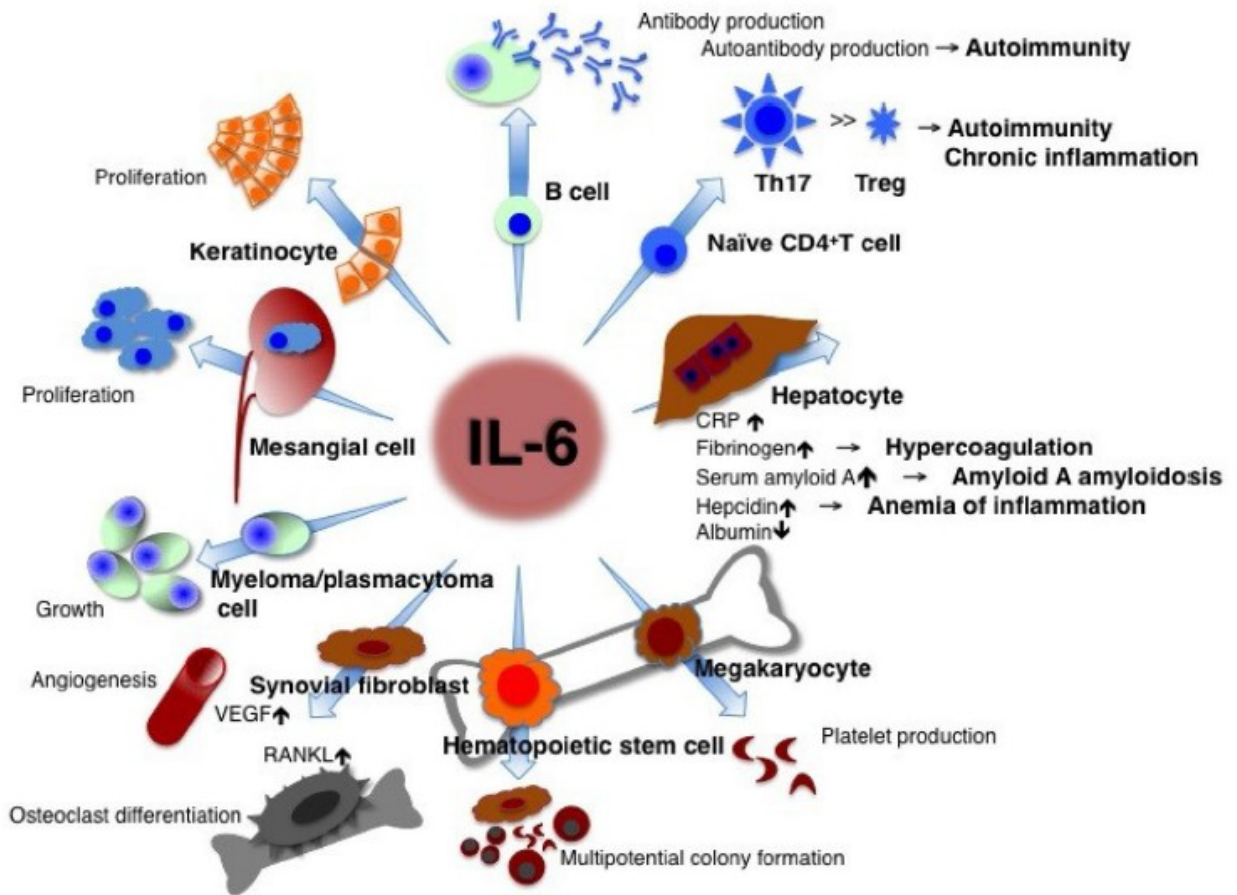


Figure 1. IL-6 has a pleiotropic effect but its dysregulated persistent production causes the onset and development of various autoimmune and chronic inflammatory diseases. IL-6 is originally found as a B cell stimulatory factor-2, which induces activated B cells into antibody production. IL-6, combined with TGF- β , preferentially induces the differentiation of naïve CD4 positive T cells into Th17 cells whereas IL-6 inhibits TGF- β induced regulatory T cell (Treg) development. As a consequence, Th17/Treg imbalance may cause the onset and progression of autoimmune and chronic inflammatory diseases. IL-6 induces production of acute-phase proteins such as CRP, fibrinogen, serum amyloid A, and hepcidin, whereas it reduces synthesis of albumin in hepatocytes. High persistent levels of serum amyloid A and hepcidin lead to amyloid A amyloidosis and anemia of inflammation, respectively. In bone marrow, IL-6 induces maturation of megakaryocytes into platelets and activation of hematopoietic stem cells. In addition, IL-6 promotes the differentiation of osteoclasts and angiogenesis, the proliferation of keratinocytes and mesangial cells, and the growth of myeloma and plasmacytoma cells. Treg: regulatory T cells; CRP: C-reactive protein; VEGF: vascular endothelial growth factor; RANKL: receptor activator of NF-kappaB ligand.

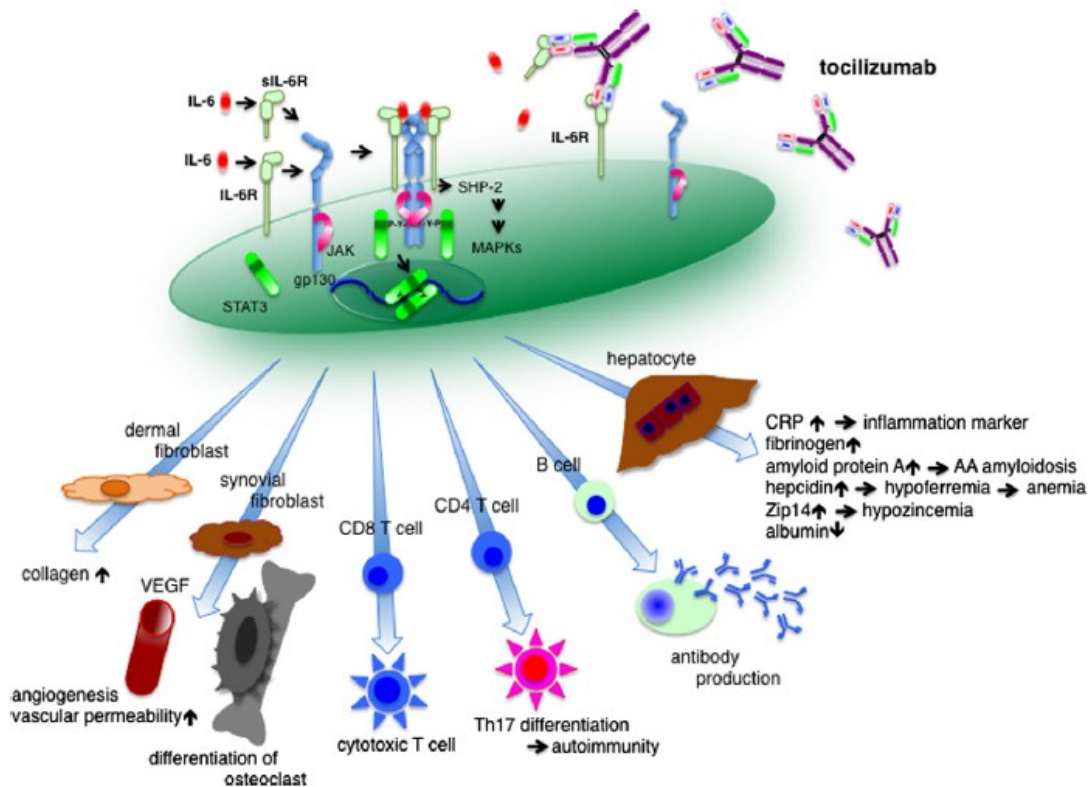


Fig. 1. A pleiotropic activity of IL-6. IL-6 induces homodimerization of gp130 and activates JAK family tyrosine kinases, while JAKs induce tyrosine phosphorylation of gp130 and recruitment of STAT3 via the SH2 domain. This is followed by phosphorylation of STAT3 by JAKs and translocation into the nucleus to regulate gene activation. Recruitment of SHP-2 to gp130 leads via Grb2 to activation of SOS/Ras, followed by activation of the Raf-MEK-MAP kinase pathway. A humanized anti-IL-6R antibody, tocilizumab, binds to soluble and membranous IL-6R and competitively blocks binding of IL-6 to IL-6R or sIL-6R. IL-6 induces cell differentiation or specific gene expression, production of acute-phase proteins in hepatocytes, reduction of iron and zinc concentration, immunoglobulin induction in B cells, cytotoxic T-cell differentiation and Th17 differentiation in T cells. IL-6 also acts on synovial fibroblast cells to produce RANKL and VEGF, which promote differentiation of osteoclasts and angiogenesis. Furthermore, IL-6 stimulates dermal fibroblasts to produce collagen. *Abbreviations:* JAK, Janus kinase; STAT, signal transducer and activator of transcription; IL-6R, IL-6 receptor; sIL-6R, soluble IL-6 receptor; RANKL, receptor activator of NF-kappaB ligand; VEGF, vascular endothelial growth factor.

3. L'Artrite Reumatoide

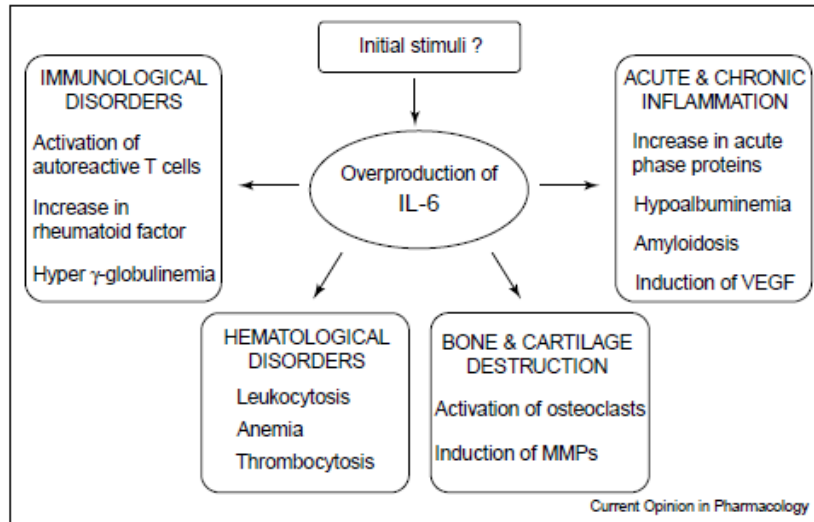
L'artrite reumatoide (AR) è una malattia infiammatoria cronica a patogenesi autoimmune (7). Il processo infiammatorio cronico interessa prevalentemente le articolazioni diartrodiali; tipicamente colpisce dapprima le piccole e successivamente le grandi articolazioni anche se potenzialmente può coinvolgere ogni distretto dell'organismo, essendo in grado di colpire diversi organi tra cui polmoni, cute, vasi, e sistema ematopoietico. La progressiva distruzione delle strutture articolari è causa del dolore, della limitazione al movimento e della riduzione della qualità di vita dei soggetti affetti da AR (8). A livello articolare, si osserva un' infiltrazione di cellule infiammatorie nella membrana sinoviale delle diartrosi, che conduce ad iperplasia della

membrana stessa fino alla formazione del cosiddetto panno sinoviale, con distruzione della cartilagine ed erosione del tessuto osseo adiacente. Il risultato è la perdita della funzione delle articolazioni interessate, che appaiono gonfie e doloranti. I pazienti riferiscono dolore, difficoltà nei movimenti e rigidità soprattutto al risveglio. Questi sintomi possono essere tanto gravi da comportare invalidità. La malattia non è però ristretta alle articolazioni ma presenta numerose manifestazioni extra-articolari con un impatto a lungo termine su diversi organi: formazioni nodulari polmonari, alveolite fibrotica, pericardite, alterazioni della conduzione e delle valvole cardiache, vasculiti, neuropatie. Infine, possono presentarsi situazioni di comorbidità con ipertensione, infarto del miocardio, stroke, linfoma e patologie linfo-proliferative, neoplasie polmonari e cutanee. I meccanismi patogenetici dell' AR sono ancora poco noti; attualmente l' ipotesi che gode di maggiori consensi è quella che la malattia sia scatenata dall' esposizione di un ospite immunologicamente suscettibile ad un antigene microbico artritogeno. Tale esposizione dà inizio ad un'artrite acuta, che in realtà si accompagna ad una reazione autoimmune in cui le cellule T giocano un ruolo centrale, mediante il rilascio di mediatori dell' infiammazione e di citochine che, come ultimo risultato, provocano il danno dell' articolazione. Nel meccanismo causale sono coinvolti la suscettibilità genetica, gli ormoni, un fattore artritogeno primitivo di derivazione esogena, una reazione autoimmune nell' ambito della membrana sinoviale e i mediatori del danno articolare (9).

4. Ruolo della IL-6 nell' AR

Dati di letteratura dimostrano il ruolo cruciale dell' IL-6 nello sviluppo dell' AR.

Figure 2



Pathological significance of IL-6 in RA. Although the exact causes of RA are unknown, overproduction of IL-6 is involved in the development of the disease. Overproduction of IL-6 resulted in immunological disorders, hematological disorders, acute and chronic inflammation, and bone and cartilage destruction. MMP, matrix metalloproteinase.

Sebbene le cause esatte dell'AR siano sconosciute, l'iperproduzione di IL-6 è coinvolta nello sviluppo della malattia, promuovendo disordini immunologici, ematologici, infiammazione acuta e cronica, distruzione ossea e cartilaginea, alterazione del metabolismo delle metalloproteasi (MMPs) (10).

L'aumento dei livelli di IL-6 nel siero e nella sinovia di pazienti con AR e l'attività proinfiammatoria dell' IL-6 come l'aumento della proliferazione dei fibroblasti sinoviali, la differenziazione degli osteoclasti, e la produzione di MMPs e del VEGF indicano che l' IL-6 è coinvolta nella patogenesi dell'AR.

Studi su modelli animali di AR dimostrano il ruolo cruciale dell' IL-6 nell'attivazione della risposta delle cellule T e nella produzione di anticorpi specifici nell'AR. L'induzione di artrite collagene-indotta di tipo II (CIA) richiede l'attivazione di linfociti

T CD4+ con conseguente produzione di Immunoglobuline (Ig)G anticollagene di tipo II da parte delle plasmacellule. L'incidenza e la severità di CIA sono state ridotte a seguito del blocco dell' IL-6, che è stato raggiunto da gene knockout o mediante somministrazione di un anticorpo diretto nei confronti dell' IL-6R (11).

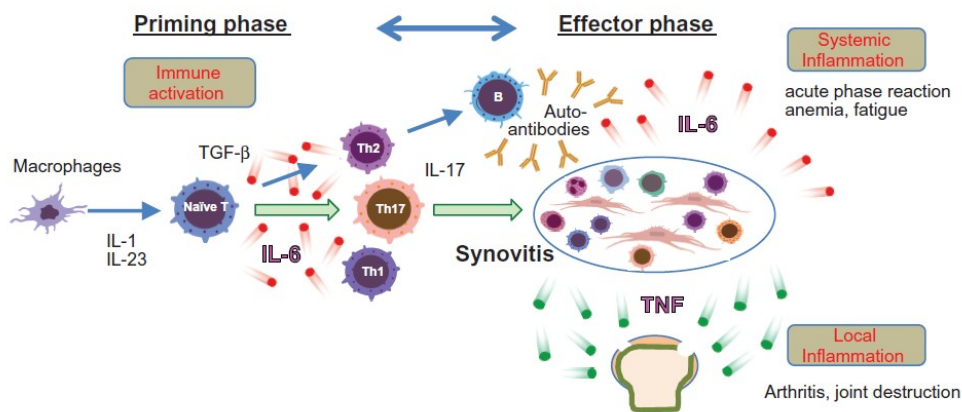


Figure 1. The pathological role of IL-6 in RA.

Notes: The pathogenesis of rheumatoid arthritis is composed of a priming phase and an effector phase. In the priming phase, IL-6-induced Th17 development and the induction of autoantibodies such as rheumatoid factor (RF) are important. Th17-dependent immune activation generates active synovitis. Synovitis is an epicenter of the inflammation of RA. Systemic inflammation (production of acute phase protein, anemia and fatigue) is mainly mediated by IL-6. Local inflammation (arthritis) such as arthralgia, swelling, and joint destruction is mainly mediated by TNF.

I meccanismi patogenetici alla base dell'AR sono stati studiati nel dettaglio. Vi è una fase iniziale detta "priming" ed una fase successiva denominata "effector". Nella fase priming sono importanti lo sviluppo di Linfociti T Th17 dipendente dall' IL-6 e la produzione di autoanticorpi come il fattore reumatoide da parte dei linfociti B attivati. L'attivazione immunitaria Th17 è responsabile dell'infiammazione a carico delle sinovie (sinovite). Gli effetti sistemici ed extra-articolari sono principalmente mediati dall'azione dell' IL-6. L'infiammazione localizzata alle articolazioni (arthralgia, gonfiore e distruzione articolare) è principalmente mediata dall'effetto del TNF (11).

5. I farmaci biologici: caratteri generali

I farmaci ‘modificatori della risposta biologica’ o biologici, meglio definiti biotecnologici (proteine prodotte con la tecnologia del DNA ricombinante e dell’ingegneria genetica in sistemi cellulari in vitro), possono essere suddivisi in:

- **Citochine:** citochine come per esempio l’ interferon- α , l’ interferon- β , o l’interleuchina-2 sono ampiamente utilizzati nella pratica clinica. Alcune di queste sono state modificate per prolungarne in vivo l’attività farmacologica.
- **Anticorpi:** gli anticorpi monoclonali vengono prodotti nel topo, ma recentemente la maggior parte degli anticorpi utilizzati nella terapia biologica sono anticorpi chimerici, umanizzati o addirittura umani. Gli anticorpi chimerici come l’anti-TNF- α Infliximab, sono caratterizzati da “ximab” mentre quelli umanizzati come il tocilizumab o l’omalizumab hanno “zumab” e quelli completamente umani come l’adalimumab il “mumab”.
- **Proteine di fusione:** Le proteine prodotte in un organismo ospite possono essere facilmente soggette a degradazione. Per evitare degradazione di proteine eterologhe e per permetterne una più semplice purificazione, queste vengono prodotte come proteine di fusione con una proteina stabile dell’organismo ospite.

6. Farmaci anti-IL-6: tocilizumab (TCZ)

Il Tocilizumab (TCZ), anticorpo umanizzato diretto contro la catena α del recettore per l’IL-6 (IL-6R α), è attualmente l’unico inibitore dell’IL-6 approvato in Europa e negli Stati Uniti per il trattamento dell’AR attiva di grado da moderato a grave che non abbiano risposto adeguatamente o siano intolleranti a precedenti terapie con uno o più farmaci quali disease-modifying antirheumatic drugs DMARD od anti-TNF- α (12).

Attualmente sono in corso studi in fase II dove viene valutata l'efficacia di farmaci che inibiscono l' IL-6 con meccanismo differente da quello del TCZ. Alcuni dati sono già in parte disponibili. Studi clinici sull'efficacia del TCZ hanno dimostrato che tale farmaco è superiore rispetto ai gruppi di controllo nel trattamento delle manifestazioni dell' AR in combinazione con Metotrexato (MTX) e altri DMARD. Studi clinici hanno dimostrato l'efficacia del TCZ nella terapia per AR anche in monoterapia; sono attualmente in corso studi clinici in fase III dove il TCZ viene utilizzato in monoterapia alla dose di 8 mg/kg (13).

6.1 TCZ: caratteristiche e meccanismo d'azione

Il TCZ è un anticorpo monoclonale ricombinante umanizzato diretto nei confronti del recettore per IL-6 (anti-IL6R) che inibisce la trasduzione del segnale dell' IL-6. Perché è umanizzato conferisce un basso rischio di produrre anticorpi rispetto ad anticorpi murini o chimerici di topo o uomo. Il TCZ si lega selettivamente e in modo competitivo con i recettori dell' IL-6 sia di membrana che solubili. Tale legame impedisce la dimerizzazione delle molecole gp130 sulla membrana cellulare e blocca la trasmissione del segnale di IL-6 all'interno della cellula (14).

6.2 TCZ: farmacocinetica

Studi di farmacocinetica sul TCZ hanno dimostrato che l'età, il sesso e la razza non influenzano il metabolismo del farmaco.

La clearance è di $0,29 \pm 0,10$ ml/h/kg con un'emivita media di 152 ± 59 ore dopo una singola dose di 10mg/kg di TCZ. La clearance diminuisce con l'aumentare delle dosi e la concentrazione massima aumenta in modo proporzionale alla dose. Comparando le dosi di 8 mg/kg con 4 mg/kg si è visto un'area sotto la curva (AUC) di 2.7 volte più

elevata e i livelli minimi 6.5 volte più elevati rispetto al previsto. TCZ 4 mg/kg ogni 4 settimane produce uno steady-state AUC medio \pm DS, concentrazione minima e livelli di picco di $13000 \pm 5800 \mu\text{g h/ml}$, $1,49 \pm 2,13 \mu\text{g/ml}$ e $88,3 \pm 41,4 \mu\text{g/ml}$, rispettivamente; i tassi di accumulo per AUC, livelli di picco e livelli minimi sono 1.11, 1.02 e 1.96 rispettivamente. Tutti e tre i parametri aumentano con l'aumentare del peso corporeo.

TCZ 8 mg/kg ogni 4 settimane produce uno steady-state AUC medio \pm DS, concentrazione minima e livelli di picco di $35000 \pm 15500 \mu\text{g h/ml}$, $9,74 \pm 10,5 \mu\text{g/ml}$ e $183 \pm 85,6 \mu\text{g/ml}$, rispettivamente; i tassi di accumulo per AUC, livelli di picco e livelli minimi sono 1.22, 1.06 e 2.35 rispettivamente. Tutti e tre i parametri aumentano con l'aumentare del peso corporeo.

Non sono raccomandate dosi superiori ad 800 mg per infusione.

Dati di studi dimostrano che i pazienti con AR hanno un volume centrale di distribuzione di 3,5 l e un volume di distribuzione periferico di 2,9 l, risultante in un volume di distribuzione allo steady-state di 6,4 l. La clearance totale del TCZ è concentrazione-dipendente ed è determinata dalla clearance lineare e non lineare. La clearance lineare è stimata essere 12,5 ml/h nella popolazione analizzata. Basse dosi di TCZ utilizzano clearance non lineare e, poiché questa viene saturata alle dosi più elevate, la clearance lineare guida l'eliminazione complessiva. Allo steady-state l'emivita di eliminazione può andare da 11 giorni (4 mg/kg ogni 4 settimane) a 13 giorni (8 mg/kg ogni 4 settimane) ed è quindi concentrazione-dipendente (15).

Per valutare l'efficacia e la sicurezza della terapia con TCZ nei pazienti con AR sono stati condotti sette studi clinici randomizzati in fase 3 in varie situazioni cliniche. In

questi studi, la dose di TCZ somministrata mensilmente è stata scelta di 4 o 8 mg/kg in base ai risultati degli studi di fase 1 e 2 (11).

6.3 Studi clinici sull'efficacia del TCZ

Quattro recenti studi clinici indipendenti su un totale di 2000 pazienti con AR in cui il TCZ è stato somministrato ai dosaggi di 4 o di 8 mg/Kg ogni quattro settimane (AMBITION, OPTION, RADIATE, TOWARD) hanno evidenziato un aumento iniziale dei livelli sierici di IL-6 dopo la prima infusione del farmaco, per poi diminuire costantemente nel corso dello studio (24 settimane). Dagli studi clinici OPTION e TOWARD la riduzione dei livelli sierici di IL-6 si associa ad un effetto clinico con una riduzione del 50% dello score dell'attività di malattia Disease Activity Score (DAS28). Effetti simili sono stati osservati nello studio Giapponese SATORI dove il TCZ veniva somministrato al dosaggio di 8 mg/kg ogni 4 settimane. 14 su 23 pazienti (61%) hanno raggiunto un ottimo controllo della malattia (15).

Ogni studio clinico dimostra l'efficacia e la sicurezza del farmaco come riportato nella tabella sottostante.

Table 2. Phase III randomized clinical trials of tocilizumab.

Trial	Population studied	Administration duration	N	Treatment arm	ACR20	DAS28 < 2.6	Change of TSS	Ref.
AMBITION	MTX or Biologics without failure	24 weeks	286	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + PBO	70%	34%		34
			284	MTX + PBO	53%	12%		
OPTION	MTX-IR	24 weeks	214	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + MTX	59%	27%		35,36
			205	TCZ (4 mg/kg, e.4.w) + MTX	48%	13%		
			204	PBO + MTX	26%	1%		
TOWARD	DMARDs-IR	24 weeks	803	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + DMARDs	61%	30%		37
			413	PBO + DMARDs	25%	3%		
RADIATE	aTNF-IR	24 weeks	161	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + MTX	50%	30%		38
			170	TCZ (4 mg/kg, e.4.w) + MTX	30%	8%		
			158	PBO + MTX	10%	2%		
LITHE	MTX-IR	24 weeks	395	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + MTX	56%	47%	0.29	39
			398	TCZ (4 mg/kg, e.4.w) + MTX	47%	30%	0.34	
			393	PBO + MTX	25%	8%	1.13	
SAMURAI	DMARDs-IR	52 weeks	157	TCZ (8 mg/kg, e.4.w)	78%	59%	2.3	40
			145	DMARDs	34%	3%	6.1	
SATORI	MTX-IR	24 weeks	61	TCZ (8 mg/kg, e.4.w) + PBO	80%	43%		41
			64	MTX + PBO	25%	2%		

Abbreviations: MTX, methotrexate; TCZ, tocilizumab; IR, inadequate response; DMARDs, disease modifying antirheumatic drugs; aTNF, TNF inhibitor; PBO, placebo; ACR20, ACR criteria for 20% improvement; e.4.w, every 4 weeks; TSS, total sharp score.

In particolare:

- Lo studio AMBITION dimostra che il TCZ in monoterapia ha un effetto terapeutico migliore rispetto al MTX somministrato in monoterapia. In questo studio il TCZ ha dimostrato un rapido miglioramento dei segni e dei sintomi dell'AR con un buon rapporto rischio-beneficio.
- Lo studio OPTION dimostra che nei pazienti con AR da moderata a grave che non hanno risposto al MTX in monoterapia, l'aggiunta di TCZ al MTX si è dimostrata efficace ed il farmaco è stato ben tollerato.
- Lo studio TOWARD dimostra che TCZ in aggiunta al MTX è stato efficace nel raggiungere un rapido controllo della malattia in quei pazienti con un'inadeguata risposta agli anti-TNF. Anche in questo studio come nei precedenti è stato dimostrato un buon profilo di sicurezza del farmaco.
- Lo studio LITHE dimostra che la combinazione del TCZ con il MTX ha avuto una risposta clinica a 24 settimane superiori rispetto ai controlli trattati con

placebo e MTX. In aggiunta agli studi precedenti, lo studio LITHE dimostra che in pazienti con inadeguata risposta clinica al MTX vi è un' inibizione significativa della progressione dell' erosione ossea documentata dai reperti radiografici.

- Lo studio SAMURAI ha dimostrato che TCZ in monoterapia è generalmente ben tollerato e fornisce beneficio radiografico in pazienti con risposta inadeguata ai DMARD.
- Lo studio SATORI dimostra che nei pazienti in cui il TCZ è somministrato in monoterapia vi è un'efficacia clinica superiore rispetto al gruppo trattato con solo MTX (11).

In generale, sulla base degli studi clinici, si ritiene che iniziare la terapia con TCZ alla dose di 8 mg/kg per poi ridurla a 4 mg/kg in caso di eventi avversi, può essere più appropriato che iniziare con 4 mg/kg. I monitoraggi clinici e di laboratorio sono necessari in entrambi i dosaggi. Nessuna differenza di efficacia è stata notata tra pazienti con fattore reumatoide positivo e quelli con fattore reumatoide negativo. In linea con il suo meccanismo d'azione, il TCZ porta ad una rapida riduzione degli indici di infiammazione come la PCR. Inoltre è stato dimostrato che il TCZ aumenta i livelli di emoglobina, specialmente nei pazienti con anemia (13).

7. Reazioni di Ipersensibilità agli agenti biologici

7.1 Principi generali

Gli agenti biologici quali citochine, anticorpi monoclonali e proteine di fusione introdotte negli ultimi anni si sono dimostrati clinicamente efficaci nelle terapie di

patologie infiammatorie croniche e tumorali. Tali farmaci pur essendo altamente efficaci presentano effetti collaterali clinicamente eterogenei. Bisogna infatti distinguere le reazioni di tipo A, causate dall'attività farmacologica dell'agente biologico, da quelle di tipo B non causate dall'attività biologica del farmaco ma legate alle reazioni immunologiche che tali farmaci innescano. Le reazioni di ipersensibilità fanno parte delle reazioni di tipo B. Le reazioni avverse immuno-mediate sono clinicamente eterogenee e vengono comunemente suddivise sulla base di differenti meccanismi patologici. Capire la struttura, il meccanismo d'azione, il metabolismo e l'immunogenicità degli agenti biologici è fondamentale per affrontare in modo adeguato gli avventi avversi che potrebbero presentarsi dopo la loro somministrazione.

Gli agenti biologici si differenziano dalla maggior parte degli altri farmaci poiché non sono piccoli composti chimici (compounds) ma proteine prodotte in modo da renderle simili alle proteine umane. Non vengono metabolizzate come i comuni farmaci ma processate come comuni proteine. Per tale motivo gli agenti biologici devono essere somministrati per via parenterale per evitare che vengano digeriti nel tratto gastroenterico (16).

Sulla base della recente letteratura le reazioni avverse agli agenti biologici vengono classificate in 2 gruppi principali:

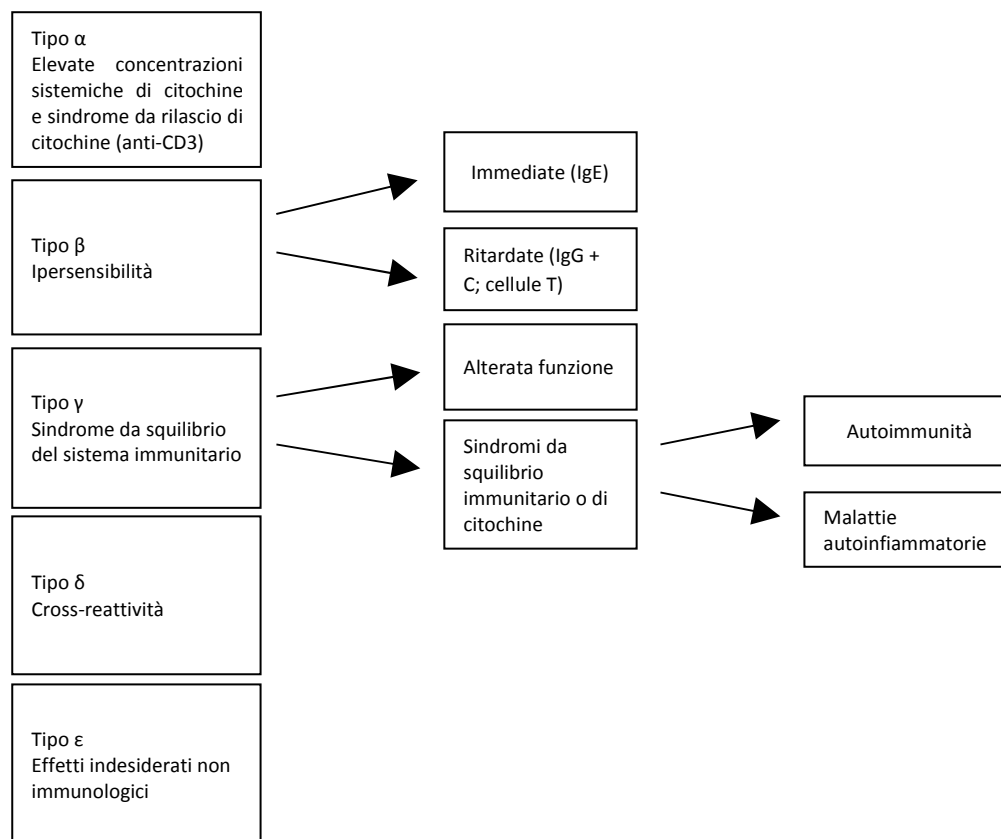
- Reazioni avverse causate dal bersaglio dell' agente biologico
- Reazioni avverse dovute alle caratteristiche intrinseche dell' agente biologico

Le reazioni che rientrano nel primo gruppo sono le reazioni più comuni riscontrate in seguito alle terapie con agenti biologici. In particolare un agente biologico può essere

innocuo come tale, ma ha la capacità di alterare la composizione e l'integrità funzionale della risposta immune del paziente dopo la somministrazione.

Gli agenti biologici possono modificare la risposta immunologica per effetto sui linfociti B o T o su altre cellule effettrici con successivo innesco di processi infiammatori.

Reazioni immunologiche durante terapie con piccoli composti molecolari (farmaci) sono spesso classificate come reazioni di ipersensibilità. Tali reazioni sono reazioni del sistema immunitario nei confronti della sostanza. La grande varietà di funzioni degli agenti biologici rende impossibile una sotto classificazione delle reazioni avverse di tali sostanze sulla base delle manifestazioni cliniche. Per tale motivo è più appropriata una classificazione sulla base del meccanismo d'azione e della struttura dell' agente biologico come indicato nel seguente schema:



7.2 Tipo α (sindrome da alte concentrazioni di citochine e da rilascio di citochine):

La maggior parte delle citochine vengono prodotte localmente e svolgono principalmente un'azione locale. Alcune citochine possono inoltre agire a livello sistemico esercitando la loro azione su organi distali. Per la maggior parte delle citochine la loro concentrazione risulta relativamente elevata in sede di rilascio, mentre risultano piuttosto basse a livello sistemico. Se la citochina viene utilizzata a scopo terapeutico la situazione si inverte: vengono somministrate alte concentrazioni a livello sistemico in modo da raggiungere una concentrazione a livello locale sufficiente per esercitare il suo effetto terapeutico. La somministrazione sistemica di citochine ad elevata concentrazione può causare effetti collaterali quali febbre, mialgia, cefalea e talvolta può determinare danni d'organo severi. Il primo anticorpo monoclonale sul mercato era diretto nei confronti del cluster di differenziazione CD3, espresso sui linfociti T e fondamentale per la loro attivazione con conseguente rilascio di citochine pro-infiammatorie responsabili della comparsa di sintomi sistemici quale rossore, artralgie, aumentato della permeabilità capillare, edema polmonare, meningite asettica, febbre, sintomi gastrointestinali (vomito o diarrea). L'insieme di tali sintomi e segni viene denominato "sindrome da rilascio di citochine".

7.3 Tipo β (ipersensibilità):

Diversi fattori sono responsabili dell'immunogenicità dei farmaci biologici e della comparsa di una ampia gamma di sintomi dovuti alla reazione di ipersensibilità.

Grado di umanizzazione

Le reazioni allergiche ai farmaci biologici sono dirette contro le proteine stesse. La frequenza di tali reazioni dipende dal grado di umanizzazione delle proteine somministrate, che spesso sono anticorpi. La risposta immune allergica può essere diretta nei confronti della parte costante o della parte variabile dell' anticorpo. Mentre, gli anticorpi murini (attualmente poco utilizzati) così come gli anticorpi chimerici hanno almeno alcuni determinanti xenogeni sulla loro parte costante, che può causare rapidamente una risposta immune, gli anticorpi umanizzati o completamente umani, hanno una bassa immunogenicità. Questo è dovuto per l'esistenza di una tolleranza immunologica rivolta verso la parte costante dell'immunoglobulina, però il sito dell'anticorpo monoclonale legante l'antigene può continuare a suscitare una risposta immune.

Cofattori

Un altro importante aspetto per l'immunogenicità di un agente biologico è il suo contenuto di adiuvanti. La via di somministrazione, l'isotipo IgG del farmaco biologico e in particolare la quantità di co-trattamento immunosoppressivo possono avere ulteriori influenze, per esempio la sensibilizzazione e la formazione di anticorpi verso l'Infliximab, un anticorpo chimerico anti-TNF- α , possono essere ridotte dalla co-somministrazione con MTX.

Tipi di reazioni allergiche:

Reazioni IgE mediate

Le reazioni IgE mediate si manifestano piuttosto rapidamente, di solito entro 20 minuti dalla somministrazione dell'agente biologico (allergene). Tali reazioni sono causate dalla presenza di IgE specifiche per l'agente biologico che si legano a recettori ad alta

affinità (FcεRI) per le IgE espresse principalmente sulla membrana dei mastociti e dei basofili. Il legame allergene-IgE-FcεRI provoca attivazione mastocitaria, degranolazione e liberazione di mediatori responsabili delle varie manifestazioni fisiopatologiche caratteristiche delle sindromi allergiche (vasodilatazione, aumento della permeabilità capillare, contrazione della muscolatura liscia, richiamo di eosinofili ed altri elementi cellulari in sede di reazione). La maggior parte delle reazioni allergiche è di media entità ma sono state anche descritte reazioni anafilattiche gravi. Le reazioni acute all'infusione sono per la maggior parte reazioni non IgE mediate (17). Si verificano in un 3-5% di pazienti trattati con anticorpi chimerici spesso già durante le infusioni e si possono ridurre rallentando la velocità di infusione. Il loro meccanismo patogenetico non è ancora chiaro. Viene ipotizzato un meccanismo immunologico non mediato dalle IgE, ma dalla formazione di immunocomplessi circolanti o dall'attivazione del sistema complementare. I sintomi comprendono brividi, nausea, dispnea, cefalea, febbre.

Reazioni ritardate

Le reazioni ritardate compaiono dopo almeno 6 ore dalla somministrazione dell'agente biologico; possono essere suddivise in reazioni mediate da immunoglobuline (prevalentemente IgG) e da infiltrazione di linfociti T. Lo sviluppo di anticorpi IgG diretti contro agenti biologici è di gran lunga la reazione più frequente. La formazione di questi anticorpi si riscontra più frequentemente se l'agente biologico è immunogenico e se non viene somministrato MTX durante la terapia. In uno studio con infliximab il 68% dei pazienti trattati sviluppa anticorpi contro questo anticorpo chimerico, ma la presenza di questi anticorpi non necessariamente si associa a sintomi. L'effetto più frequente è l'inattivazione dell'agente biologico: la vita media della citochina o

dell'anticorpo iniettato si riduce e i pazienti per raggiungere gli stessi effetti necessitano di una dose maggiore dell'agente biologico o di uno alternativo. La formazione di anticorpi verso l'agente biologico può inoltre risultare in un'attivazione della cascata del complemento con formazione di immunocomplessi così come l'attivazione dei neutrofili mediata dal recettore Fc-IgG, sviluppando una malattia da immunocomplessi come la malattia da siero, le vasculiti e le nefriti. Alcuni sintomi compaiono dopo 3-12 giorni dalla somministrazione del farmaco e sono classificati come reazioni infusionali ritardate caratterizzate da mialgia, artralgia, febbre, rash, prurito, edema facciale e labiale, disfagia, orticaria. Un altro effetto indesiderato associato alle immunoglobuline può essere la trombocitopenia se gli immunocomplessi si sono formati legando il recettore Fc-IgG sui trombociti. I trombociti vengono successivamente rimossi dal circolo mediante il sistema fagocitario di fegato e milza.

In queste reazioni dipendenti dalle immunoglobuline, le cellule T sono probabilmente coinvolte, ma principalmente come regolatori della risposta umorale immune.

I test cutanei (skin prick test ed intradermoreazioni) sono attualmente i test diagnostici più sensibili in corso di reazione di ipersensibilità (IgE mediate) agli agenti biologici. La positività dei test indica la presenza di IgE specifiche per l' agente biologico (18).

7.4 Tipo γ [sindrome da alterazione dell'equilibrio del sistema immunitario (citochine)]:

Alcuni effetti indesiderati potrebbero essere spiegati dalla potenza o dall'attività dell'agente biologico sulla normale risposta immune o dall'eliminazione dell'attività di alcune citochine.

Immunodeficienza

La migliore comprensione e la previsione in una certa misura degli effetti collaterali di certi farmaci biologici sono imputate alla ridotta funzionalità del sistema immunitario. Attualmente una ridotta funzione può anche essere classificata come una reazione prevedibile di tipo α . Tuttavia le reazioni di tipo α sono principalmente dovute ad alte dosi, che possono o non possono portare ad immunodeficienza mentre l'alterazione dell'equilibrio del sistema immunitario viene classificata tra le reazioni di tipo γ . Un esempio è il TNF- α : uno dei principali ostacoli nella terapia con anti-TNF- α è il pericolo che malattie sottostanti come tubercolosi o listeriosi sfuggano al controllo immunitario e si disseminino. Il TNF- α , stimolando la funzione macrofagica, rappresenta infatti il mediatore pro-infiammatorio fondamentale per il controllo di queste infezioni intracellulari.

Sindromi causate da un'alterazione dell'equilibrio del sistema immunitario o delle citochine

Il sistema immunitario in condizioni fisiologiche è in equilibrio costante. Un'alterazione di questo equilibrio si può manifestare in seguito al blocco o all'introduzione di una determinata citochina, con funzione immunoregolatrice. Alterazione della tolleranza immunologica può determinare lo sviluppo di patologie autoimmuni (con produzione di autoanticorpi) e disordini autoinfiammatori (infiammazioni con eosinofilia o neutrofilia regolata da cellule T) o potrebbe portare alla comparsa di altre reazioni immunologiche, normalmente sopresse, come per esempio una risposta immune ad antigeni esogeni innocui.

7.5 Tipo δ (cross-reattività):

La cross-reattività può essere dovuta all'espressione dello stesso antigene su cellule di tessuti differenti o alla reazione degli anticorpi verso una struttura simile. Gli antigeni

tumorali sono spesso normali proteine che sono espresse in modo eccessivo sulle cellule tumorali. Gli anticorpi diretti contro questi antigeni possono anche reagire con le stesse strutture espresse fisiologicamente su cellule normali.

7.6 Tipo ϵ (effetti non immunologici):

Alcuni farmaci biologici potrebbero provocare sintomi non direttamente correlati all'attivazione del sistema immunitario. Gli effetti indesiderati di un agente biologico in cui non entrano in causa meccanismi non immunologici possono essere abbastanza frequenti (16).

8. Reazioni di ipersensibilità al TCZ

Sono state fino ad ora riportate reazioni di ipersensibilità al TCZ sia durante l'infusione (reazioni immediate) che a distanza di diverse ore (reazioni ritardate). Le reazioni di ipersensibilità clinicamente significative sono state riportate in circa 1 paziente su 100 con frequenza maggiore al dosaggio di 4mg/kg rispetto ad 8mg/kg. Alle dosi di 4 mg/kg è stata osservata una più alta frequenza di presenza di anticorpi anti-TCZ, di solito presenti tra la seconda e la quinta infusione e solo in rari casi già alla prima infusione (19). Schiff et al hanno analizzato 5 studi clinici in fase 3 (OPTION, AMBITION, RADIATE, TOWARD, LITHE) dove sono stati riportati 8 casi di anafilassi con orticaria, nausea, vomito, ipotensione, broncospasmo. Di questi, 5 reazioni anafilattiche si sono verificate al dosaggio di 4 mg/kg di TCZ e 3 al dosaggio di 8 mg/kg. Sette reazioni su 8 si sono presentate entro le prime 4 infusioni di TCZ e solo una 15 ore dopo il completamento della sedicesima infusione. Tutti i pazienti hanno interrotto il trattamento dopo la reazione (20).

Koike et al, analizzando lo studio SAMURAI, hanno riscontrato 11 reazioni infusionali su 157 pazienti; sonnolenza, cefalea, ipertensione sono stati i sintomi osservati ma tutti di natura transitoria (21).

Queste reazioni possono verificarsi quando si utilizza il TCZ sia al dosaggio di 4mg/kg che al dosaggio di 8mg/kg, in monoterapia o in terapia combinata e senza precedenti di reazioni di ipersensibilità ad altri agenti biologici o a farmaci. In letteratura viene riportato che la sola presenza di anticorpi anti-TCZ, che si verifica in circa 2-4% dei pazienti, non è predittiva di tali reazioni (13). Attualmente i tests per la determinazione degli anticorpi anti-TCZ non sono stati validati e quindi non disponibili nella pratica clinica.

9. Reazioni avverse al TCZ

Eventi avversi in corso di terapia con TCZ possono essere dovuti alla natura della molecola o agli effetti farmacologici dell'inibizione del recettore per l'IL-6. Studi recenti (19) suggeriscono che gli eventi avversi osservati in corso di terapia con TCZ sono generalmente causati dal blocco dell'IL-6. Questa ipotesi è supportata dal fatto che anticorpi diversi dal TCZ determinano eventi avversi simili a quelli osservati con il TCZ.

Gli eventi avversi più frequenti sono le infezioni, patologie neoplastiche, effetti sul sistema nervoso, sul tratto gastro-enterico, alterazioni ematologiche, effetti sul sistema cardiovascolare, effetti epatotossici e le reazioni di ipersensibilità.

Infezioni

Da una meta analisi di studi clinici in fase 3 ed estensioni a lungo termine sono stati segnalati tassi di infezioni gravi del 3,5 per 100 pazienti l'anno nella popolazione di controllo, 3,5 per 100 pazienti l'anno alla dose di 4mg/kg e 4,9 per 100 pazienti l'anno alla dose di 8mg/kg; erano principalmente polmonite, infezioni del tratto urinario e

gastroenterite. Il tasso di infezioni gravi è rimasto stabile nel tempo durante queste prove con trattamento prolungato con TCZ, e se, considerando i dati del Registro di sistema, valutando i tassi di infezione grave con inibitori del TNF, questi dati sembrano essere simili. Fattori di rischio per gravi infezioni sembrano essere elevato indice di massa corporea, diabete, storia di malattia polmonare cronica, età avanzata, la terapia concomitante con glucocorticoidi, precedente terapia con anti-TNF e possibilmente anche precedente assunzione di rituximab così come l'uso di leflunomide. Durata di malattia più di 10 anni e classi di Steinbrocker 3 e 4 sono altri fattori di rischio identificati nel report giapponese di sorveglianza, dove sono stati osservati più elevati tassi di infezione grave (9.1/100 pazienti l'anno) tra i pazienti in terapia con TCZ. Infezioni opportunistiche si sono verificate più frequentemente all'interno di studi clinici tra i pazienti con TCZ ad un tasso di circa 0,25 per 100 pazienti l'anno e includono infezioni micobatteriche e da pneumocystis. Tubercolosi è stata osservata in 7 pazienti su circa 4700. Se questi sono stati casi in cui lo screening iniziale per la tubercolosi latente era insufficiente o nuovi casi di tubercolosi è sconosciuto. L'Herpes Zoster si è riscontrato con una frequenza di 0,3 per 100 pazienti l'anno (controllo: 0,1). Inoltre, c'è la possibilità di riattivazione di EBV; infatti, un caso di riattivazione di EBV fatale è stato osservato in Giappone. Dovrebbe essere tenuto in considerazione che gli effetti di TCZ sulla risposta di fase acuta possono mascherare segni e sintomi di infezioni, come febbre o aumento della PCR.

Patologie neoplastiche

Durante gli studi clinici, il tasso globale di tumori maligni solidi è apparso essere simile tra il controllo e i pazienti trattati con TCZ e non c'è stato nessun aumento nei tassi di malignità, incluso il linfoma, con l'esposizione prolungata al TCZ. È interessante notare che, nei modelli sperimentali IL-6 sembra avere attività favorente i tumori e terapie

mirate a bloccare l'IL-6 può essere efficace in alcuni pazienti o in alcuni tipi di tumori; pertanto, il blocco di IL-6 potrebbe anche essere utile in tali situazioni. Tuttavia, studi osservazionali a lungo termine sono necessari per valutare ulteriormente la potenziale relazione tra l'inibizione dell'IL-6 e malignità.

Sistema nervoso

Disturbi demielinizzante, visti in precedenza con anti-TNF, sono stati riportati durante la terapia TCZ; pertanto, una relazione con questo trattamento non può essere esclusa; fino ad ulteriori chiarimenti, la presenza di malattie demielinizzanti dovrebbe essere considerata come una controindicazione.

Alterazioni ematologiche

Neutropenia è la più comune in pazienti trattati con TCZ. La diminuzione dei neutrofilii ($> 500-1000/\text{mm}^3$, grado 3) si verifica nel 4% dei pazienti trattati con TCZ a 8 mg/kg, mentre valori $< 500/\text{mm}^3$ sono visti più raramente (0,6%). Con poche eccezioni, gravi eventi infettivi durante gli studi clinici non sono stati temporaneamente associati a neutropenia.

Trombocitopenia ($< 100.000/\text{mm}^3$) è stata vista nell' 1,7% dei pazienti in studi clinici trattati con 8mg/kg. In circa 0,8% dei pazienti esposti, la conta piastrinica può scendere sotto $50.000/\text{mm}^3$, e ci fu un episodio emorragico segnalato. È probabile che una riduzione rispetto al basale nella conta piastrinica sia frequentemente dovuta alla diminuzione di carico infiammatorio dopo l'inizio di TCZ, poiché una trombocitosi è conseguenza dell'infiammazione e mediata da IL-6.

L'anemia di solito non si verifica durante la terapia con TCZ, per contro, i livelli di emoglobina aumentano particolarmente presto dopo l'inizio della terapia.

Perforazioni gastrointestinali

Sono state segnalate perforazioni intestinali verificatesi ad un tasso di circa 0,3 per 100 pazienti l'anno, la maggior parte in pazienti con una storia di diverticolite (non necessariamente malattia diverticolare) e/o l'uso di FANS e cortisonici. Si deve tener presente che segni e sintomi di diverticolite, come febbre o aumento della PCR, possono essere mascherati dal blocco di IL-6. Questo è vero pure per altri stati infettivi.

Manifestazioni epatiche

Aumenti dei livelli di transaminasi si sono verificati in fasi controllate degli studi in circa un terzo dei pazienti trattati con TCZ e l'aumento maggiore di 3 volte il limite superiore del normale (ULN) si è verificato in circa il 6% dei pazienti utilizzando TCZ a 8mg/kg più MTX, 5% usando 4mg/kg più MTX, > 3,5% con MTX in monoterapia e < 2% con TCZ in monoterapia. Nel complesso, il tasso può essere intorno al 10% se si guarda un qualsiasi momento durante la terapia prolungata. Tuttavia, non sono stati osservati danni epatici clinicamente significativi o epatiti. Tra le 11 biopsie epatiche eseguite la maggior parte aveva steatosi epatica, ma questi pazienti avevano anche altri fattori di rischio come l'obesità. In rari casi, necrosi epatocellulare suggestiva di epatotossicità acuta è stata segnalata su biopsia epatica, anche se il trattamento è stato continuato senza ulteriore peggioramento.

Eventi cardiovascolari

All'interno del programma di sviluppo clinico, i tassi di infarti del miocardio e ictus sono stati simili nei gruppi di trattamento con TCZ come nel gruppo di controllo e non aumentano nel tempo. Mentre questo è in linea con le indicazioni che IL-6 è in parte responsabile del rischio cardiovascolare, una constatazione rinforzata da recenti dati

genetici, studi con esiti a più lungo termine saranno necessari per valutare gli effetti nel complesso dell'elevazione dei lipidi indotta dal TCZ sugli eventi cardiovascolari. Lo studio ENTRACTE è uno studio di questo tipo ed al momento sta reclutando pazienti.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo studio si propone di valutare:

- 1) La frequenza delle reazioni avverse al TCZ;
- 2) La frequenza di reazione di ipersensibilità al TCZ;
- 3) L'utilità dei test cutanei nella diagnostica delle reazioni di ipersensibilità al TCZ.

MATERIALI E METODI

Lo studio è stato svolto presso L'U.O. di Allergologia ed Immunologia Clinica dell' Ospedale S. Chiara di Pisa.

Ai fini della selezione del campione per questa analisi retrospettiva dei dati è stato usato il database dei pazienti in terapia con TCZ dell'U.O. di Immunologia Clinica e dell' U.O. di Reumatologia dell' Ospedale Santa Chiara di Pisa dal 2005 al 2013.

Parametri valutati

Dal database sono stati selezionati i pazienti in trattamento con TCZ dal 2005 al 2013.

Per ogni paziente sono stati riportati i seguenti dati:

- Età
- Sesso
- Patologia di base
- Allergie
- Anno di inizio della malattia
- Eventuali farmaci assunti prima del TCZ
- Data inizio TCZ
- Decorso clinico
- Tempo intercorso tra inizio della terapia e comparsa della reazione

Test cutanei (skin prick test ed intradermoreazioni)

Tra i 72 pazienti in terapia con TCZ abbiamo studiato 5 pazienti che hanno presentato reazione di ipersensibilità al farmaco. Le reazioni di ipersensibilità sono state classificate sulla base delle ultime linee guida (22). Ogni paziente ha dato il consenso all' esecuzione dei test cutanei. Nei pazienti che erano in terapia antistaminica,

corticosteroidica e antidepressiva i farmaci sono stati sospesi rispettivamente 5, 10 e 7 giorni prima dell' esecuzione dei test.

Sono stati eseguiti per ciascun paziente skin prick test (SPT) e intradermoreazioni (i.d.) a concentrazioni differenti di farmaco.

Le concentrazioni di TCZ utilizzate per i test cutanei sono riportate nella **tabella 1**.

Per la diluizione del farmaco è stata utilizzata soluzione fisiologica. Le concentrazioni di TCZ utilizzate sono risultate non irritanti in 10 soggetti sani volontari. Sia per gli SPT che per le i.d. la formazione di un pomfo di diametro uguale o superiore ai 3 mm è stata considerata positiva rispetto al controllo negativo (soluzione fisiologica). Come controllo positivo è stata utilizzata l'istamina. La lettura degli SPT è stata eseguita dopo 15 minuti mentre quella dell' i.d. dopo 20 minuti.

I pazienti sono stati sottoposti a test cutanei dopo 15-72 mesi dalla reazione al TCZ.

RISULTATI

Dal 2005 ad oggi sono stati sottoposti a terapia con TCZ 72 pazienti, di cui 61 con AR (84,72%), 6 con malattia di Still, 2 artrite psoriasica, 1 sclerosi sistemica, 1 poliartrite cronica, 1 policondrite ricorrente.

Di questi 72 pazienti 20 hanno interrotto il trattamento con TCZ:

- 5 per reazioni di ipersensibilità
- 7 per inefficacia della terapia
- 7 per reazioni avverse al farmaco (processo infettivo, emogalattorrea, tonsillectomia, diverticoli, lesione maculo-nodulare)
- 1 per remissione di malattia

Le 5 reazioni di ipersensibilità al TCZ sono state di tipo immediato (entro 20 minuti dall' infusione), 4 reazioni anafilattiche ed 1 con prurito senza altri segni e sintomi di anafilassi. Tre reazioni di ipersensibilità sono state severe, 1 moderata ed 1 lieve.

Le caratteristiche demografiche e cliniche sono riportate nella **tabella 2**.

Tabella 1

	Skin Prick Test (SPT)	Test intradermici (i.d.)
Tocilizumab (TCZ)	0.2, 2, 20 mg/ml	0.002, 0.02, 0.2, 2, 20 mg/ml

Tabella 2

Paziente	Età	Sesso	Patologia	Infusioni	Tipo di reazione	Tipo di reazione (immediata/ritardata)	Grado della reazione
M.M.	44	F	AR	4	Sistemica (ipotensione)	Immediata	Severo
M.L.	62	F	AR	2	Sistemica (prurito)	Immediata	Lieve
F.M.	52	F	AR	3	Sistemica (orticaria/angioedema, ipotensione, dolore addominale)	Immediata	Severo
P.E.	46	M	Still	6	Sistemica (rash, dispnea)	Immediata	Moderato
M.V.	31	F	Still	2	Sistemica (dispnea, cardiopalmo, rash, vomito)	Immediata	Severo

Test cutanei per TCZ

Il TCZ è stato testato in tutti i pazienti che hanno presentato reazione di ipersensibilità immediata al farmaco (n=5). Abbiamo eseguito i test cutanei anche in 3 pazienti che hanno interrotto la terapia per inefficacia. Dei 4 pazienti con reazione anafilattica dopo infusione di TCZ 3 sono risultati positivi ai test cutanei (**tabella 3**), due alla concentrazione di 10^{-2} e uno al TCZ indiluito.

Tutti i 3 pazienti risultati positivi ai test cutanei per il TCZ avevano presentato reazione anafilattica dopo la seconda infusione del farmaco, mentre i 3 pazienti che hanno interrotto il trattamento per inefficacia sono risultati negativi ai test cutanei. L'unico paziente con reazione anafilattica risultato negativo ai test cutanei è stato testato dopo 3 anni dall'ultima infusione.

Tabella 3

NOME	SPT	i.d. positiva	Reazione di ipersensibilità	Tempo di insorgenza	Terapia	Risoluzione con terapia
P E	negativo	10 ⁻²	Sistemica (anafilassi)	Immediata	Antistaminico e steroidi sistemico	si
M V	negativo	indiluito	Sistemica (anafilassi)	Immediata	Antistaminico, steroidi sistemico, adrenalina i.m.	si
M M	negativo	10 ⁻²	Sistemica (anafilassi)	Immediata	Nessuna (risoluzione spontanea)	

DISCUSSIONE

Nel nostro studio abbiamo riportato la frequenza delle reazioni avverse osservate durante trattamento con il TCZ. In particolare, ci siamo focalizzati sulle reazioni di ipersensibilità all' agente biologico e all' utilità dei test cutanei nella diagnostica di tali reazioni.

Dal 2005 ad oggi abbiamo trattato 72 pazienti con TCZ per patologie autoimmuni. Di questi pazienti 20 hanno dovuto interrompere il trattamento per comparsa di effetti indesiderati, tra cui 5 per reazioni di ipersensibilità. Sulla base delle manifestazioni cliniche e del tempo intercorso tra la somministrazione del TCZ e la comparsa dei sintomi (entro 20 minuti) possiamo ipotizzare alla base delle reazioni osservate un meccanismo di ipersensibilità di tipo I (mediato dalle IgE). Questo dato è supportato anche dal fatto che in tutti e 5 i pazienti le reazioni di ipersensibilità sono insorte dopo la seconda infusione, implicando una precedente sensibilizzazione all'agente biologico.

Le reazioni avverse più comuni riscontrate durante terapia con TCZ sono le infezioni e i sintomi gastroenterici (7). Un maggior utilizzo del TCZ nella terapia dei pazienti con AR ha aumentato in tale popolazione la probabilità di sensibilizzazione all'agente biologico con reazioni anafilattiche successive alla prima infusione.

Nelle reazioni di ipersensibilità ai farmaci, l'anafilassi e l'orticaria sono le più comuni manifestazioni di attivazione mastocitaria. I mastociti, infatti, rappresentano le cellule chiave nella fase iniziale dell'infiammazione allergica. L'attivazione di tali cellule e la conseguente degranulazione e liberazione di mediatori pre-formati sono meccanismi che implicano la presenza di IgE specifiche per il farmaco. E' importante precisare che l'attivazione dei mastociti può presentarsi anche in assenza di IgE specifiche. In questo caso il meccanismo di attivazione dei mastociti non richiede una precedente sensibilizzazione all' agente biologico (17).

Nel caso delle reazioni IgE mediate il legame tra farmaco, IgE specifiche ed il recettore ad alta affinità per le IgE (FcεRI) determina l'attivazione dei mastociti a livello tissutale e dei basofili circolanti, con successiva liberazione di istamina, principale mediatore vasoattivo. I due diversi meccanismi di attivazione dei mastociti possono essere identificati dalla presenza o meno di IgE specifiche per il farmaco colpevole. Questo è stato recentemente dimostrato per gli agenti anti-TNF- α (23), attualmente utilizzati nel trattamento delle patologie autoimmuni. Per il numero limitato di studi, la metodica per la determinazione di IgE specifiche per gli anti-TNF- α non è stata ancora validata e quindi non disponibile nella pratica clinica.

Attualmente, i test cutanei sono di grande utilità nella diagnosi delle reazioni di ipersensibilità ad agenti biologici potendo discriminare tra le reazioni da ipersensibilità IgE-mediate da quelle infusionali.

Sulla base della letteratura, il nostro è il primo studio in cui viene valutata l'utilità diagnostica dei test cutanei nelle reazioni di ipersensibilità immediata al TCZ.

Come per altri agenti biologici anche nel caso del TCZ sono stati identificati dei sottogruppi di pazienti con reazione avverse al TCZ positivi per anticorpi anti-TCZ, ma tali metodiche non sono ancora utilizzabili nella pratica clinica. (24)

Attualmente i test cutanei rappresentano un valido supporto nella diagnostica delle reazioni di ipersensibilità immediata ai farmaci, inclusi gli agenti biologici (18).

Nel caso delle reazioni di ipersensibilità immediate all' Infiximab è stata dimostrata una diretta correlazione tra livelli sierici delle IgE specifiche per il farmaco e i risultati dei test cutanei (i.d.) (25).

Nel nostro studio le reazioni di ipersensibilità IgE-mediate sono state confermate dalla positività dei test cutanei in 3 dei 4 pazienti che hanno manifestato anafilassi. Questo

dato è supportato dal fatto che i 3 pazienti che hanno interrotto il trattamento per inefficacia sono risultati negativi ai test cutanei.

Un elemento importante è dato dal fatto che nessun paziente aveva riferito storia di patologia allergica, ad indicare che l'atopia non è un elemento predittivo di reazione di ipersensibilità immediata al TCZ.

In conclusione, questo studio dimostra l'utilità diagnostica dei test cutanei nelle reazioni avverse al TCZ: l'esecuzione di questi tests in-vivo consente il corretto inquadramento delle reazioni e l'adozione di opportune misure per la prevenzione di reazioni successive.

BIBLIOGRAFIA

1. Srirangan S and Choy EH. The role of Interleukin 6 in the pathophysiology of rheumatoid arthritis. *Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease* 2010;2(5):247-256.
2. Rohleder N, Aringer M, Boentert M. Role of interleukin-6 in stress, sleep, and fatigue. *Annals of the new york academy of sciences* 2012;1261:88–96.
3. Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci* 2012;8(9):1237-47.
4. Bruce N, Cronstein MD. Interleukin-6: A Key Mediator of Systemic and Local Symptoms in Rheumatoid Arthritis. *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases* 2007; 65(Suppl 1):S11-5.
5. Robbins e Cotran. *Le basi patologiche delle malattie*. 8th Edition 2010;Vol.1,cap 2:44.
6. Tanaka T and Kishimoto T. Targeting Interleukin-6: All the Way to Treat Autoimmune and Inflammatory Diseases. *International Journal of Biological Sciences* 2012;8(9):1227-1236.
7. Maini RN, Zvaifler NJ. *Rheumatology*. J.H. Clipper, P.A. Dieppe Eds, Mobsy, London 1994.
8. A.A.V.V. Harrison: *Principi di medicina interna* 2009, 17^o edizione:2015-2023.
9. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. *The pathologic basis of disease*. 5th edition. 1997.
10. Nishimoto N and Kishimoto T. Inhibition of IL-6 for the treatment of inflammatory diseases. *Current Opinion in Pharmacology* 2004;4:386–391.
11. Ogata A, Hirano T, Hishitani Y, Tanaka T. Safety and Efficacy of Tocilizumab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Clinical Medicine Insights: Arthritis and Musculoskeletal Disorders* 2012;5: 27–42.
12. Al-Shakarchi I, Gullick NJ, Scott DL. Current perspectives on tocilizumab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Patient Prefer Adherence* 2013;7:653-666.
13. Smolen JS, Schoels MM, Nishimoto N, Breedveld FC, Burmester GR, Dougados M, et al. Consensus statement on blocking the effects of interleukin-6 and in particular by interleukin-6 receptor inhibition in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. *Ann Rheum Dis* 2013;72:482–492.
14. Patel AM, Moreland LW. Interleukin-6 inhibition for treatment of rheumatoid arthritis: A review of tocilizumab therapy. *Drug Design, Development and Therapy* 2010;4:263–278.
15. Oldfield V, Dhillon S, Plosker GL. Tocilizumab A Review of its Use in the Management of Rheumatoid Arthritis. *Drugs* 2009;69(5):609-632.

16. Pichler WJ, editor. Drug Hypersensitivity. Basel: Karger; 2007
17. Brockow K, Garvey LH, Aberer W, Atanaskovic-Markovic M, Barbaud, Bilo AM, et al. The ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group. Skin test concentrations for systemically administered drugs – an ENDA/EAACI Drug Allergy Interest Group position paper. *Allergy* 2013;68:702–712.
18. Ebo DG, Leysen J, Mayorga C, Rozieres A, Knol EF, Terreehorst I. The in vitro diagnosis of drug allergy: status and perspectives. *Allergy* 2011;66:1275-1286.
19. Smolen JS, Schoels MM, Nishimoto N, Breedveld FC, Burmester GR, Dougados M, et al. Consensus statement on blocking the effects of interleukin-6 and in particular by interleukin-6 receptor inhibition in rheumatoid arthritis and other inflammatory conditions. *Ann Rheum Dis* 2013 Online supplementary material.
20. Schiff MH, Kremer JM, Jahreis A, Vernon E, Isaacs JD, van Vollenhoven RF. Integrated safety in tocilizumab clinical trials. *Arthritis Research & Therapy* 2011;13:R141.
21. Koike R, Harigai M, Atsumi T, Amano K, Kawai S, Saito K, et al. Japan College of Rheumatology 2009 guidelines for the use of tocilizumab, a humanized anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody, in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2009;19:351–357.
22. Simons FE et al. 2012 Update: World Allergy Organization Guidelines for the assessment and management of anaphylaxis. *Current Opinion Allergy Clin Immunology* 2012;12:393-399
23. Matucci A, Pratesi S, Petroni G, Nencini F, Virgili G, Milla M, et al. Allergological in vitro and in vivo evaluation of patients with hypersensitivity reactions to infliximab. *Clin Exp Allergy* 2013;43:659-664.
24. Stubenrauch K, Wessels U, Birnboeck H, Ramirez F, Jahreis A, Schleypen J. Subset Analysis of Patients Experiencing Clinical Events of a Potentially Immunogenic Nature in the Pivotal Clinical Trials of Tocilizumab for Rheumatoid Arthritis: Evaluation of an Antidrug Antibody ELISA Using Clinical Adverse Event Driven Immunogenicity Testing. *Clinical Therapeutics* 2010;32:9:1597-1609.
25. Vultaggio A, Matucci A, Nencini F, Pratesi S, Maggi E. Skin testing and infliximab-specific antibodies detection as a combined strategia for preventing infusion reaction. *Intern Emerg Med* 2011;7:S77-79.