

Differenze nella farmacologia dei farmaci antagonisti del tumor necrosis factor (TNF)

Differences in pharmacology of tumor necrosis factor (TNF) antagonists

U. Fiocco, S. Bombardieri¹

Cattedra di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Padova;

¹Dipartimento di Reumatologia, Università degli Studi di Pisa

SUMMARY

The commercially available inhibitors of TNF are constituted by two classes of molecules: the soluble receptors (Etanercept: Amgen Inc. Wyeth) and the monoclonal antibodies (Adalimumab: Abbott Laboratories and Infliximab: Centocor, Inc.). The differences in their molecular structure, mechanism of action, pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) are discussed, along with the differences concerning dose, administration regimens, drug concentrations and pharmacological interactions. In order to explain the clinical differences observed when these agents are used in the "real world", which can arise from the respective PK characteristics (kinetics, route and frequency of administration, type of TNF binding, effects on cytokines) and PD responses and peculiar mechanisms of action, with distinctive immune function (LFT α inactivation; apoptosis induction, TNF immunoprecipitation, C1q binding and CDC induction; Fc γ cross-linking and ADCC induction), the dynamics of interaction of the two classes of neutralizing molecules with TNF, and the ability in restoring TNF homeostasis, are outlined.

Reumatismo, 2005; 57 - N. 4 (Suppl. 1):8-16

INTRODUZIONE

La citochina pleiotropica cachettina, nota precedentemente come Tumor Necrosis Factor alfa (TNF α), e la molecola ad essa correlata Linfotossina alfa (LFT α), nota in precedenza come Tumor Necrosis Factor beta (TNF β), sono ormoni polipeptidici membri della superfamiglia dei TNF composta da circa 30 molecole correlate, codificate nella regione MHC di Classe III. Il proTNF α sintetizzato ex novo viene posto sulla membrana plasmatica e clivato nella forma solubile di 17 kilodalton (TNFs) dall'enzima convertente il TNF α (TACE or ADAM-17) (1). Il TNF, prodotto prevalentemente da monociti/macrofagi attivati e da cellule T, è coinvolto nello sviluppo del sistema immune, nel-

la difesa dell'ospite e nella sorveglianza immunitaria (2-4).

Il TNF α e l'LFT α condividono gli stessi due recettori monomerici sulla superficie cellulare, il 55 kDa (p55 TNFR) e il 75 kDa (p75 TNFR), che funzionano come elementi di traduzione del segnale (5, 6). Questa risulta principalmente mediata dal p55TNFR, mentre l'azione principale del p75 consiste nella presentazione della molecola del TNF al p55, con funzione di "ligand passing" sulla membrana cellulare.

Entrambi i TNFR esistono nelle forme solubili (sTNFR) prodotte dal clivaggio enzimatico una volta che si è verificata l'attivazione cellulare (7-9). Il TNFR p75 origina dalle cellule T e B attivate, dai neutrofili e dalle cellule endoteliali, mentre il TNFR p55 origina dalle cellule epiteliali. La loro vita media in circolo è di circa 4 ore. I TNFR mediano numerose funzioni biologiche e la loro espressione e liberazione in circolo sono modulate da numerosi ormoni e citochine (10-14).

Il TNFs, nella forma circolante trimerica stabile di 51 kDa, ha una emivita sierica di circa 6 min e mostra una bassa affinità di legame per i TNFRs. A

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Ugo Fiocco

Cattedra e UOC di Reumatologia

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Università degli Studi di Padova

Via Giustiniani, 2

35128 Padova

E-mail: ugo.fiocco@unipd.it

concentrazioni fisiologiche, la molecola bioattiva del TNFs si dissocia in modo irreversibile nella forma monomeric inattiva. L'aggiunta dei TNFRs ai trimeri del TNF, induce la formazione di complessi, preservando la forma attiva e permettendo la sostituzione del TNFs inattivato, attraverso la dissociazione nella forma trimerica libera.

La funzione dei TNFRs può essere quella di regolare la biodisponibilità del TNF nell'organismo. Infatti, i TNFRs possono agire in diversi modi: come antagonisti del TNF, quando sono presenti in quantità eccessiva; come proteina carrier del TNF e come riserva per il rilascio di TNF, prolungandone l'emivita (15).

Il TNF è una citochina che riveste una funzione chiave nel processo infiammatorio e il suo ruolo critico è stato dimostrato in numerose patologie su base infiammatoria tra cui l'Artrite Reumatoide (AR), l'Artrite Reumatoide dell'Infanzia, il morbo di Still, la malattia di Crohn (MC), l'Artrite Psoriasica e la Psoriasi, la Spondilite Anchilosante e altre Spondiloartriti (16-26).

Il TNF è importante anche nello sviluppo e nel mantenimento dei granulomi in corso di risposta dell'ospite in una varietà di infezioni, compresa la tubercolosi, l'istoplasmosi e la coccidiomiosi e ciò giustifica come malattie infettive come la tubercolosi o, meno comunemente, altre malattie infettive di natura fungina, rappresentino tra le reazioni avverse più temibili in corso di terapia con antagonisti del TNF accanto ad altre forme di tossicità meno comuni (linfomi, malattie demielinizzanti, lupus like sindrome, scompenso cardiaco) (27-31). Gli inibitori del TNF disponibili in commercio sono costituiti da due classi di molecole: i recettori solubili (Etanercept) e gli anticorpi monoclonali (Adalimumab e Infliximab). Essi agiscono sequestrando, mediante la formazione di complessi, il TNF in forma attiva e bloccandone di conseguenza l'interazione con i TNFRs della superficie cellulare.

Le differenze potenziali tra questi agenti vanno oltre le caratteristiche strutturali e farmacocinetiche (PK) distintive e riguardano i meccanismi, non ancora completamente chiariti, della risposta farmacodinamica (PD), che concorrono a delinearne il rapporto efficacia/tossicità (32, 33). Una accurata distinzione farmacologica tra gli inibitori del TNF è molto importante dal momento che queste molecole presentano un impatto clinico estremamente divergente in diverse condizioni patologiche; ne deriva che è giustificato un eventuale switch terapeutico da una molecola all'altra nel caso di un fallimento terapeutico iniziale (34).

STRUTTURA MOLECOLARE

Etanercept

L'Etanercept è una proteina di fusione ricombinante costituita dalle sequenze aminoacidiche umane di 2 domini extracellulari del TNFR p75, legati alla porzione Fc della immunoglobulina umana di tipo 1 (IgG1) (TNFR:Fc). Ha un peso molecolare di circa 150 kDa (35).

Adalimumab

L'Adalimumab è un anticorpo monoclonale ricombinante umano IgG1 specifico per il TNF α umano. L'anticorpo monoclonale comprende regioni variabili di catene pesanti e leggere di derivazione umana e regioni IgG1:K umane costanti. È costituito da 1330 aminoacidi ed ha un peso molecolare di circa 148 kDa (36).

Infliximab

L'Infliximab è un anticorpo monoclonale chimerico umano-murino IgG1K con un peso molecolare approssimativo di 149 kDa. Viene prodotto mediante una linea cellulare ricombinante, in base al prototipo dell'anticorpo monoclonale murino geneticamente modificato A2, ed è composto da regioni variabili umane e murine (37).

MECCANISMO D'AZIONE

Etanercept

L'Etanercept inibisce l'attività del TNF legandosi con elevata affinità sia alla forma solubile che a quella transmembrana del TNF (tmTNF); esso inattiva sia il TNF α che l'LFT α (Fig. 1).

Il legame del TNF ad opera del costrutto dimerico

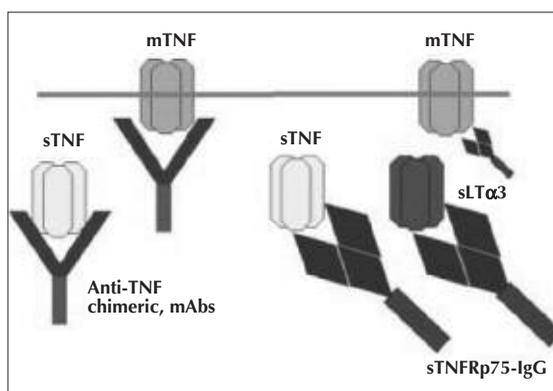


Figura 1 - Meccanismo d'azione dell'Infliximab e dell'Etanercept (modificato da ref. 25).

umano p75 TNFR:Fc è 50-1000 volte più potente, in termini di inibizione del TNF, rispetto alla forma monomerica (38) ed è caratterizzato da una elevata velocità di associazione e dissociazione al TNF (39, 40). L'interazione del p75 TNFR:Fc con il trimero sTNF è bivalente, con costanti di affinità di 80nM e 2.5nM (39, 40).

L'Etanercept lega preferenzialmente la forma trimerica del sTNF, ma può legare anche il tmTNF, lasciando comunque libero un sito di legame sul recettore anche in condizioni di eccesso di ligando. Il TNFR:Fc forma dei complessi relativamente instabili sia con la forma trimerica sTNF che con le forme tmTNF, conducendo al rilascio di una forma di TNF dissociata bioattiva. L'Etanercept si lega in vitro al tmTNF con una efficacia inferiore di circa quattro volte a quella con cui si lega l'Infliximab ed è significativamente meno potente nel bloccare gli effetti indotti dal tmTNF. A causa della velocità di dissociazione relativamente rapida in confronto all'Infliximab, l'Etanercept libera circa il 50% del TNF solubile e il 90% del tmTNF dopo soli 10 minuti dal legame (40). L'Etanercept induce l'apoptosi dei monociti sinoviali (41).

Adalimumab

L'Adalimumab si lega specificamente al TNF α e blocca la sua interazione con i recettori di superficie p55 e p75. Il rapporto di binding è di 1:1. È stato dimostrato che il complesso che si forma più comunemente è quello costituito da 3 molecole di Adalimumab e 3 di TNF. La costante di affinità era 1×10^{-10} M. L'Adalimumab non si lega alla né inattiva l'LFT α . L'Adalimumab lisa in vitro le cellule che esprimono in superficie il TNF α in presenza del complemento (42, 43).

Infliximab

L'Infliximab neutralizza l'attività biologica del TNF legandosi con elevata affinità alle forme sTNF α e tmTNF α e inibisce il legame del TNF con i suoi recettori (Fig. 1).

L'Infliximab si lega sia alla forma monomerica che a quella trimerica del sTNF, con una costante di associazione di 10×10^6 M $^{-1}$ e forma complessi stabili sia con il sTNF che con il tmTNF. Ogni molecola di Infliximab è in grado di legarsi a 1 o 2 molecole del tmTNF trimerico/ monomerico e di collegare a ponte due molecole di tmTNF. Si ritiene che fino a tre molecole di Infliximab possano legare un trimero tmTNF, in modo 4 volte maggiore rispetto all'Etanercept, lasciando liberi pochissimi siti recettoriali.

Inoltre, l'avidità di legame dell'Infliximab per il tmTNF, più elevata rispetto a quella dell'Etanercept, è stata dimostrata sia tramite una inibizione dell'attivazione tmTNF-mediata delle cellule umane endoteliali, sia tramite l'espressione della selectina E tmTNF-mediata che è risultata significativamente più efficace (40).

L'Infliximab non neutralizza l'LFT α . Le cellule che esprimono TNF α transmembrana legato dall'Infliximab possono essere lisate in vitro mediante precipitazione del C1q e cross-linking e multimerizzazione dei recettori Fc γ ed induzione di citotossicità cellulo- ed anticorpo-dipendente (CDC; ADCC) (39, 44); nei monociti circolanti e sinoviali e nei linfociti della lamina propria il legame con l'Infliximab può indurre l'apoptosi (41, 45-47).

FARMACOCINETICA

Etanercept

L'Etanercept viene assorbito lentamente dalla sede di iniezione sotto cute (SC), raggiungendo la massima concentrazione circa 48 ore dopo una singola dose (48). La biodisponibilità assoluta è del 76%. Dopo una singola dose SC di 25 mg di Etanercept, la concentrazione sierica massima (C_{max}) osservata in volontari sani era 1.65 ± 0.66 μ g/mL, il volume di distribuzione era 12 ± 6 L e l'area sotto la curva (AUC) era 235 ± 96.6 μ g-h/L. La proporzionalità della dose non è stata formalmente valutata, ma non sembra esistere una apparente saturazione della clearance lungo il range di dosaggio. Il volume di distribuzione allo steady-state (V_{ss}) è 10,4 l. L'emivita terminale ($T_{1/2}$) è di circa 70 ore (2.9 giorni). La clearance osservata in volontari sani è di circa 0.11 L/hr e di circa 0.066 L/hr nei pazienti con AR. Il complesso Etanercept-TNF viene metabolizzato tramite le vie di riciclaggio degli aminoacidi o eliminato nella bile e nelle urine (49). La farmacocinetica a lungo termine dell'Etanercept è stata studiata nei pazienti con AR a cui era stata somministrata una dose di 25mg due volte a settimana. Dopo 6 mesi di trattamento, le concentrazioni allo steady-state erano all'incirca il doppio di quelle osservate dopo dosi singole (2.2 mg/L) e la clearance era di 0.2 L/hr. È stato dimostrato che il profilo di farmacocinetica dell'Etanercept 50 mg una volta a settimana era simile a quello ottenuto con una dose di 25 mg due volte a settimana (50). L'analisi farmacocinetica, effettuata in pazienti psoriasici, trattati con Etanercept 50 mg due volte a settimana per 12 settimane, ha mostrato una con-

centrazione media allo steady-state di 3796 ± 132.2 ng/mL, in confronto a quella di 1902 ± 81.3 ng/mL osservata nel gruppo trattato con 25 mg due volte a settimana (51). In 3 pazienti con AR, ripetuti esami del liquido sinoviale hanno mostrato concentrazioni di Etanercept simili a quelle osservata nel plasma.

Non esiste differenza apparente nella farmacocinetica tra uomini e donne. L'influenza dell'età avanzata è stata esaminata nelle analisi farmacocinetiche di popolazione. Le stime di clearance e di volume nei pazienti di età compresa tra 65 e 87 anni erano simili a quelle dei pazienti di età inferiore ai 65 anni. Nei pazienti con insufficienza renale o epatica acuta non sono state osservate concentrazioni aumentate di Etanercept.

Adalimumab

Dopo una singola somministrazione di 40 mg per via sottocutanea di Humira in soggetti adulti sani, la concentrazione sierica massima (C_{max}) e il tempo per raggiungere la concentrazione massima (T_{max}) erano rispettivamente di 4.7 ± 1.6 µg/mL e 131 ± 56 ore (52). La biodisponibilità assoluta media dell'Adalimumab, stimata dopo una singola dose per via sottocutanea di 40 mg, era del 64%. La farmacocinetica dell'Adalimumab era lineare per il range di dose tra 0.5 e 10.0 mg/kg, dopo una singola dose endovena (EV). La farmacocinetica della dose singola dell'Adalimumab è stata determinata in diversi studi con dosi EV, comprese tra 0.25 e 10 mg/kg. Il volume di distribuzione (V_{ss}) variava da 4.7 a 6.0 L. La clearance sistemica dell'Adalimumab è di circa 12 mL/hr. L'emivita terminale media era di 2 settimane, variando da 10 a 20 giorni nei diversi studi. Le concentrazioni di Adalimumab nel liquido sinoviale di pazienti con AR variavano dal 31 al 96% rispetto a quelle presenti nel siero (53). Sono state osservate concentrazioni medie allo steady-state di circa 5 µg/mL. I livelli sierici allo steady state aumentavano in modo all'incirca proporzionale alla dose dopo 20, 40 e 80 mg a settimane alterne e ogni settimana per via sottocutanea. In studi di dosaggio a lungo termine durati più di due anni, non sono state osservate modifiche della clearance con il tempo. Analisi farmacocinetiche di popolazione hanno evidenziato la presenza di un trend verso una clearance apparentemente più elevata dell'Adalimumab in presenza di anticorpi anti-Adalimumab e una clearance più bassa con l'avanzare dell'età nei pazienti da 40 a >75 anni. Riduzioni inferiori della clearance sono prevedibili nei pazienti che ricevono dosi più bas-

se della dose raccomandata e nei pazienti con fattore reumatoide o concentrazioni sieriche di Proteina C Reattiva elevati. Probabilmente questi aumenti non rivestono importanza clinica.

Infliximab

Infusioni endovenose singole di dosi da 1 a 20 mg/kg hanno mostrato un rapporto prevedibile e lineare tra la dose somministrata e la concentrazione sierica e la AUC. A dosi singole di 3, 5 o 10 mg/kg, i valori mediani di C_{max} erano rispettivamente di 77, 118 e 277 µg/mL. Il $T_{1/2}$ mediano a queste dosi variava da 8 a 9.5 giorni (54, 55). Il volume mediano di distribuzione allo steady state, variante tra 7.6 e 10.4 L, era indipendente dalla dose e indicava che l'Infliximab era distribuito soprattutto nell'ambito del compartimento vascolare. Ciò è probabilmente provocato da una clearance più rapida a causa della sua natura chimerica. Dopo una dose iniziale di Infliximab, infusioni ripetute a 0, 2 e 6 settimane con 5 o 10 mg/Kg in pazienti con MC fistolizzata hanno determinato profili prevedibili concentrazione-tempo dopo ogni trattamento. Nella maggior parte dei pazienti, è stato possibile rilevare l'Infliximab nel siero per almeno 8 settimane, dopo la dose singola raccomandata di 5 mg/kg nel MC e la dose di mantenimento nell'AR di 3 mg/kg ogni 8 settimane. Risultati mediani di farmacocinetica per le dosi raccomandate di 3 mg/kg nell'AR e 5 mg/kg nel MC indicano che l'emivita terminale dell'Infliximab varia da 8.0 a 9.5 giorni, considerevolmente più breve rispetto alla IgG1 umana (circa 23 giorni).

Nei pazienti con AR non si è verificato accumulo dell'Infliximab dopo trattamento continuato ripetuto con 3 mg/kg o 10 mg/kg ad intervalli di 4 o 8 settimane, preceduto da un regime di induzione a 0, 2 e 6 settimane. Concentrazioni stabili sono state osservate per 102 settimane. Tuttavia, come riportato nel Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto, alla dose di 3 mg/Kg di infliximab il 25% dei soggetti presenta, al termine del periodo di trattamento di 8 settimane, livelli del farmaco inferiori a quelli dosabili (56).

Nei pazienti con MC moderata o severa, ritrattati con 4 infusioni di 10 mg/kg di Infliximab ad intervalli di 8 settimane, sono stati mantenuti sia il rapporto sierico concentrazione-dose atteso che quello rilevabile (≥ 0.1 µg/ml).

Nei sottogruppi di pazienti definiti per età o peso non sono state osservate differenze importanti. Non è noto se esistono differenze nella clearance o nel volume di distribuzione nei pazienti con marcata al-

Tabella I - Profilo farmacocinetico degli inibitori del TNF.

	Struttura molecolare	Biodisponibilità assoluta	C_{max}	AUC	$T_{1/2}$	V_d	Clearance	Concentrazione nel liquido sinoviale
Etanercept (25 mg SC dose singola)	Proteina di fusione di 2 p75 TNFR legati al Fc della IgG1 (TNFR:Fc)	76%	1,65 ± 0,66 µg/mL	235 ± 96,6 mg·h/L	2,9 giorni	7,6 L; 10,4 L allo steady state	0,11 L/hr in volontari sani; 0,066 L/hr in pazienti con RA	Simile a quella del siero
Adalimumab (dose singola SC 40 mg)	Anticorpo umano anti-TNF	64%	4,7 ± 1,6 µg/mL	*	14,7-19,3 days	5,1-5,7 L (steady-state)	0,009-0,012 L/h	31-96% rispetto al siero
Infliximab 3 mg/kg/EV)	Anticorpo IgG 1 K chimerico umano murino anti-TNF	100%	118 mg/mL	*	9,5 giorni	3-4 L	*	*
*Dati non disponibili								

terazione della funzione epatica o renale. Una analisi post hoc dei dati dello studio ATTRACT ha fornito l'evidenza di un rapporto significativo tra il grado di miglioramento clinico e le concentrazioni sieriche dell'Infliximab (57). La risposta alla terapia con l'Infliximab era legata ai livelli sierici del farmaco e mostrava una ampia variazione inter-individuale. Fattori metabolici spiegano probabilmente la sua rapida eliminazione in alcuni pazienti (56, 57). In una coorte di 105 pazienti con AR, dopo l'inizio della terapia con una dose di 3 mg/kg a 2, 6 e 14 settimane, coloro che hanno risposto alla terapia mostravano concentrazioni mediane sieriche significativamente più elevate a 14 settimane di trattamento, in confronto a quelli che non hanno risposto (3,6 [1.4-8.3] versus 0.5 [0.2-2.1] mg/L). I meccanismi che possono indurre alterazioni nelle concentrazioni sieriche dell'Infliximab rimangono sconosciuti (58). La farmacocinetica dell'Infliximab nei pazienti anziani non è stata studiata. Il profilo farmacocinetico degli inibitori del TNF viene riassunto nella tabella I.

INTERAZIONI FARMACOLOGICHE

Etanercept

Il Metotrexate (MTX) non esercita effetti rilevanti sulla farmacocinetica dell'Etanercept (59). Non sono state osservate interazioni farmacologiche clini-

camente rilevanti in maschi volontari sani sottoposti a trattamento simultaneo con Etanercept e Digossina o Etanercept e Warfarin.

Adalimumab

Concentrazioni medie di Adalimumab allo steady-state rispettivamente di circa 5 µg/mL e da 8 a 9 µg/mL sono state osservate senza e con MTX. Quest'ultimo ha ridotto la clearance apparente dell'Adalimumab, dopo dosaggio singolo e multiplo, rispettivamente del 29% e del 44%.

Infliximab

Le concentrazioni sieriche in terapia combinata con MTX (7.5 mg una volta a settimana) sono risultate leggermente più elevate rispetto alla somministrazione di solo Infliximab. I pazienti ai quali veniva somministrato 1 mg/kg di Infliximab senza MTX dimostravano una riduzione nella concentrazione sierica di Infliximab più rapida, presentando una riduzione dell'Infliximab sierico fino a 0.1 µg/ml 4 settimane dopo la seconda infusione e a 2 settimane dopo le infusioni seguenti. Lo sviluppo di anticorpi umani antichimerici (HACA) verso l'Infliximab rappresenta una possibile spiegazione dell'aumento della clearance e della conseguente riduzione nella concentrazione sierica. Il grado di risposta agli HACA era inversamente proporzionale alla dose di Infliximab. Il 57% dei soggetti ai quali era stato somministrato Infliximab 1 mg/kg

senza MTX è divenuto HACA positivo in confronto, rispettivamente, al solo 25% e 10%, nei gruppi dei 3 e 10 mg/kg. La terapia concomitante con MTX a basse dosi ha diminuito lo sviluppo degli HACA, anche se veniva mantenuto il trend di una risposta anticorpale inversamente proporzionale alla dose.

CONCLUSIONI

Le differenze di farmacodinamica (PD) e delle risposte cliniche osservate quando gli inibitori del TNF vengono utilizzati “nel mondo reale”, possono riguardare le diversità di struttura molecolare, il meccanismo d’azione e le proprietà farmacocinetiche (PK) (C_{max} ; emivita), via e schema di somministrazione (sottocute vs infusione), tipo e durata del legame col TNF (legame alla forma trimerica vs entrambe le forme, monomerica e trimerica del TNF), le differenze del dosaggio, dello schema di somministrazione, delle concentrazioni del farmaco, e le interazioni farmacologiche. L’efficacia e la tossicità di un particolare antagonista del TNF, per ogni specifica forma patologica, risente delle peculiarità del meccanismo d’azione e delle modificazioni selettive ottenute sulla risposta immunitaria (inibizione della LFT α , induzione di apoptosi a carico di diversi tipi cellulari, immunoprecipitazione del TNF, legame del C1q e cross-linking Fc γ con induzione di CDC ed ADCC). Grande importanza riveste anche la dinamica delle interazioni delle due classi di antagonisti biologici del TNF.

Le importanti diversità nell’efficacia e tossicità dimostrate dagli anticorpi monoclonali (infliximab; adalimumab) rispetto al TNFR:Fc (etanercept) possono essere comprese esaminando il rapporto fra i rispettivi effetti clinici e l’esposizione al farmaco. L’esposizione dipende dalle caratteristiche PK ed in particolare dal profilo della concentrazione-tempo, delle diverse molecole neutralizzanti il TNF. Alcuni principali parametri di esposizione al farmaco comprendono la concentrazione minima, media e massima allo steady-state ed il volume di distribuzione.

Alla dose di infliximab di 3 mg/Kg la concentrazione minima allo steady-state può risultare subterapeutica alla fine di tale periodo, rispetto alle concentrazioni di 1.5 mg/l per etanercept (al dosaggio di 25 mg x 2/settimana) e 3.8 mg/l per adalimumab (40 mg/2 settimane) (33). Il dosaggio inefficace si può manifestare con la riaccensione dei sintomi ed

anche con la necessità di incremento del dosaggio o di riduzione della durata degli intervalli di somministrazione del farmaco.

L’impatto di tale aspetto PK risulta accentuato dal basso volume di distribuzione di infliximab, appena superiore a quello del volume sierico (3-5 l), con una scarsa capacità di distribuzione nei tessuti. Quello di adalimumab risulta di poco superiore (4-6 l), mentre il volume di distribuzione di etanercept allo steady-state risulta superiore (7-12 l) e permette la distribuzione del 50% del farmaco a livello extravascolare.

La concentrazione massima di Infliximab, al dosaggio di 3mg/Kg, risulta superiore di circa 40 volte alla concentrazione massima di etanercept e di 13 volte a quella di Adalimumab. Alle dosi di Infliximab di 5 e 10 mg/Kg, le concentrazioni massime risultano superiori di 64 e 120 volte a quelle di etanercept e di 20-40 volte a quelle di Adalimumab. Questa sovraesposizione acuta all’anticorpo monoclonale Infliximab può comportare il legame della maggior parte del TNF dell’organismo alla molecola inibitrice, con modificazioni sensibili nelle reazioni biologiche di difesa dipendenti da tale citochina (33).

Inoltre, la maggior stabilità dei complessi con il TNF, la neutralizzazione più completa e prolungata del TNF, la concentrazione più elevata dell’Infliximab a livello cellulare e le proprietà citolitiche, per la capacità di immunoprecipitare il TNF, di legare il C1q e di indurre il cross-linking dei recettori Fc γ e quindi la citotossicità cellulo- ed anticorpo- dipendente (CDC; ADCC) (39), rivestono un ruolo significativo relativamente alle specifiche proprietà biologiche e al profilo di sicurezza complessivo dell’Infliximab. Infine, l’ampia variazione individuale dei livelli serici e della percentuale di “clearance” di questa molecola possono riflettersi in una risposta clinica meno prevedibile.

Il TNFR:Fc mostra, oltre alla maggiore diffusibilità nel compartimento extracellulare, la capacità peculiare di inibire l’LTF α . Esso risulta in grado di “intrappolare” rapidamente il TNF e l’LT là dove questi mediatori sono presenti in abbondanza e di rilasciarli rapidamente ovunque essi siano presenti in basse concentrazioni, esplicando in tal modo un’azione transitoria più fisiologica nella neutralizzazione del TNF.

Anche la dinamica delle interazioni fra agenti neutralizzanti e TNF è stata analizzata di recente mediante lo sviluppo di modelli matematici, derivati dagli studi di dinamica di singole citochine, con l’impiego dei parametri di PK pubblicati per i tre

farmaci biologici anti-TNF (60). Il modello rappresenta la dinamica del TNF nel “compartimento reattoriale”, definito come la cavità articolare, sede di infiammazione, dove il TNF prodotto localmente è in grado di legare i recettori solubili e cellulari di superficie. Mediante tale modello tutti e tre gli inibitori sono risultati efficaci, in condizioni di equilibrio (produzione/inibizione di TNF) patologiche quale quella rappresentata dall’artrite reumatoide.

I risultati della simulazione matematica dimostrano che per concentrazioni elevate di TNF (10 volte il livello di produzione di base), Etanercept presenta l’effetto più drammatico di inibizione, con una riduzione della concentrazione di TNF bio-attivo, rispetto a quella di base, pari al 98%, verso il 29% ed il 16%, ottenute con infliximab e con sTNFR2, rispettivamente.

La bassa affinità per il TNF libero può spiegare la minore attività di infliximab, rispetto ad etanercept, in questo modello virtuale. Tuttavia, l’ampia variabilità riscontrata nelle concentrazioni di TNF in vivo, nell’AR, è probabilmente sufficiente a giustificare l’elevata efficacia della risposta clinica evidenziata da infliximab negli studi controllati.

Inoltre, i risultati della simulazione matematica suggeriscono che il principale meccanismo d’azione di infliximab in vivo non dipenda dall’inibizione del legame del sTNF al recettore ma, grazie alla stabilità di legame di infliximab al TNF di membrana, risieda nella citolisi delle cellule che lo producono.

Anche in condizioni di bassa concentrazione di TNF libero indotta dagli inibitori, Etanercept, una molecola caratterizzata da una costante di associazione più elevata e da un valore intermedio di clearance, a differenza degli altri due antagonisti è risultato in grado di competere efficacemente per il legame del TNF con il pool dei recettori cellulari di superficie, come già predetto da Mohler (15).

Partendo dal presupposto che le malattie infiammatorie croniche rappresentino uno stato patologico in equilibrio dinamico, caratterizzato da elevata produzione di TNF, gli antagonisti biologici in grado di riportare e mantenere la concentrazione di tale citochina ai livelli più prossimi a quelli dell’omeostasi fisiologica, sembrano garantire il massimo vantaggio in termini di rapporto efficacia/tossicità, dato il ruolo protettivo cruciale del TNF nella specie umana (27).

RIASSUNTO

Gli inibitori del TNF disponibili in commercio sono rappresentati da due classi di molecole: i recettori solubili (Etanercept: Amgen Inc. Wyeth) e gli anticorpi monoclonali (Adalimumab: Abbott Laboratories e Infliximab: Centocor, Inc.). Vengono discusse le differenze di struttura molecolare, il meccanismo di azione, la farmacocinetica (PK) e la farmacodinamica (PD), congiuntamente alle differenze riguardo la dose, i modi di somministrazione, le concentrazioni del farmaco e le interazioni farmacologiche. Allo scopo di spiegare le differenze cliniche osservate quando questi agenti vengono usati nel “mondo reale”, differenze che possono derivare dalle rispettive caratteristiche di PK (cinetica, via e frequenza di somministrazione, tipo di legame al TNF, effetti sulle citochine) e dalle risposte di PD e dai meccanismi di azione peculiari, con funzione immunitaria spiccata (inattivazione dell’LFT α ; induzione dell’apoptosi, immunoprecipitazione del TNF, legame al C1q e induzione del CDC; cross-linking al Fc γ e induzione dell’ADCC), vengono evidenziate le dinamiche di interazione con il TNF delle due classi di molecole neutralizzanti, e la capacità di ristabilire l’omeostasi del TNF.

Parole chiave - Antagonisti del Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α), etanercept, infliximab, adalimumab, farmacologia.
Key words - Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α) antagonists, etanercept, infliximab, adalimumab, pharmacology.

BIBLIOGRAFIA

1. Newton RC, Solomon KA, Covington MB, Decicco CP, Haley PJ, Friedman SM, et al. Biology of TACE inhibition. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: iii25-iii32.
2. Aggarwal BB, Natarajan K. Tumor necrosis factors: developments during the last decade: *Europ. Cytokine Netw* 1996; 7: 93-124.
3. Dinarello CA, Moldawer LL. “The tumor necrosis Factor (TNF) Superfamily and its Receptors” in *Proinflammatory and Anti-inflammatory Cytokines in Rheumatoid arthritis. A primer for clinicians. III° Edition*. 2002; Chapt. 4; 95-114.
4. Ruddle NH. Lymphoid neo-organogenesis: lymphotoxin’s role in inflammation and development. *Immunol Res* 1999; 19: 119-25.
5. Smith CA, Davis T, Anderson D, Solam L, Beckmann MP, Jerzy R, et al. A receptor for tumor necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins. *Science* 1990; 248: 1019-23.

6. Schett G, Tohidast AM, Smolen JS, Schmid BJ, Steiner CW, Bitzan P, et al. Activation, differential localization, and regulation of the stress-activated protein kinases, extracellular signal-regulated kinase, c-Jun N-terminal kinase, and p38 mitogen-activated protein kinase, in synovial tissue and cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2501-12.
7. Bryant GD, Aggarwal BB. Signal transduction by tumour necrosis factor and tumour necrosis factor related ligands and their receptors *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (Suppl 1): i2-i13.
8. Cui X, Hawari F, Alsaaty S, Lawrence M, Combs CA, et al. Identification of ARTS-1 as a novel TNFR1-binding protein that promotes TNFR1 ectodomain shedding. *J Clin Invest* 2002; 110: 515-26.
9. Higuchi M, Aggarwal BB. TNF induces internalization of the p60 receptor and shedding of the p80 receptor. *J Immunol* 1994; 152: 3550-8.
10. Aderka D. The potential biological and clinical significance of soluble tumor necrosis factor receptors. *Cytokine and Growth Factor Reviews*.1996; 7: 231-240.
11. Brennan FM, Feldmann M. Cytokines in autoimmunity. *Curr Opin Immunol* 1992; 4: 754-9.
12. Loetscher H, Pan YC, Lahm HW, Gentz R, Brockhaus M, Tabuchi H, et al. Molecular cloning and expression of the human 55 kd tumor necrosis factor receptor. *Cell* 1990; 61: 351-9.
13. Roux-Lombard P, Punzi L, Hasler F, Bas S, Todesco S, Gallati H, et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in human inflammatory synovial fluids. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 485-9.
14. Robak T, Gladalska A, Stepień H The tumour necrosis factor family of receptors/ligands in the serum of patients with rheumatoid arthritis. *Eur Cytokine Netw* 1998; 9: 145-54.
15. Mohler KM, Torrance DS, Smith CA, Goodwin RG, Stremmler KE, Fung VP, et al. Soluble tumor necrosis factor (TNF) receptors are effective therapeutic agents in lethal endotoxemia and function simultaneously as both TNF carriers and TNF antagonists. *J Immunol* 1993; 151: 1548-61.
16. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 151-60.
17. Barrera P, Joosten RA, den Broeder AA, van de Putte LB, van Riel PL, van den Berg WB. Effects of treatment with a fully human anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody on the local and systemic homeostasis of interleukin 1 and TNFalpha in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 7: 660-6.
18. Brennan FM, Gibbons DL, Copea P, Katsikis P, Maini RN, Feldmann M. TNF inhibitors are produced spontaneously by rheumatoid and osteoarthritic synovial joint cell cultures: Evidence of feedback control of TNF action. *Scand J Immunol* 1995; 42: 158-65.
19. Choy E, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2001; 344: 907-16.
20. Grom AA, Murray KJ, Luyrink L, Emery H, Passo MH, Glass DN, et al. Patterns of expression of tumor necrosis factor a, tumor necrosis factor b, and their receptors in synovia of patients with juvenile rheumatoid arthritis and juvenile spondylarthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1703-10.
21. Han Z, Boyle DL, Manning AM, Firestein GS. AP-1 and NF-kappaB regulation in rheumatoid arthritis and murine collagen-induced arthritis. *Autoimmunity* 1998; 28: 197-208.
22. Kollias G, Douni EI, Kassiotis G, Kontoyiannis D. The function of tumour necrosis factor and receptors in models of multi-organ inflammation, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis and inflammatory bowel disease *Ann Rheum Dis* 1999; 58 (Suppl 1): i32-i39.
23. Lam J, Abu-Amer Y, Nelson CA, Fremont DH, Ross FP, Teitelbaum SL. Tumour necrosis factor superfamily cytokines and the pathogenesis of inflammatory osteolysis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61 (Suppl 2): ii82-ii83.
24. Ohshima, Mima T, Sasai M, Nishioka K, Shimizu M, Murata N, et al. Tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) interferes with Fas-mediated apoptotic cell death on rheumatoid arthritis (RA) synovial cells: a possible mechanism of rheumatoid synovial hyperplasia and a clinical benefit of anti-TNF-alpha therapy for RA. *Cytokine* 2000; 12: 281-8.
25. Benucci M, Li GF, Del Rosso A, Manfredi M. Adalimumab (anti-TNF-alpha) therapy to improve the clinical course of adult-onset Still's disease: the first case report. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 733.
26. Emery P, Seto Y. Role of biologics in early arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2003 Sep-Oct; 21(5 Suppl 31): S191-4.
27. Ehlers S. Role of tumour necrosis factor (TNF) in host defence against tuberculosis: implications for immunotherapies targeting TNF *Ann Rheum Dis* 2003; 62(Suppl 2): ii37-ii42.
28. Imperato AK, Bingham CO 3rd, Abramson SB. Overview of benefit/risk of biological agents. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22 (5 Suppl 35): S108-14.
29. Cush JJ. Unusual toxicities with TNF inhibition: heart failure and drug-induced lupus. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22 (5 Suppl 35): S141-7.
30. Magnano MD, Robinson WH, Genovese MC. Demyelination and inhibition of tumor necrosis factor (TNF). *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22 (5 Suppl 35): S134-40.
31. van Vollenhoven RF. Benefits and risks of biological agents: lymphomas. *Clin Exp Rheumatol*. 2004 Sep-Oct; 22 (5 Suppl 35): S122-5.
32. Calabrese LH. Molecular differences in anticytokine therapies. *Clin Exp Rheumatol*. 2003; 21: 241-8.
33. Nestorov I. Clinical Pharmacokinetics of Tumor Necrosis Factor Antagonists. *J Rheumatol* 2005; 32 (Suppl 74): 13-8.
34. van Vollenhoven RF. Switching between biological agents. *Clin Exp Rheumatol* 2004; 22 (5 Suppl 35): S115-21.
35. Knight DM, Trinh H, Le J, Siegel S, Shealy D, McDo-

- nough M, et al. Construction and initial characterization of a mouse-human chimeric anti-TNF antibody. *Mol Immunol* 1993; 30: 1443-53.
36. Salfeld JG. Use of new biotechnology to design rational drugs against newly defined targets. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 81-95.
 37. Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghray EBJ. Chimeric anti-TNF- α monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF- α and activates immune effector functions. *Cytokine* 1995; 7: 251-9.
 38. Scallon BJ, Cai A, Shealy D, Solowski N, Song X, Wagner C. New comparisons of two types of TNF α antagonists approved for rheumatoid arthritis [abstract]. *ArthritisRheum* 2000; 43 (Suppl.): S226.
 39. Kohno T, Edwardscki , Sonnenber G M. Biacore analysis of receptor binding with covalently and non-covalently associated TNF α . 64th Annual Scientific Meeting of the American College of Rheumatology and 35th Annual Scientific Meeting of the Association of Rheumatology Health Professionals; 2000 Oct 28-Nov 2; Philadelphia, Pa.
 40. Scallon BJ, Cai A, Solowski N, Rosenberg A, Song XY, Shealy D, et al. Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 418-26.
 41. Catrina AI, Trollmo C, af Klint E, Engstrom M, Lampana J, Hermansson Y, et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints: Extended report. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 61-72.
 42. Kempeni J. Update on D2E7: a fully human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody. *Ann Rheum Dis* 2000; 59 (Suppl 1): i44-i45.
 43. Vigna-Perez M, Abud-Mendoza C, Portillo-Salazar H, Alvarado-Sanchez B, Cuevas-Orta E, Moreno-Valdes R, et al. Immune effects of therapy with Adalimumab in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 2005; 141: 372-80.
 44. Barone D, Krantz C, Lambert D, Maggiora K, Mohler, K. Comparative analysis of the ability of etanercept and infliximab to lyse TNF expressing cells in a complement dependent fashion. American College of Rheumatology 63rd Annual Scientific Meeting; November 13-17, 1999, Boston, MA. Abstract 116.
 45. Bharat B, Aggarwal BB. Tumour necrosis factors receptor associated signalling molecules and their role in activation of apoptosis, JNK and NF-B. *Ann Rheum Dis* 2000; 59 (Suppl 1): i6-i16.
 46. Lügering A, Schmidt M, Lügering N, Pauerlsh G, Domschk EW, Kucharzik T. Infliximab induces apoptosis in monocytes from patients with chronic active Crohn's by using a caspase-dependent pathway. *Gastroenterology* 2001; 121: 1145-57.
 47. Ten Hove T, Van Montfrans C, Peppelenbosch MP, Van Deventer SJ. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut* 2002; 50: 206-11.
 48. Lee H, Kimko HC, Rogge M, Wang D, Nestorov I, Peck CC. Population pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of etanercept using logistic regression analysis. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 348-65.
 49. Korth-Bradley JM, Rubin AS, Hanna RK, Simcoe DK, Lebsack ME. The pharmacokinetics of etanercept in healthy volunteers. *Ann Pharmacother* 2000; 34: 161-4.
 50. Nestorov I, Lebsack M, DeVries T, Burge DJ. Pharmacokinetics of etanercept after once weekly subcutaneous administration of 50 mg doses to rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2003; 62 (Suppl 1): Abstract THU0239.
 51. Nestorov I, DeVries T, Zitnik R. Comparative pharmacokinetics of etanercept in patients with psoriasis or rheumatoid arthritis. *J Am Acad Dermatol*. 2004; 50 (Suppl 1): Abstract P752.
 52. Chen DM, Gordon KB, Leonardi C, Menter MA. Adalimumab efficacy and safety in patients with moderate to severe chronic plaque psoriasis: Preliminary findings from a 12-week dose ranging trial. 62nd AAD Annual Meeting; February 6-11, 2004; Washington DC. *J Am Acad Dermatol* 2004; 50 (suppl): Poster P2.
 53. Granneman RG, Zhang Y, Noertersheuser PA, Velagapudi RB, Awni WM, Locke CS. Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) relationships of adalimumab (HUMIRATM) in rheumatoid arthritis (RA) patients during phase II/III clinical trials. ACR Annual Scientific Meeting; November 2003; Orlando, FL. Poster 256.
 54. Rutgeerts P, D'Haens G, Targan S, Vasiliauskas E, Hanauer SB, Present DH, et al. Efficacy and safety of retreatment with anti-tumor necrosis factor antibody (infliximab) to maintain remission in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1999; 117: 761-9.
 55. Kavanaugh A, St. Clair EW, McCune WJ, Braakman T, Lipsky P. Chimeric anti-tumour necrosis factor-monoclonal antibody treatment of patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate therapy. *J Rheumatol* 2000; 27: 841-50.
 56. Centocor BV. 1999, Infliximab RCP.
 57. St.Clair EW, Wagner CL., Fasanmade AA, Wang B, Schaible T, Kavanaugh A, et al. The Relationship of Serum Infliximab Concentrations to Clinical Improvement in Rheumatoid Arthritis Results From ATTRACT, a Multicenter, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1451-9.
 58. Wolbink GJ, Voskuyl AE, Lems WF, de Groot E, Nurmohamed MT, Tak PP, et al. Relationship between serum trough infliximab levels, pre-treatment CRP-levels and clinical response to infliximab treatment in rheumatoid arthritis patients. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 704-7.
 59. Zhou H. Unaltered etanercept pharmacokinetics with concurrent methotrexate in patients with Rheumatoid arthritis *J Cl Pharm* 2004; 44: 1235-1243.
 60. Jit M, Henderson B, Stevens M, Seymour RM. TNF- α neutralisation in cytokine-driven diseases: a mathematical model to account for therapeutic success in Rheumatoid Arthritis but therapeutic failure in systemic inflammatory response syndrome. *Rheumatology* 2005; 44: 323-31.