

Monitorering af tumornekrosefaktor alfa-hæmmers biotilgængelighed, farmakokinetik og immunogenicitet

Læge Casper Steenholdt, overlæge Mark Ainsworth, overlæge Ole Østergaard Thomsen, overlæge Jørn Brynskov & professor Klaus Bendtzen

STATUSARTIKEL

Herlev Hospital,
Gastroenheden,
Medicinsk Sektion,
Rigshospitalet, Institut
for Inflammationsforskning,
og Biomonitor A/S,
Symbion Science Park,
København

Biologiske lægemidler har revolutioneret behandlingen af kronisk inflammatorisk tarmsygdom (IBD), og de anvendes nu rutinemæssigt til behandling af patienter med ugunstigt forløb på konventionel behandling. Biologisk behandling har hovedsageligt været anvendt til patienter med Crohns sygdom (**Figur 1**), men den er også virksom hos patienter med colitis ulcerosa. I Danmark er antistoffer mod tumornekrosefaktor (TNF)-alfa den eneste klasse af biologiske lægemidler, der er registreret til behandling af IBD.

Klassen omfatter den humant-murine TNF-hæmmer, infliximab, og den rent humane TNF-hæmmer, adalimumab. Infliximab har hidtil været førstevalgspræparat ved biologisk behandling af IBD, og det er den mest afprøvede TNF-hæmmer med veldokumenteret effekt.

Prospektive randomiserede undersøgelser viser, at ca. en tredjedel af IBD-patienter ikke har effekt af anti-TNF-behandling (primære ikke-respondere), ca. en tredjedel har indledningsvis god effekt, men mister den siden (sekundære ikke-respondere), og ca. en tredjedel har vedvarende effekt (blivende respondere); tilsvarende gælder for patienter med reumatoid arthritis [1, 2]. Et betragteligt antal patienter har således enten ikke gavn af behandlingen eller taber med tiden behandlingseffekten. Dette skal ses i lyset af, at udgifterne til behandling med TNF-hæmmere er betragtelige: 100.000-350.000 kr. pr. person pr. år afhængig af præparat og dosis. Da behandlingen ofte gives gennem mange år, er der tale om store sam-

fundsmæssige udgifter. I 2007 blev der i Danmark anvendt 637 millioner kroner til behandling med TNF-hæmmere, hvoraf skønsmæssigt en tredjedel var til behandling af IBD [3].

Der er aktuelt ingen valideret algoritme eller etableret national eller international standard for håndtering af patienter med IBD eller andre kronisk immuninflammatoriske sygdomme, som mister effekten af behandling med TNF-hæmmer. Klinikerne kan vælge at se tiden an, øge doseringen eller frekvensen af behandlingen, skifte til en anden TNF-hæmmer eller skifte til et andet behandlingsprincip. Denne fremgangsmåde er ikke optimal og har store samfundsøkonomiske omkostninger. Der er derfor et påtrængende behov for at forbedre strategien for håndteringen af denne patientgruppe samt belyse de forhold, som fører til manglende effekt af behandlingen.

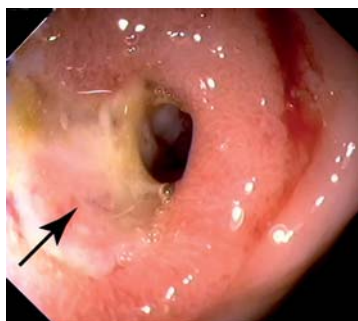
SVIGT AF BIOLOGISK BEHANDLING

Lægemidler virker ofte forskelligt på forskellige individer. Begrebet *individualized* eller *personalized medicine* er opstået i erkendelse af dette og af vigtigheden af at give den rette medicin til den rette patient i den rette dosering og på det rette tidspunkt. Disse forhold er ikke mindst væsentlige, når det drejer sig om optimal anvendelse af de biologiske lægemidler – herunder TNF-hæmmere – til behandling af IBD og andre kroniske immuninflammatoriske sygdomme. *Individualized medicine* blev oprindeligt lanceret som et forsøg på at optimere og individualisere behandling af enkeltindivider vha. farmakogenetiske metoder, men efter introduktionen af proteinbaserede biologiske lægemidler anvendes begrebet mere bredt [4, 5]. Der er flere årsager hertil. Det har således vist sig, at proteinbaserede lægemidler er potentielt immunogene og kan inducere T- og B-lymfocytreaktivitet, herunder dannelse af neutraliserende antistoffer, se **Figur 2A** og [6]. Endvidere udviser biologiske lægemidler i modsætning til konventionelle lavmolekylære lægemidler markante interindividuelle variationer i både biotilgængelighed og farmakokinetik, hvilket ligeledes menes at forklare manglende behandlingseffekt hos visse patienter, se **Figur 2B** og [6].

Ved konventionelle vaccinationer injiceres proteiner parenteralt og gentagne gange. Det samme sker

FIGUR 1

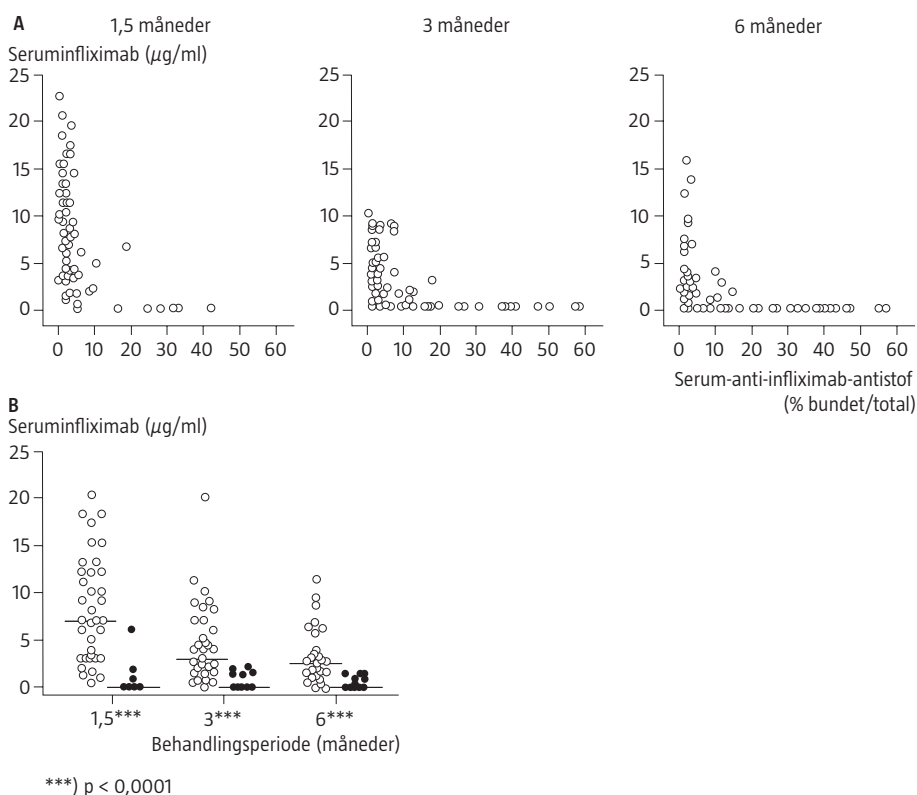
Aktiv Crohns sygdom med inflammation af terminale ileum med ulceration (pil) og stenose. Fotoet er venligst stillet til rådighed af overlæge Jacob W. Hendel, Gastroenheden, Medicinsk Sektion, Herlev Hospital.





FIGUR 2

Interindividuelle variationer i farmakokinetik og antistofudvikling hos patienter, der er behandlet med infliximab, en specifik hæmmer af tumornekrosefaktor-alfa. **A.** I dette studie indgik 106 patienter med reumatoid arthritis. Blodprøvebestemmelser halvanden, tre og seks måneder efter behandlingsstart. Infliximabbestemmelse er udført med *fluid-phase radioimmunoassay*, som angiver koncentrationen af funktionelt tumornekrotiserende faktorbindende medikament i blodet. Bestemmelse af antistoffer mod infliximab er udført med *fluid-phase radioimmunoassay*. Modificeret efter figur publiceret i [6]. **B.** I dette studie indgik 43 patienter med reumatoid arthritis. Blodprøver og metoder som ovenfor. Åbne cirkler: Patienter uden antistoffer mod infliximab. Lukkede cirkler: Patienter med antistoffer mod infliximab. p-værdier er udregnet med Mann-Whitney-test. Modificeret efter figur publiceret i [5]. Bemærk: 1) den betydelige variation i farmakokinetik selv hos patienter uden antistoffer mod infliximab, 2) hvorledes enkelte individer har neutraliserende antistoffer mod infliximab allerede efter to infusioner, 3) hvordan flere og flere patienter får neutraliserende antistoffer mod infliximab med gentagne infusioner, og 4) hvorledes infliximab forsvinder fra blodet parallelt med antistofudviklingen.



med alle de i dag anvendte antistofkonstruktioner, der er rettet mod TNF-alfa. Induktion af antistoffer mod disse biologiske lægemidler er derfor ikke overraskende [7]. Det er heller ikke overraskende, at lokal administration af relativt højmolekylære proteiner giver variationer i biotilgængelighed og farmakokinetik, især når inducerede antistoffer fører til udfældning af immunkomplekser i subkutis, muskulatur, milt og blodbane [5]. Sundhedsmyndigheder og lægemiddelindustri fokuserer nu på disse forhold, da optimal behandling med biologiske lægemidler kræver indsigt i individuelle variationer i biotilgængelighed, farmakokinetik og immunogenicitet [4, 8].

METODER TIL MONITORERING AF BIOLOGISK BEHANDLING

At individuelle variationer i biotilgængelighed, farmakokinetik og immunogenicitet har været længe om at blive anerkendt som et problem ved brugen af terapeutiske antistoffer skyldes bl.a., at det er vanskeligt at udvikle metoder, som er tilstrækkeligt robuste og præcise til at kvantificere antistofbaserede farmaka i blodet endsige antistoffer rettet mod dem. Hidtil har sådanne metoder været baseret på *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)-teknik, hvor proteiner i

mindst en testfase er koblet i høj koncentration til en overflade, f.eks. en plastikbrønd i en ELISA-plade. Sådanne *solid-phase assays* er ikke repræsentative for, hvad der finder sted *in vivo*. Patienterne huser ikke medikamenter i aggregeret form på en plastoverflade. ELISA giver ofte anledning til falsk positive resultater, fordi immunoglobulineres Fc-dele under testforløbet klister til proteinaggregater (ikkespecifikke lavaffinitetsimmunoglobuliner), eller fordi antistoffer



FAKTABOKS 1

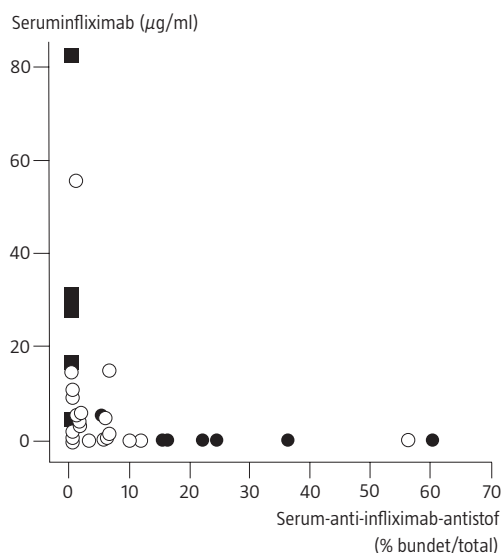
Tumornekrosefaktor (TNF)-alfa-hæmmere er effektive i behandlingen af kronisk inflammatorisk tarmsygdom (IBD), men en betragtelig del af patienterne oplever ingen effekt eller mister i forløbet behandlingseffekten.

Individuelle variationer i biotilgængelighed, farmakokinetik og immunogenicitet anerkendes nu som et centralt problem ved behandling med anti-TNF-alfa-antistoffer og kan måske forklare tab af behandlingseffekt.

Pålidelige målinger af blodets indhold af funktionel TNF-alfa-hæmmer samt antistoffer mod disse biofarmaka kan belyse interindividuelle forhold hos patienterne og muligvis medvirke til at optimere behandlingen af IBD.

 FIGUR 3

Farmakokinetik og antistofudvikling hos patienter med Crohns sygdom. Sammenhæng mellem effektiv infliximabkoncentration og antistoffer mod infliximab hos primære ikke-respondere, sekundære ikke-respondere og patienter med blivende respons med Crohns sygdom. Blodprøver og metoder som beskrevet i Figur 2A. Åbne cirkler: Patienter med blivende respons. Lukkede cirkler: Sekundære ikke-respondere. Lukkede kvadrater: Primære ikke-respondere. Modificeret efter figur publiceret i [10]. Bemærk: 1) at patienter med blivende respons har lav koncentration af antistoffer mod infliximab i modsætning til sekundære ikke-respondere, 2) at alle sekundære ikke-respondere har antistoffer mod infliximab, og at koncentrationen af funktionelt infliximab er lav/umålelig, 3) at effektiv infliximabkoncentration er højere hos patienter med blivende respons, og 4) at effektiv infliximabkoncentration er ekstremt høj hos flere primære ikke-respondere, og at der således ikke er klinisk effekt af behandlingen trods formentlig effektiv TNF-neutralisering i blodet.



krydsreagerer med reumafaktorer. ELISA kan også give falsk negative resultater, f.eks. fordi patientens antistoffer ikke kan »se« lægemidlet i en ELISA-brønd, fordi aggregering maskerer epitoper, som let genkendes in vivo. Konsekvensen er, at resultaterne kun i nogen grad afspejler de faktiske forhold [5]. Mange klinikere har derfor valgt at negligere betydningen af antistoffer mod TNF-hæmmere. Det samme gælder lægemiddelindustrien, som i forbindelse med allerede markedsførte TNF-hæmmere heller ikke har et umiddelbart økonomisk incitament til at undersøge dette forhold nærmere.

Nye metoder til bestemmelse af biologisk tilgængeligt anti-TNF-antistof samt antistoffer mod TNF-hæmmere, der er baseret på *fluid-phase assays*, f.eks. *radioimmunoassays* (RIA), ser ud til at afhjælpe en del af disse problemer [5, 9]. Dette er afgørende for den fremtidige kliniske anvendelse af biologiske lægemidler, da vigtige beslutninger om behandling hos

enkeltpatienter bør baseres på pålidelige testmetoder med høj sensitivitet og specificitet. For at optimere den biologiske behandling af IBD er der således behov for prospektive undersøgelser af anvendeligheden af målinger af biologisk tilgængeligt anti-TNF-antistof samt antistoffer mod TNF-hæmmere.

KLINISKE PERSPEKTIVER

VED MONITORERING AF BIOLOGISK BEHANDLING

Visse studier, der er baseret på *solid-phase-ELISA*-teknik, har vist, at anti-infliximab-antistof korrelerer med lavere seruminfliximabniveauer, øget risiko for infusionsreaktioner og kortere varighed af behandlingseffekt hos patienter med Crohns sygdom. I andre studier har man ikke kunnet påvise sådanne sammenhænge (se faktaboks 2). Data fra patienter med IBD og reumatoid arthritis tyder på, at monitorering af farmakokinetiske forhold kombineret med måling af antistoffer mod TNF-hæmmere vha. *fluid-phase radioimmunoassays* kan forudsige, hvilke patienter der vil udvikle behandlingssvigt og/eller bivirkninger, der er relateret til antistofudvikling (Figur 2, Figur 3) [6, 9, 10]. Der mangler imidlertid prospektive kliniske forsøg til at belyse denne sammenhæng samt afklaring af anvendeligheden af disse analyser i den fremadrettede patientbehandling, hvilket vi påtænker at udføre i den kommende tid. Nedenstående hypoteser anskueliggør perspektiverne ved optimering af behandlingsforløb, der er baseret på pålidelig viden om farmakologiske og immunologiske forhold hos patienten:

- Farmakokinetiske undersøgelser vil kunne belyse, om det er relevant at øge dosis/formindske doseringsintervallerne hos primære ikke-respondere. Kun hvis medikamentniveauet i blodet er lavt, vil man kunne forvente effekt af dosisøgning. Er der en sufficient koncentration af funktionelt anti-TNF-antistof i blodet på standardterapi (høj TNF-bindingskapacitet), er det tvivlsomt, om TNF-blokade overhovedet er effektiv, og der bør snarest tilbydes anden behandling for at mindske risikoen for irreversibel vævsbeskadigelse og for at undgå omkostninger til nyteløs terapi.
- Monitorering af antistoffer mod TNF-hæmmere vil kunne afgøre, om sekundære ikke-respondere kan have glæde af dosisøgning/forkortede doseringsintervaller, eller om man skal skifte behandling. Hos patienter med lavt niveau af funktionelt anti-TNF-antistof i blodet og ingen væsentlig antistofdannelse mod TNF-hæmmeren vil det således være rationelt at øge doseringen. Til gengæld vil patienter med lavt niveau af funktionelt anti-TNF-antistof og samtidig forekomst af anti-



FAKTABOKS 2

Forekomst af anti-infliximab-antistof er associeret med lavt serum-infliximab, kort varighed af behandlingseffekt samt infusionsreaktioner.

Forekomst af anti-infliximab-antistof øger risikoen for infusionsreaktioner. Forekomsten af anti-infliximab-antistof reduceres ved vedligeholdelsesbehandling med infliximab.

Forekomst af anti-infliximab-antistof er associeret med tab af effekt af infliximab samt infusionsreaktioner.

Forekomst af anti-infliximab-antistof er associeret med lavt serum-infliximab.

stoffer mod TNF-hæmmeren ikke have gavn af dosisøgning, og det er her rationelt at skifte til behandling med en anden TNF-hæmmer, imod hvilken patienten ikke har dannet antistoffer. Patienter kan således undgå måneders forgæves forsøg med øget medikamentindgift, og de økonomiske omkostninger til længere tids virkningsløs behandling kan undgås. Det samme gælder den undergruppe af sekundære ikke-responder, der ikke har udviklet antistoffer og trods en passende koncentration af funktionelt anti-TNF-antistof i blodet udvikler aktivitet i sygdommen. Disse patienter har formentlig mistet evnen til at respondere på denne klasse af lægemidler. Endelig vil optimal immunfarmakologisk monitoring kunne afhjælpe det etisk problematiske i at fortsætte en uvirksom behandling, som immuniserer patienten yderligere og hindrer anden relevant terapi.

- Blivende respondere med antistoffer mod TNF-hæmmeren har sandsynligvis ikke gavn af fortsat behandling. Både patienter og behandlere antager, at behandlingen har effekt, men patienterne er i remission uanset behandling eller ej. Da en betragtelig del af alle infliximab- og adalimumabbehandlede patienter udvikler antistoffer mod disse biofarmaka, kan der være antistofpositive også blandt blivende respondere [1, 11].
- Identifikation af antistofpositive patienter i remission kan måske føre til besparelser og rettidigt ophør af uvirksom anti-TNF-behandling.

KONKLUSIONER

Der er betydelige individuelle forskelle i biotilgængelighed, farmakokinetik og immunogenicitet hos patienter, der er i behandling med TNF-hæmmere.

En betragtelig del af patienter med IBD og andre kronisk immuninflammatoriske sygdomme udvikler neutraliserende antistoffer mod TNF-hæmmere.

Pålidelig måling af funktionel TNF-hæmmer samt antistoffer herimod kan øge muligheden for effektivt individbaseret terapi samt reducere behandlingsudgifterne.

Der er behov for yderligere forskning herunder prospektive randomiserede studier til at afklare den præcise kliniske anvendelse af sådanne målinger.

KORRESPONDANCE: Klaus Bendtzen, Institut for Inflammationsforskning, IIR7521, Rigshospitalet, DK-2100 København Ø. E-mail: kben@dbmail.dk

ANTAGET: 1. april 2009.

INTERESSEKONFLIKTER: Klaus Bendtzen har inden for de seneste tre år modtaget foredragshonorar fra Novo Nordisk, Wyeth, Roche, Phadia og Biomonitor a/s, og har aktier i sidstnævnte. Jørn Brynskov har deltaget i videnskabelige møder, som har været sponsoreret af Abbott og Schering-Plough. Ole Østergaard Thomsen har modtaget foredragshonorarer fra Schering-Plough og UCB.

LITTERATUR

1. European Medicines Agency. European public assessment report (EPAR) for Remicade. www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/Remicade/H-240-Pl-en.pdf (6. november 2008).
2. Clark M, Colombel JF, Feagan BC et al. American gastroenterological association consensus development conference on the use of biologics in the treatment of inflammatory bowel disease, June 21-23, 2006. *Gastroenterol* 2007; 133:312-39.
3. www.medstat.dk (6. november 2008).
4. European Medicines Agency. Guideline on the clinical investigation of the pharmacokinetics of therapeutic proteins. www.emea.europa.eu/pdfs/human/ewp/8924904enfin.pdf (24. januar 2007).
5. Bendtzen K. Immunogenicity of anti-TNF antibodies. I: van de Weert M, Møller EH, eds. *Biotechnology: Pharmaceutical Aspects Vol. VIII. Immunogenicity of biopharmaceuticals*. New York: Springer, 2008;189-203.
6. Bendtzen K, Geborek P, Svenson M et al. Individualized monitoring of drug bioavailability and immunogenicity in rheumatoid arthritis patients treated with the tumor necrosis factor alpha inhibitor Infliximab. *Arthritis Rheum* 2006;54: 3782-9.
7. Bendtzen K. Problemer ved klinisk brug af rekombinante proteiner. *Ugeskr Læger* 2003;165:4625.
8. Bendtzen K, Ainsworth MA, Steenholdt C et al. Individual medicine in inflammatory bowel disease: Monitoring bioavailability, pharmacokinetics and immunogenicity of anti-tumour necrosis factor-alpha antibodies. *Scand J Gastroenterol* 2009;44:774-81.
9. Svenson M, Geborek P, Saxne T et al. Monitoring patients treated with anti-TNF-alpha biopharmaceuticals – assessing serum infliximab and anti-infliximab antibodies. *Rheumatology* 2007;46:1828-34.
10. Ainsworth MA, Bendtzen K, Brynskov J. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluid-phase radioimmunoassays as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2008;103:944-8.
11. West RL, Zelinkova Z, Wolbink GJ et al. Immunogenicity negatively influences the outcome of adalimumab treatment in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;28:1122-6.