

NOI METODE TERAPEUTICE ÎN POLIARTRITA REUMATOIDĂ. TERAPIA BIOLOGICĂ SI TERAPIA GENETICĂ

Cristina Tîrziu, R. Tîrziu**, Daniela Bartoș****

REZUMAT

În tratamentul poliartritei reumatoide (PR) au fost făcute progrese importante impuse de ineficiența parțială a terapiei clasice și de caracterul evolutiv malign al bolii. Abordarea terapeutică actuală diferă de cea clasică atât prin introducerea unor metode terapeutice noi impuse de progresele în descifrarea patogeniei bolii cât și prin utilizarea diferită a metodelor terapeutice clasice.

Articolul de față își propune trecerea succintă în revistă a tratamentului farmacologic clasic cu axare în special pe noile metode de tratament biologic și genetic. Pentru a se înțelege mai bine principiile acestor tratamente, vom realiza o scurtă discuție privind patogenia PR.

Cuvinte cheie: poliartrita reumatoidă, tratamentul biologic și genetic

ABSTRACT

New therapeutical methods in Rheumatoid Arthritis. Biological and genic therapy

There have been performed important progresses in the treatment of Rheumatoid Arthritis (RA) required by partial ineffectiveness of classical therapeutical methods and by the agresive course of the disease. The modern treatment for RA is different from the classical one on one hand by using new types of therapy in the light of the latest pathogenic research progresses of RA and on the other hand by different use of classical therapeutical methods.

This revue will briefly describe classical treatment but it will be concerned on the new biologic and genetic treatment. For a better understanding of the treatment foundation, will first realise a summary disscution about RA pathogenesis.

Key words: Rheumatoid Arthritis, biological and genic treatment

Patogenia PR

În patogenia PR se pot descrie trei procese de bază care diferă din punct de vedere cronologic și al sediului de desfășurare al acestora.

I. Activarea antigen dependentă a limfocitelor T (Ly T) pare a fi primul pas în inițierea reacțiilor patogenice din PR. Deși natura antigenului inițial nu a fost încă elucidată, s-a demonstrat faptul că această activare nu este sistemică ci se desfășoară local la nivel articular. În plus, se pare că ar exista un exces al moleculelor costimulatoare activării limfocitelor T, ceea ce ar duce la autopertuarea stimulării acestora.

II. Procesul inflamator articular este după cum se știe centrat pe sinovială și implică parcurgerea succesivă a mai multor etape:

- a. Cea mai precoce modificare este neoproliferarea vasculară indusă de citokinele angiogenice secretate de către celulele mononucleare din sinovială (PG E1, PG E2, IL 8), proces inhibat de către gIFN (gama-interferon) și bTGF (b-transforming growth factor).
- b. Urmează apoi migrarea celulelor inflamatorii de la nivel vascular în spațiul perivascular al sinovialei și acumularea lor la acest nivel. Aceasta presupune secreția de către celulele endoteliale activate de aTNF (a tumor necrosis factor) a unor molecule de adeziune care favorizează "lipirea" leucocitelor de endoteliu și diapedeza acestora în sinovială.

- c. Rezultatul constă în acumularea în sinovială a Ly Th1 autoreactive și activarea "cascadei" citokinelor. Sub acțiunea îndelungată a acestora se produce o modificare a factorilor de transcripție, ceea ce are drept rezultat comutarea fenotipică a celulei sinoviale care capătă proprietăți invazive locale și uneori și caracter de fibroblast sau macrofag.

Cele mai importante citokine implicate în acest proces par a fi:

- aTNF: pare a fi principala citokină implicată în proliferarea sinovialei, are efect sinergic cu IL1 și, în plus, poate induce sinteza acesteia din urmă.
- IL1: deține alături de aTNF rolurile de bază în inițierea și progresia proceselor patogenice locale.
- IL2, IL5, gINF, factorul de stimulare a macrofagelor
- bTGF este considerată a fi citokina "reparatorie" prin inhibarea activării și proliferării Ly T și B și a sintezei de aTNF.

Într-o etapă ulterioară modificărilor de la nivelul sinovialei apar și modificări la nivelul lichidului sinovial constând în principal în acumularea locală de polimorfonucleare. Acestea conțin și eliberează la acest nivel o serie de factori solubili cu potențial litic (elastază, colagenază, mieloperoxidază, lizozim) și de chemoatracție pentru alte celule inflamatorii (IL1, PAF, LT).

III. Rolul limfocitelor B și al sistemului complementului în patogenia PR este secundar activării limfocitelor T. Limfocitele B intervin prin sinteza factorului reumatoid sub controlul unui subgrup de Ly Th1 activate se pare de către

* Cristina Tîrziu - Medic specialist medicină internă, Spitalul Clinic de Urgență, București

** R. Tîrziu - Medic specialist medicină internă, Spitalul Militar, Brașov

*** Daniela Bartoș - Medic primar medicină internă, Șef lucrări, Spitalul Clinic de Urgență, București

diverse molecule proteice din lichidul sinovial. Activarea sistemului complementului și formarea de complexe imune contribuie la perpetuarea și accentuarea procesului inflamator local.

Tratamentul farmacologic al poliartritei reumatoide

Arsenalul terapeutic în PR este destul de larg dar, din păcate, adesea cu eficacitate limitată. Se consideră că „arta” tratamentului în PR constă în alegerea medicamentului potrivit, în doza potrivită și la momentul potrivit și cântărirea asociațiilor medicamentoase optime.

Clasele medicamentoase utilizate în tratamentul PR se împart în:

- Medicamente antialgice (acetaminofen, tramadol, capsaicin, opioide)
- Antiinflamatorii nesteroidiene
- Corticosteroizi cu administrare orală, parenterală sau locală
- Medicamente “modificatoare ale bolii”: hidroxicloroquină, sulfasalazină, săruri de aur, methotrexat, D-penicilamină, leflunomid, azathioprină, ciclosporină.
- Terapia biologică

Așa cum am precizat, în acest articol vom prezenta terapiile nou introduse pentru PR, unele dintre ele intrate deja în uzul clinic în urma unor studii clinice controlate, altele aflate încă în stadiul experimental.

Tratamentul biologic al PR

Tratamentul biologic al PR este un atribut al ultimilor ani bazat pe tehnicile de recombinare genetică a ADN-lui și de hibridizare care permit obținerea de molecule proteice și anticorpi monoclonali în cantități mari necesare pentru un tratament susținut.

Terapia de modulare a dezechilibrului citokinic

Principiul acestui tip de tratament constă în deprimarea activității proinflamatorii a Ly Th1 sau în stimularea activității antiinflamatorii a Ly Th2.

I. Depresia activității citokinelor proinflamatorii

Așa cum am precizat anterior, citokinele considerate a avea rolurile de bază proinflamatorii sunt reprezentate de aTNF și de IL-1, ceea ce a condus în mod firesc la încercarea de antagonizare a efectelor acestora. Metodele terapeutice anti aTNF și anti IL-1 constau în utilizarea de:

- Antagoniști de receptori celulari. Aceștia sunt proteine biologice inactive care competiționează cu citokinele pentru legarea de receptori celulari ai acestora. Pentru a-și realiza efectul este necesar să se lege de peste 90% dintre receptori, ceea ce reprezintă un dezavantaj, necesitând doze mari de substanță activă. Acest tip de tratament are specificitate mare dar eficiență relativ redusă datorită acestui inconvenient.
- Antagoniștii solubili de receptori. Sunt receptori celulari de suprafață fragmentați dar care-și păstrează afinitatea specifică. Problema cu acest tip de tratament poate să apară din aceea că

asigurarea unui timp de circulație suficient de mare pentru realizarea acțiunii sale se poate însoți de creșterea timpului de circulație a citokinei legate și deci de prelungirea acțiunii acesteia.

- Anticorpii anticitokine. Avantajul utilizării lor este acela al unei specificități mari și a capacității de a se cupla atât cu citokinele libere cât și cu cele deja legate de receptori.

I.1. Terapia anti aTNF. Acest tip de terapie a intrat în practica clinică, utilizarea sa fiind aprobată de către FDA. Există la ora actuală mai multe căi de antagonizare a efectului aTNF:

• Utilizarea receptorilor solubili de aTNF (Etanercept).

Etanerceptul este o proteină de fuziune între porțiunea p 75 a receptorului pentru TNF (TNF-R) și porțiunea Fc a Ig G în scopul creșterii duratei de viață a celei dintâi.

Există studii multicentrice randomizate, dublu orb, care cuprind peste 1000 de pacienți cu PR la care s-a administrat etanercept. Acestea au dovedit efectul favorabil al etanerceptului asupra activității bolii cât și în prevenirea distrucțiilor articulare. Au fost înrolați pacienți cu boală activă în ciuda tratamentului clasic maximal, la unii dintre aceștia tratamentul cu etanercept efectuându-se concomitent cu tratamentul cu methotrexat, asociere care s-a dovedit a avea efecte mai bune decât tratamentul singular cu oricare dintre cele două. Eficiența pe termen lung (12 luni) etanercept versus methotrexat a fost similară dar efectul etanerceptului se instalează mai rapid.

Etanerceptul se administrează subcutanat de două ori pe săptămână în doze de 10 sau 25 mg, indicațiile lui actuale fiind PR moderată sau severă înainte de instituirea terapiei remisive tradiționale sau în formele încă active sub tratament maximal cu methotrexat.

Din punctul de vedere al toleranței, etanerceptul s-a dovedit a determina puține reacții adverse, cele mai frecvente fiind reacțiile locale la locul injectării. Dată fiind natura sa, administrarea de etanercept se poate însoți de infecții variate ca localizare și gravitate (s-au raportat infecții severe la 2,9% dintre pacienții tratați) astfel încât tratamentul este contraindicat în caz de infecții active. Aproximativ 11-15% dintre pacienți au dezvoltat anticorpi anti-nucleari sau anti-AND nativ dar nu a fost raportat nici un caz de LES. Au fost raportate 3 cazuri de sindroame limfoproliferative din 1200 de pacienți tratați. Precauție se recomandă în cazul administrării la pacienții cu afecțiuni demielinizante în antecedente (pot fi agravate) și la cei cu pancitopenie (au fost raportate cazuri de aplazie medulară).

• Utilizarea anticorpilor hibridi anti aTNF (Infliximab)

Infliximabul reprezintă anticorpi monoclonali hibridi murini-umani indicația sa aprobată fiind în terapia combinată cu methotrexat în formele de PR activă sub terapia singulară cu methotrexat. Peste 1000 de pacienți au fost incluși în 6 studii clinice cu infliximab (2 studii deschise și 4 studii placebo-controlate). Cel mai extins studiu (ATTRACT) de fază 3 a inclus 428 de pacienți cu PR activă în ciuda tratamentului cu methotrexat și în care s-a recurs la terapie combinată infliximab și methotrexat. S-a administrat infliximab I.V. 3-10 mg/kgc o administrare la 4-8 săptămâni și s-a obținut scăderea activității bolii și încetinirea progresiei modificărilor radiologice, pentru aceasta fiind însă necesar tratament de lungă durată (26-30 de săptămâni).

Reacțiile adverse sunt similare cu cele apărute în cazul utilizării de etanercept dar ceva mai frecvente (în special

reacții la locul injectării, cefalee, rash, diaree). Probabilitatea de dezvoltare a anticorpilor anti-AND nativ este mai mare și au fost raportate 6 cazuri de LES indus medicamentos. Datorită componentei murine în timpul tratamentului se dezvoltă anticorpi anti-infliximab, procentul de apariție fiind invers proporțional cu doza folosită. S-a constatat că apariția acestora este diminuată în cazul tratamentului concomitent cu metotrexat și în general nu se însoțește de scăderea efectului clinic.

• **Utilizarea anticorpilor umani anti aTNF (D2E7)**

Acest tip de terapie nu a fost aprobată pentru utilizarea clinică, până în prezent existând numai studii de fază a 2-a. Acestea au demonstrat că administrarea săptămânală de D2E7 a dus la ameliorări clinice semnificative comparativ cu placebo și au impus trecerea la studiile de fază 3 cu acest tip de terapie.

I.2. Terapia anti IL-1.

• **Utilizarea antagoniștilor de receptori de IL-1 (IL-1Ra). Acest tip de terapie a intrat în uzul clinic, utilizarea sa fiind aprobată de către FDA.**

IL-1Ra este o proteină de sinteză care se cuplează specific cu receptorii tisulari ai IL-1 blocând astfel efectul acesteia. S-au desfășurat studii multicentrice placebo controlate utilizând administrarea subcutanată de IL-1Ra în formele de PR activă severă și care au raportat răspuns clinic favorabil asupra activității bolii (conform criteriilor ARC 20) dar cu răspuns modest în privința remiterii modificărilor radiologice.

Tratamentul a fost bine tolerat, cele mai frecvente reacții adverse raportate fiind cele la locul injectării. Într-un procent redus au fost raportate infecții sistemice severe.

• **Utilizarea receptorilor solubili de IL-1.**

A fost dezvoltată o formă solubilă recombinată a receptorului I al IL-1 capabilă de a se cupla cu IL-1 circulantă, dar utilizarea sa la subiecți umani se limitează la 23 de pacienți incluși într-un studiu randomizat dublu orb, ceea ce face necesare studii mai extinse pentru stabilirea unor concluzii pertinente în acest sens.

I.3. Terapia anti IL-6

Acest tip de terapie este încă în stadiul studiilor de fază I. S-a tentat utilizarea de anticorpi anti IL-6, dar factorul limitant a apărut din formarea în circulație a complexelor IL-6/atc anti IL-6 ceea ce a condus la creșterea timpului de circulație a IL-6 și implicit la prelungirea acțiunii sale.

II. Stimularea activității citokinelor antiinflamatorii

După cum am menționat la patogenia PR, IL-10 și IL-4 sunt capabile de a supresa in vivo activitatea secretorie a Ly Th1 și, în plus, IL-10 stimulează sinteza de IL-1Ra și scade expresia la suprafața celulei a p 75 a TNF-R.

Atât utilizarea de IL-4 cât și de IL-10 se află în stadiul experimental. A fost încheiat un studiu clinic de fază 1 ce a inclus 72 de pacienți cărora li s-a administrat subcutanat IL-10 cu rezultate favorabile asupra evoluției bolii, dar sunt necesare date suplimentare înainte ca această terapie să fie recomandată pentru utilizarea clinică curentă.

Terapia genetică în PR

Transferul genetic în scop curativ a fost utilizat pentru prima dată în tratamentul unor boli genetice ce au un singur defect genetic bine individualizat. În cele mai multe boli

reumatice influențele sunt poligenice, iar genele sunt utilizate în scop terapeutic funcționând ca sisteme biologice de transport al proteinelor biologice active implicate în patogenia acelei boli.

Tratamentul genetic în PR trebuie să răspundă la următoarele întrebări:

1. Ce gene trebuie folosite ?
2. Unde să fie transferate aceste gene ?
3. Cum să se realizeze transferul lor ?
4. Cum să se obțină exprimarea lor timp îndelungat?
5. Care este gradul de siguranță al terapiei genetice?

1) Ce gene trebuie folosite ?

Genele posibil utile în tratamentul PR sunt acelea ai căror produși sunt capabili să deprime activitatea citokinelor proinflamatorii sau să reducă autoreactivitatea Ly T.

1.a. Deprimarea autoreactivității Ly T se poate realiza pe două căi:

- distrugerea Ly T prin utilizarea tehnicii de vaccinare AND (în acest sens ar fi necesară cunoașterea secvențelor de AND care codifică receptorii limfocitelor T autoreactive) sau eliminarea selectivă a Ly T autoreactive. Această ultimă operație se poate realiza prin introducerea în celulele prezentatoare de antigen a genelor Fas L inducându-se astfel apoptoza Ly T autoreactive. Experimental s-a constatat că introducerea genelor Fas L în sinoviala reumatoidă de iepure determină "sinovectomie genetică" dar studii pe subiecți umani nu s-au efectuat încă.
- Modularea proprietăților limfocitelor T prin interferența cu moleculele costimulatoare. Avantajul acestei tehnici este acela de a nu fi necesară identificarea autoantigenului ce determină activarea Ly T și care este încă neprecizat în PR.

1.b. Terapia genetică adresată citokinelor are drept obiective restabilirea echilibrului dintre citokinele proinflamatorii și cele antiinflamatorii. În scop antiinflamator se transferă gene ce codifică sinteza de IL-10, IL-4, IL-1Ra, sIL-1R și sTNFR.

2) Unde să se realizeze transferul genetic?

În termeni generali vorbind, există două alternative de realizare a transferului genetic: fie sistemic, fie local la locul de desfășurare a procesului patogenic. În PR se preferă transferul local care realizează un efect terapeutic maximal cu reducerea riscului reacțiilor colaterale nedorite. Sunt astfel ținute fie sinoviala reumatoidă, fie nodulii limfatici, aceștia din urmă datorită potențialului limfocitelor de a se deplasa la locul procesului patogenic.

3) Cum să se realizeze transferul genetic?

Studiile inițiale de tratament genetic în PR au constatat din transfer *ex vivo*. Acest procedeu presupune îndepărtarea chirurgicală a sinovialei reumatoidă, izolarea și cultivarea fibroblaștilor care apoi sunt infectați cu un virus ce a fost modificat pentru a codifica gena de interes, fibroblaștii fiind apoi reintroduși în articulație prin injectare locală.

O a doua modalitate de transfer genetic este transferul direct, *in vivo* ceea ce presupune injectarea intraarticulară directă a "cărăușului genetic". Pentru ca această metodă să fie eficientă este necesară asigurarea unei rate mari de multiplicare atât a moleculelor purtătoare cât și a sinovocitelor, ceea ce crește costul și complexitatea metodei. Avantajul ar consta în reducerea riscului infecțiilor exogene

și în simplitatea metodei raportată la pacient.

Un element cheie al transferului genetic este găsirea "cărăușului" optim al informației genetice (vector). Se utilizează în prezent vectori de natură virală și non-virală, fiecare tip având avantaje și dezavantaje și fiind potrivit pentru un anumit mod de realizare a transferului genetic.

Vectorii virali prelucrați corespunzător experimentați până în prezent în PR sunt adenovirusurile, retrovirusurile (MMLV, Moloney murine leukemia virus), lentivirusurile și virusul herpes simplex, deosebirea biologică esențială dintre aceștia fiind caracterul lor integrativ sau non-integrativ.

Alături de vectorii virali au fost cercetați și vectori non-virali: AND nativ, liposomi, complexe AND-ligand. Aceștia au avantajul de a se administra în condiții de siguranță crescută ce derivă din faptul că nu presupun introducerea în organism a unui agent viral și nu au caracter imunogen local. În schimb, expresia genetică este de mai scurtă durată și mai redusă cantitativ datorită numărului mai redus de celule transfectate.

Ca o concluzie a studiilor efectuate până în prezent (modele experimentale pe iepure și studii de fază 1 pe subiecți umani), se pare că cel mai eficient vector pentru transferul *ex vivo* este MMLV care asigură cea mai prelungită durată a expresiei genetice intraarticular. Pentru transferul local *in vivo* se utilizează adenovirusuri, lentivirusuri și liposomi. Virusul herpes simplex este citotoxic local și expresia genetică indusă de acesta se pierde în câteva zile, ceea ce face utilizarea sa discutabilă.

4) Persistența expresiei genetice

Dat fiind caracterul de boală cronică al PR, apare evidentă necesitatea realizării unei exprimări genetice îndelungate sau a administrărilor repetate. Aceasta ultimă variantă este necesară în special în cazul utilizării vectorilor non-virali care realizează o expresie genetică de scurtă durată. Deoarece vectorii virali au activitate imunogenă locală, administrarea lor în aceeași articulație este astfel limitată ca frecvență.

Pierderea capacității de expresie genetică s-ar putea datora morții celulelor transfectate sau distrucției promotorului genetic. Până în prezent rezolvarea acestor probleme nu s-a obținut, deși există eforturi îndreptate spre sinteza unor promotori virali inductibili.

5) Siguranța terapiei genetice

În mod evident, cele mai mari riscuri sunt cele implicate de utilizarea vectorilor virali datorită introducerii

concomitente în organism a genelor virale neprelucrate. Până în prezent nu au fost raportate reacții adverse pe termen scurt, dar este necesară trecerea probei timpului înainte de a se putea extrage o concluzie pertinentă. Utilizarea vectorilor non-virali este scutită de acest inconvenient dar eficiența lor este mai redusă decât cea a vectorilor virali.

În concluzie putem spune că terapia genetică actuală se constituie ca o prelungire a terapiei biologice a PR bazată pe identificarea genelor codificatoare a proteinelor demonstrate utile în tratamentul biologic al PR. Legat de utilizarea clinică a tratamentului genetic rămân de soluționat o serie de probleme dintre care cea mai dificilă pare a fi găsirea unei modalități de obținere a expresiei genetice îndelungate.

BIBLIOGRAFIE

1. **Bresnihan B**, Treatment of rheumatoid arthritis with interleukin 1 receptor antagonist, in Ann. Rheum.Dis. 1999; 58:(suppl I), 196-198
2. **Evans C.H, Ghivizzani S.C, Kang R et al.**, Gene therapy for rheumatic diseases, in Arthritis & Rheumatism vol.42 no1, 1999, 1-16
3. **Evans C.H, Whalen J.D, Ghivizzani S.C, Robbins P.D**, Gene therapy in autoimmune diseases, in Ann. Rheum.Dis. 1998,57: 125-127
4. **Firestein G.S.**, Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis in Textbook of rheumatology, 5th. edition, Kelly W N, Philadelphia 1997
5. **Garrison Leslie, McDonnell N**, Etanercept: therapeutic use in patients with rheumatoid arthritis, in Ann. Rheum.Dis. 1999; 58:(suppl I), 165-169
6. **Ghivizzani S.C, Oligino T.J, Glorioso J.C et al.**, Direct gene delivery strategies for the treatment of rheumatoid arthritis, in DDT vol 6., no.5, 2001, 259-267.
7. **Harriman G, Harper L., Schiabile T**, Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNF α treatment, in Ann. Rheum.Dis. 1999; 58:(suppl I), 161-164
8. **Harris Jr. E.D.**, Treatment of Rheumatoid Arthritis in Textbook of rheumatology, 5th. edition, Kelly W N, Philadelphia 1997, pg. 912-921
9. **St Clair W**, Interleukin 10 treatment for rheumatoid arthritis, in Ann. Rheum.Dis. 1999; 58:(suppl I), 199-1102