

LAVORO ORIGINALE

La presenza del fattore reumatoide, la disabilità ed il numero di precedenti anti-TNF α falliti predicono la risposta clinica a rituximab nell'artrite reumatoide*

Rheumatoid factor positivity rather than anti-CCP positivity, a lower disability and a lower number of anti-TNF α agents failed are associated with response to rituximab in rheumatoid arthritis

L. Quartuccio¹, S. Salvin¹, M. Saracco², S. Lombardi¹, M. Fabris¹, E. Mansutti¹, M. Maset¹, S. Pellerito², S. De Vita¹

¹Clinica di Reumatologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria "S. Maria della Misericordia", Università di Udine, Udine;

²U.O.A. di Reumatologia, Ospedale Mauriziano di Torino, Torino

SUMMARY

Objective: Predictors of response to biologics in rheumatoid arthritis (RA) is an important issue in the current era. Rituximab (RTX) has been demonstrated effective and safe in active RA, resistant to traditional or biologic DMARDs. **Methods:** Fifty-seven patients with active longstanding RA were treated with RTX after traditional DMARD or anti-TNF alpha therapy failure.

Results: Number of anti-TNF treatment previously failed ($p=0.005$), HAQ ($p=0.013$), rheumatoid factor (RF) ($p=0.0002$) and anti-CCP ($p=0.006$) were associated with an ACR response ≥ 50 at the end of 6th month by univariate analysis. Multivariate analysis confirmed that the number of anti-TNF previously failed, baseline HAQ and RF, but not anti-CCP were associated with an ACR response ≥ 50 . EULAR moderate/good response was associated with ESR value ($p=0.036$), HAQ ($p=0.032$), and RF ($p=0.01$) by univariate analysis, while only RF positivity was associated with EULAR moderate/good response by multivariate analysis.

Conclusions: RF positivity rather than anti-CCP positivity is a predictor of response to RTX, suggesting that RF-positive patients with low disability may obtain a clinical response when treated to RTX after the first anti-TNF agent failure or after traditional DMARD therapies. Larger studies are required to confirm these results.

Reumatismo, 2009; 61(3):182-186

INTRODUZIONE

Sempre più numerosi sono i farmaci biologici disponibili per il trattamento dell'artrite reumatoide (AR) ed altrettanti sono i meccanismi patogenetici della malattia che ne vengono colpiti: in

questo nuovo panorama la precoce identificazione di fattori predittivi di risposta clinica potrebbe guidare il Reumatologo nella scelta della terapia più efficace nel singolo paziente.

Alcuni Autori infatti evidenziano come la più bassa disabilità (espressa da un ridotto HAQ) possa essere un fattore predittivo di buona risposta clinica alla terapia con anti-TNF α (1), e come la positività per anticorpi anti-peptidi ciclici citrullinati (anti-CCP) e la presenza del fattore reumatoide (FR) si associno ad una malattia più aggressiva (2). Il rituximab (RTX), anticorpo monoclonale anti-CD20 in grado di colpire il braccio B linfocitario della sinovite reumatoide, è una terapia efficace e sicura nell'AR resistente ai DMARDs o agli anti-TNF α

*Lavoro premiato al XLV Congresso SIR, Venezia 2008.

Indirizzo per la corrispondenza:

Prof. Salvatore De Vita
Clinica di Reumatologia,
Azienda Ospedaliero-Universitaria "S. Maria della Misericordia"
Università di Udine
Piazzale S. Maria della Misericordia, 1 - 33100 Udine
E-mail: devita.salvatore@aoud.sanita.fvg.it

(3, 4); la presenza o l'assenza del FR e/o degli anti-CCP non sembrano influenzarne la risposta clinica, sebbene con meno buone risposte nei pazienti sieronegativi. Non sono tuttavia al momento disponibili risultati definitivi circa la positività al FR e agli anti-CCP analizzate separatamente e risposta clinica a RTX. Recentemente Finckh et al. hanno pubblicato i risultati di uno studio osservazionale in cui, dopo il fallimento di un primo farmaco anti-TNF α , il trattamento con RTX appare più efficace dello switching ad un secondo anti-TNF α . L'obiettivo del presente lavoro mira a valutare l'esistenza di fattori predittivi di risposta clinica maggiore ($ACR \geq 50$, in accordo con criteri di risposta clinica dell'American College of Rheumatology e risposta EULAR moderata/buona, in base al DAS28) in un gruppo di 57 pazienti affetti da AR di lunga durata non responsivi a trattamento con anti-TNF α o DMARDs afferenti alla Clinica Reumatologica dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Udine ed all'Unità Operativa di Reumatologia dell'Ospedale Mauriziano di Torino. In particolare, è stato analizzato separatamente il ruolo predittivo della positività al FR e agli anti-CCP.

PAZIENTI E METODI

Cinquantasette pazienti affetti da AR (di cui 48 donne, 9 uomini, media $58,0 \pm 11,1$ anni, mediana di durata di malattia pari a 16,5 anni) sono stati sottoposti a terapia con RTX secondo schema 1 gr x 2 (52/57) o 375 mg/m² x 4 (5/57) (7). Nella tabella I sono riportate le caratteristiche cliniche basali dei soggetti studiati. Venti pazienti sono stati candidati a RTX per mancata risposta a DMARDs in monoterapia o in combinazione; i restanti 37 sono risultati non responsivi o intolleranti ad almeno un anti-TNF α , oppure l'anti-TNF α era controindicato. Il methotrexate è stato impiegato in associazione a RTX (7,5-20 mg/settimana) in 43/57 soggetti mentre leflunomide, ciclosporina A ed idrossicicloschina sono stati utilizzati in 9/57 casi. Nove soggetti sono stati sottoposti a RTX in monoterapia. In condizioni basali è stato misurato il titolo sierico di FR (positivo se >20 UI/L) e di anti-CCP (positivo se >5 EU). I pazienti del nostro studio sono stati suddivisi in due gruppi sulla base della risposta clinica ottenuta: da un lato pazienti con risposta clinica maggiore definita da una risposta $ACR \geq 50$ e dall'altro pazienti con risposta parziale o assente definita da una risposta $ACR \leq 20$ (entrambe valutate come massima risposta clinica ottenuta en-

tro il mese +6 di follow up dopo il primo ciclo di trattamento).

Sono stati utilizzati nell'analisi univariata il test del χ^2 o il test di Fisher per le variabili categoriali, il t test o il test di Mann-Whitney per quelle quantitative. Per definire quali variabili predicono una risposta $ACR \geq 50$ è stata condotta un'analisi multivariata con regressione logistica stepwise. Età, sesso, durata di malattia, numero di articolazioni dolenti e tumefatte, VES (mm/h), PCR (mg/L), HAQ numero di precedenti anti-TNF α falliti, presenza/assenza di fattore reumatoide o anti-CCP sono state scelte come covariate. I dati sono stati analizzati con software SPSS versione 15.1. I risultati sono stati considerati statisticamente significativi con $P \leq 0,05$.

RISULTATI

Una risposta clinica $ACR \geq 50$ si è osservata in 34/57 pazienti (59,6%), mentre una risposta EULAR moderata/buona in 41/57 pazienti (71,9%). Il FR era presente in 43/57 pazienti (75,4%), mentre gli anti-CCP in 42/57 pazienti (73,7%). Trentotto pazienti presentavano doppia positività (FR e anti-CCP), 10 pazienti erano negativi per entrambi i subset anticorpali, 5 erano FR-positivi/anti-CCP-negativi mentre 4 erano FR-negativi/anti-CCP-positivi (Tab. I). Nel presente lavoro risulta che le variabili correlate ad una risposta $ACR \geq 50$ sono la disabilità, valutata tramite HAQ ($p=0,013$), il numero di precedenti farmaci anti-TNF α falliti ($p=0,005$), la positività per FR ($p=0,0002$) e per anti-CCP ($p=0,006$).

Nel modello di regressione logistica multivariata le variabili selezionate che risultano associate ad una risposta clinica $ACR \geq 50$ sono la presenza del FR ($p=0,002$, OR=24,376 CI95% [3,290; 180,602]), il numero di precedenti anti-TNF α falliti prima del trattamento con RTX ($p=0,021$, OR=0,394 CI95% [0,194; 0,875]) e la disabilità espressa tramite HAQ ($p=0,028$, OR=0,238 CI95% [0,067; 0,854]). L'accuratezza di questo modello è pari a 84,2%, con sensibilità del 94,1% e specificità del 69,6%. In tabella II è riportata la risposta ACR nei diversi sottogruppi di pazienti in base alla presenza/assenza del FR e degli anti-CCP.

La risposta moderata/buona EULAR è risultata associata alla presenza del FR ($p=0,01$) e associata inversamente alla VES ($p=0,036$) e all'HAQ ($p=0,032$) all'analisi univariata, mentre nell'analisi multivariata solo il FR si associa ad un risposta

Tabella I - Caratteristiche dei pazienti.

	Pazienti (N=57)
Genere (F/M)	48/9
Età media±SD; mediana (range)	59,0±11,3; 60,0 (34-83)
Durata di malattia media±DS; mediana (range)	16,8±12,6; 15,0 (1-51)
DAS28 basale media±DS; mediana (range)	6,3±1,0; 6,4 (3,5-8,4)
N. articolazioni tumefatte (0-66) media±DS; mediana (range)	12,2±7,5; 11,0 (1-36)
N. articolazioni dolenti (0-66) media±DS; mediana (range)	17,1±11,9; 15,0 (0-66)
HAQ (0-3) media±DS; mediana (range)	1,7±0,7; 1,7 (0,5-3)
VES (mm/h) media±DS; mediana (range)	51,7±29,5; 43,0 (10-128)
PCR (mg/L)	29,2±26,7; 23,8 (0-144)
N. precedenti DMARD falliti media±DS; mediana (range)	3,7±1,7; 4,0 (1-9)
Precedenti farmaci anti-TNFa	Adalimumab N=20 Etanercept N=23 Infliximab N=21
N. precedenti anti falliti media±DS; mediana (range)	1,1±1,0; 1,0 (0-3)
Pazienti FR-positivi	43/57 (75,4%)
Pazienti Anti-CCP positivi	42/57 (73,7%)
Pazienti FR-positivi/anti-CCP-positivi	38/57 (66,7%)
Pazienti FR-negativi/anti-CCP-negativi	10/57 (17,5%)
Pazienti FRi/anti-CCP-negativi	5/57 (8,8%)
Pazienti FR-negativi/anti-CCP-positivi	4/57 (7,0%)

Legenda: DS, deviazione standard, HAQ, health assessment questionnaire, FR, fattore reumatoide.

Tabella II - Distribuzione della risposta ACR nei diversi sottogruppi di pazienti.

				Risposta ACR				
				Assente	20	50	70	90
				numero pz	numero pz	numero pz	numero pz	numero pz
FR	negativo	anti-CCP	negativo	4	5	0	1	0
			positivo	2	1	1	0	0
	positivo	anti-CCP	negativo	0	2	3	0	0
			positivo	1	8	23	5	1

Legenda: FR, fattore reumatoide.

EULAR moderata/buona ($p=0,006$; $OR=8,382$ $CI_{95\%}$ [1,865; 37,663]).

Non sono emerse differenze significative al basale tra soggetti FR-positivi e FR-negativi e tra anti-CCP-positivi and anti-CCP-negativi per durata ed attività di malattia. Non vi sono inoltre differenze significative tra coloro che sono stati sottoposti a RTX quale primo farmaco biologico o dopo aver fallito almeno un anti-TNF α per quanto riguarda durata ed attività di malattia.

DISCUSSIONE

L'individuazione di markers biologici (molecolari, cellulari o genetici) o di parametri clinici in grado

di predire una buona risposta ai biologici nell'AR rappresenta ad oggi un ambito di notevole interesse medico-scientifico ed in rapido sviluppo (8-10). Recentemente sono state discusse le implicazioni farmaco-economiche riguardo al precoce impiego di RTX dopo mancata risposta ai DMARDs o ad almeno un anti-TNF α (11).

I nostri risultati confermano la validità della terapia con RTX in corso di AR attiva e di lunga durata, permettendo di ottenere un buon controllo di malattia in oltre la metà dei pazienti trattati. Nel nostro gruppo di pazienti trattato con RTX, emerge che la positività per FR, la bassa disabilità al basale ed una bassa esposizione a precedenti terapie con anti-TNF α sono fattori predittivi di buona risposta clinica, rilevando come una più precoce de-

plezione B cellulare, in particolare nei soggetti FR-positivi, possa offrire maggiori risultati in corso di AR di lunga durata.

Questi risultati sono di interesse in relazione all'esistenza di diversi subsets clinici e biologici dell'AR ed all'ampio spettro di farmaci biologici attualmente disponibili: la razionalizzazione della scelta terapeutica, personalizzata per ciascun paziente, offre importanti vantaggi clinici (più rapida ed adeguata risposta) e farmacoeconomici (minori spese sanitarie) rispetto alla selezione casuale del farmaco da utilizzare.

Il nostro lavoro mette in luce il diverso effetto biologico e clinico di RTX in relazione a differenti sottogruppi anticorpali (ovvero "sierotipi") presenti in corso di AR.

Sempre maggiori evidenze scientifiche sottolineano il ruolo della popolazione B linfocitaria nella patogenesi dell'AR non solo nella sintesi di autoanticorpi ma anche nella funzione di *cellule presentanti l'antigene* nei confronti dei linfociti T.

In due recenti studi si rileva come la ripopolazione B linfocitaria dopo RTX sia caratterizzata dalla presenza prevalente di linfociti B naïve (14, 15) mentre i linfociti B di memoria si presentano in percentuale maggiore in quei pazienti che ricadono clinicamente alla ricostituzione del pool B linfocitario (15).

Infine un diverso riarrangiamento di geni che codificano per le catene pesanti delle immunoglobuline ed un pattern di rigenerazione B linfocitaria policlonale sono stati evidenziati in pazienti affetti da AR dopo terapia con RTX (16), a sottolinearne l'effetto qualitativo e non solo quantitativo su differenti cloni B linfocitari. RTX potrebbe essere più rilevante per un effetto biologico su linfociti B FR-produttori (17) per conseguente riduzione del titolo anticorpale dopo trattamento (3, 4). Dati preliminari in linea con queste osservazioni sono disponi-

bili in corso di sindrome crioglobulinemica (18). RTX tuttavia è efficace anche in pazienti affetti da AR FR-negativi come comprovato da casistiche più estese (3, 4) a fronte di iniziali segnalazioni di mancata risposta in questo sottogruppo di pazienti (7, 19).

Dal presente lavoro emerge infine che una risposta clinica migliore sia ottenuta nei soggetti FR-positivi rispetto agli anti-CCP positivi: un ruolo patogenetico privilegiato potrebbe perciò essere svolto da cloni B linfocitari FR-produttori rispetto agli anti-CCP-produttori nella complessa biologia dell'AR.

I cloni FR-positivi possono infatti riconoscere differenti immunocomplessi e pertanto, una volta attivati, presentare diversi antigeni o autoantigeni ai linfociti T. RTX, depletando cloni B linfocitari FR-produttori e quindi patogenetici, interviene su di un passaggio chiave nella genesi della flogosi reumatoide.

Non esistono invece chiare evidenze di un ruolo patogenetico degli anti-CCP.

In conclusione, la bassa disabilità in condizioni basali, il numero di precedenti terapie fallite con gli anti-TNF α e la presenza del FR predicono la risposta clinica a RTX in corso di AR.

In particolare i pazienti FR-positivi con minore disabilità basale potrebbero ottenere maggiori vantaggi nell'utilizzo di RTX dopo un primo anti-TNF α fallito o dopo il fallimento dei DMARDs. Queste strategie terapeutiche potrebbero permettere una sostanziale riduzione di costi sanitari e sociali (11).

Differenti popolazioni B-linfocitarie in grado di produrre autoanticorpi possono intervenire in diverse fasi della patogenesi dell'AR. Sono in corso analisi di più numerosi dati clinici, istopatologici e farmacoeconomici per incrementare la potenza statistica del presente modello.

RIASSUNTO

L'identificazione di fattori predittivi di risposta clinica ai biologici nei pazienti con artrite reumatoide (AR) è uno dei più importanti obiettivi della ricerca attuale. Abbiamo valutato 57 pazienti affetti da AR e sottoposti a terapia con rituximab (RTX). Le variabili associate ad una risposta clinica ACR ≥ 50 sono risultate la presenza del fattore reumatoide (FR), il numero di precedenti anti-TNF falliti prima del RTX e la disabilità (HAQ). Un livello più basso di disabilità e un minor numero di anti-TNF falliti in precedenza predicono la risposta clinica al RTX. Inoltre, la presenza del FR influenza la risposta clinica al RTX, suggerendo il possibile ruolo biologico diverso delle diverse sottopopolazioni B-cellulari nella patogenesi dell'AR.

Parole chiave - Artrite reumatoide, rituximab, linfocito B, fattore reumatoide, anti-TNF.

Key words - Rheumatoid arthritis, rituximab, B-cell, rheumatoid factor, anti-TNF.

BIBLIOGRAFIA

1. Kristensen LE, Kapetanovic MC, Gulfe A, Söderlin M, Saxne T, Geborek P. Predictors of response to anti-TNF therapy according to ACR and EULAR criteria in patients with established RA: results from the South Swedish Arthritis Treatment Group Register. *Rheumatology (Oxford)* 2008; 47: 495-9.
2. Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-65.
3. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, Dougados M, Furie RA, Genovese MC, et al. REFLEX Trial Group. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twentyfour weeks. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2793-806.
4. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A, Schechtman J, Szczepanski L, Kavanaugh A, et al. DANCER Study Group. The efficacy and safety of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment: results of a phase IIIB randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1390-400.
5. Tak PP, Cohen SB, Emery P, Saadeh CK, De Vita S, Donohue JP, et al. Clinical response following the first treatment course with rituximab: effect of baseline autoantibody status (RF, anti-CCP). *Ann Rheum Dis* 2007; 66: (Suppl 11): 338.
6. Finckh A, Ciurea A, Brulhart L, Kyburz D, Möller B, Dehler S, et al. B cell depletion may be more effective than switching to an alternative anti-tumor necrosis factor agent in rheumatoid arthritis patients with inadequate response to anti-tumor necrosis factor agents. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1417-23.
7. De Vita S, Zaja F, Sacco S, De Candia A, Fanin R, Ferraccioli G. Efficacy of selective B cell blockade in the treatment of rheumatoid arthritis: evidence for a pathogenetic role of B cells. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2029-33.
8. Roll P, Dómer T, Tony HP. Anti-CD20 therapy in patients with rheumatoid arthritis: predictors of response and B cell subset regeneration after repeated treatment. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1566-75.
9. Thurlings RM, Vos K, Wijbrandts CA, Zwinderman AH, Gerlag DM, Tak PP. Synovial tissue response to rituximab: mechanism of action and identification of biomarkers of response. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 917-25.
10. Thurlings RM, Vos K, Gerlag DM, Tak PP. Disease activity-guided rituximab therapy in rheumatoid arthritis. The effects of re-treatment in initial nonresponders versus initial responders. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3657-64.
11. Launois R, Payet S, Saidenberg-Kermanac'h N, Francesconi C, Franca LR, Boissier MC. Budget impact model of rituximab after failure of one or more TNF- α inhibitor therapies in the treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2008; 67: 1494-5.
12. Dómer T, Burmester GR. The role of B cells in rheumatoid arthritis: mechanisms and therapeutic targets. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 246-52.
13. Takemura S, Klimiuk PA, Braun A, Goronzy JJ, Weyand CM. T cell activation in rheumatoid synovium is B cell dependent. *J Immunol* 2001; 167: 4710-8.
14. Roll P, Palanichamy A, Rouziere AS, Dómer T, Kneitz C, Tony HP. B-cell regeneration after B cell depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis: transient recirculation of plasmablasts and increased level of germinal center founder cell. *Arthritis Rheum* 2005; 52 (suppl 9): S289.
15. Leandro MJ, Cawnbridge G, Eherenstein MR, Edwards JC. Reconstitution of peripheral blood B cells after depletion with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 613-20.
16. Rouziere AS, Kneitz C, Palanicharny A, Dómer T, Tony HP. Regeneration of the immunoglobulin heavy-chain repertoire after transient B-cell depletion with an antiCD20 antibody. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: R714-24.
17. Szodoray P, Alex P, Dandapani V, Nakken B, Pesina J, Kim X, et al. Apoptotic effect of rituximab on peripheral blood B cells in rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 2004; 60: 209-18.
18. Quartuccio L, Salvin S, Fabris M, Sacco S, De Vita S. Disappearance of bone marrow B-cell clonal expansion in patients with type II HCV-related cryoglobulinemic glomerulonephritis after clinical efficient rituximab therapy. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1494-5.
19. Edwards JC, Leandro MJ, Cambridge G. B lymphocyte depletion therapy with rituximab in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2004; 30: 393-403.