

Monitorización terapéutica de adalimumab: aplicación práctica de la disociación ácida

LLINARES-TELLO F¹, ROSAS J², SENABRE JM², MOLINA J¹, SALAS E², SANTOS-SOLER G², SANTOS-RAMÍREZ C³, ORTEGA R³, PONS A⁴, CANO C⁴, LORENTE M⁴, BARBER X⁵, SÁNCHEZ-BARRIOLUENGO M⁶, Y EL GRUPO AIRE-MB*

¹ S. de Laboratorio. Hospital Marina Baixa. Villajoyosa (Alicante)

² S. Reumatología. Hospital Marina Baixa. Villajoyosa (Alicante)

³ S. Reumatología. Hospital Marina Alta. Denia (Alicante)

⁴ CIO-Universidad Miguel Hernández. Elche (Alicante)

⁵ INGENIO (CSIC-UPV). Universitat Politècnica de València

*Miembros del Grupo AIRE-MB (Asociación para la Investigación en Reumatología de la Marina Baixa): José Rosas Gómez de Salazar, José Miguel Senabre Gallego, Gregorio Santos Soler, Esteban Salas Heredia, Catalina Cano Pérez, Ana Pons Bas y Marisa Lorente Betoret (Sección Reumatología, Hospital Marina Baixa, Villajoyosa, Alicante); Francisca Llinares Tello, Juan Molina García (Servicio Laboratorio, Hospital Marina Baixa, Villajoyosa, Alicante); Carlos Santos Ramírez, Rafaela Ortega Castro (Sección Reumatología, Hospital Marina Salud, Denia, Alicante); Xavier Barber Vallés (CIO-Universidad Miguel Hernández, Elche, Alicante); Mabel Sánchez Barrioluego (INGENIO [SIC-UPV], Universidad Politècnica, Valencia) y Mario García-Carrasco (Unidad de Investigación en Enfermedades Autoinmunes HGR-36-CIBIOR IMSS Puebla, México. Departamento de Reumatología e Inmunología, Universidad Benemérita Autónoma de Puebla, México)

Correspondencia: Francisca Llinares Tello - Servicio Laboratorio - Hospital Marina Baixa - Avda. Alcalde Jaime Botella Mayor, 7 - 03570 Villajoyosa (Alicante)

✉ llinares_fra@gva.es

INTRODUCCIÓN

La monitorización terapéutica de fármacos biológicos tiene como finalidad la optimización del tratamiento mediante el mantenimiento de una concentración sérica efectiva del fármaco en el tiempo, asegurando que se alcanzan y se mantienen las concentraciones terapéuticas y evitando que se superen concentraciones potencialmente tóxicas¹.

En este sentido, el conocimiento y el manejo de la inmunogenicidad de los distintos tratamientos biológicos representa un instrumento útil no solo en la optimización de las estrategias terapéuticas de cada fármaco, sino también en el diseño de modelos predictivos de respuesta e incluso en la personalización de la terapia, puesto que la aparición de anticuerpos frente a los fármacos anti-TNF, se ha asociado con la pérdida de eficacia del tratamiento y la aparición de efectos secundarios².

En el caso particular de adalimumab (ADL), está ampliamente descrito que la producción de anticuerpos anti-adalimumab (AAA) neutraliza la actividad biológica de la molécula y supone la for-

mación de complejos fármaco-anticuerpo que aceleran el aclaramiento del fármaco, llevando a concentraciones séricas subterapéuticas y a un fracaso del tratamiento³.

Los ensayos más empleados en la actualidad en la monitorización de ADL se basan en la metodología ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) por su facilidad de implementación en los laboratorios clínicos. Presentan una sensibilidad y especificidad elevadas, aunque cuentan con la limitación de que la presencia de fármaco en la muestra interfiere en la determinación de inmunogenicidad, pudiendo provocar resultados falsos negativos⁴.

Presentamos el caso de una paciente en la cual la aplicación de la disociación ácida nos permitió salvar esta interferencia y anticiparnos en la detección de AAA meses antes de detectar su positividad con la técnica estándar.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Mujer de 67 años diagnosticada de espondilitis desde hace 35 años. Había seguido tratamientos previos exclusiva-

mente con AINE. Inicia tratamiento con ADL 40 mg/14 días. Como parte del protocolo de optimización del tratamiento con fármacos biológicos seguido en nuestro centro, a los 6 meses se solicita la determinación de niveles séricos de ADL y de AAA, resultando en una concentración de 0,513 mg/L y <3,5 UA/mL, respectivamente, coincidiendo con un BASDAI 4. Se decide mantener el tratamiento con ADL insistiendo a la paciente en el correcto cumplimiento terapéutico. En los siguientes controles 3 y 4 meses después, la paciente presentaba un BASDAI 5 y la concentración sérica de ADL se cuantificó en 1,537 y 1,287 mg/L, continuando indetectable la detección de AAA.

Dada la concentración sérica de ADL infraterapéutica, las tres muestras fueron analizadas para AAA tras someterlas a un pre-tratamiento ácido. El procedimiento de disociación ácida consistió en la incubación durante 15 minutos a temperatura ambiente de 20 µL de muestra con 100 µL de ácido acético 300 mM y posterior neutralización con 31 µL de Tris 1 M y ajuste a una dilución

final 1:10 con el diluyente del ensayo. Se obtuvo una titulación de AAA de 86, 45 y 58 UA/mL, respectivamente.

Ante el empeoramiento de su situación clínica se decidió un cambio de tratamiento a golimumab. Transcurridas seis semanas desde la suspensión de ADL, considerado tiempo suficiente para el lavado del fármaco (aclaramiento promedio estimado 85,6 mL/h, semivida 29,7 h), se pudo confirmar la eliminación completa de ADL (<0,024 mg/L) y la presencia de un título bajo de AAA (48 UA/mL).

DISCUSIÓN

La monitorización en suero de las concentraciones de fármaco biológico y de los anticuerpos anti-fármaco contribuye a mejorar la dosificación personalizada y la selección del fármaco, de ahí que esta práctica se haya ido afianzando en los últimos años en la práctica clínica⁵.

La medición de niveles valle de ADL correlaciona positivamente con la respuesta clínica, y un nivel bajo, una vez descartado el posible incumplimiento terapéutico, puede ser un indicador de formación de anticuerpos. Por ello, para reducir los costes del ensayo, sólo se recomienda analizar los AAA cuando el nivel de fármaco sea bajo o indetectable¹.

Existen diferentes ensayos comerciales disponibles para la monitorización de ADL y de AAA. El ensayo Promonitor® (Proteomika S.L., Derio. Vizcaya) se basa en el diseño de ELISA de captura para ADL y ELISA puente para AAA, de manera que sólo detecta AAA libres, no formando complejos con ADL. Así, los AAA son detectados en ausencia de fármaco detectable, por lo que es probable que se infraestimen cuando los niveles de ADL exceden la producción de AAA^{6,7}. Es por ello que, para que el efecto de esta interferencia sea mínimo se recomienda que las mediciones se hagan en el momento en que se supone que los niveles de fármaco son más bajos (nivel valle), previo a la administración de la siguiente dosis⁸.

Otra estrategia propuesta por algunos autores para reducir esta interferencia del

ELISA puente, consiste en el análisis de las muestras con una concentración baja de fármaco tras un procedimiento de acidificación, con el que se consigue romper las uniones fármaco-anticuerpo, liberando anticuerpos libres que ya serían detectables con el ensayo. Es decir, el pre-tratamiento ácido de las muestras aumenta la sensibilidad del ensayo de detección de anticuerpos anti-fármaco disgregando posibles complejos fármaco-anticuerpo^{9,10}.

En nuestro centro, durante 3 años, la monitorización de la concentración terapéutica de ADL y de su inmunogenicidad se ha evaluado en 238 muestras procedentes de 116 pacientes con diferentes indicaciones, encontrando que, con la técnica analítica estándar y bajo el esquema de tratamiento de mantenimiento, se detectan AAA en el 14,7% de nuestros pacientes (n=17), coincidiendo siempre con un nivel de ADL indetectable.

Sin embargo, considerando el análisis retrospectivo tras disociación ácida de todas las muestras de pacientes con un nivel de ADL infraterapéutico^{11,12} que, ante la falta de respuesta clínica, y una vez descartado el posible incumplimiento terapéutico, cambiaron de tratamiento sin evidencia de AAA con la técnica estándar, el porcentaje de pacientes con AAA se incrementa al 20,7% (n=24).

En estos siete casos adicionales, la aplicación de la disociación ácida nos permitió objetivar la causa del nivel bajo de ADL de manera precoz y con su detección, orientar el cambio de fármaco biológico.

Recientemente se han desarrollado diferentes técnicas que permiten la determinación simultánea de fármaco y anticuerpo anti-fármaco en la misma muestra independientemente de los niveles de fármaco^{13,14}. Se trata de análisis complejos y de técnicas costosas y poco accesibles salvo para grandes laboratorios dedicados a la investigación clínica. Además, de los estudios en los que se ha investigado la presencia de AAA mediante estas técnicas, de manera indiscriminada en todos los pacientes

independientemente del nivel de ADL, se desprende que esta estrategia tiene poco sentido, a no ser que se trate de pacientes en los que se observe un nivel bajo de ADL, puesto que la detección de AAA no se relaciona con una reducción de la respuesta clínica dado que la mayoría de pacientes siguen manteniendo una concentración terapéutica de ADL en sangre. Es decir, la presencia de anticuerpos anti-fármaco no necesariamente supone la ausencia de acción terapéutica final del fármaco, ya que ésta depende del equilibrio entre los niveles de fármaco y los niveles de anticuerpo anti-fármaco para obtener resultados clínicos.

Con la aplicación de la disociación ácida tampoco se garantiza la ausencia de AAA en caso de resultados negativos, puesto que se trata de un procedimiento con ciertas limitaciones: como son su falta de estandarización y por tanto de reproducibilidad, la posibilidad de que aunque se liberen AAA éstos se desnaturalicen por el medio ácido, o que se trate de anticuerpos de baja afinidad que puedan perderse en los pasos de lavado del ELISA, la probable re-asociación de complejos en el paso de neutralización y, sobre todo, su rendimiento dependiente del balance entre la concentración de fármaco y de anticuerpo presente en la muestra^{9,10}.

En los casos en que se descarte un posible incumplimiento terapéutico y no se demuestre la existencia de AAA incluso tras la acidificación de las muestras, han de evaluarse otros factores que explican la heterogeneidad en la farmacocinética interindividual y que pueden contribuir a un nivel bajo de ADL: como el índice de masa corporal (IMC), puesto que a mayor IMC se asocia con un mayor volumen de distribución central; el sexo, que afecta al volumen de distribución y a la semivida del fármaco, con semividas más cortas en mujeres; o la inflamación sistémica, caracterizada por una PCR elevada y baja albúmina, que puede provocar un aclaramiento acelerado debido a un aumento del catabolismo del fármaco mediado por el sistema retículo-endotelial¹⁵.

CONCLUSIÓN

La monitorización de inmunogenicidad en pacientes con niveles infraterapéuticos de ADL, siguiendo un protocolo de acidificación, nos ha permitido detectar de manera precoz la presencia de AAA en estos pacientes contribuyendo a la optimización del tratamiento. La aplicación de la disociación ácida tiene un valor predictivo puesto que proporciona información sobre la respuesta inmune frente a ADL en presencia de bajas concentraciones del fármaco, alertándonos sobre una futura reducción de la respuesta clínica. Además, evidenciar la presencia de AAA puede ser muy útil a la hora de decidir cuál es el tratamiento más adecuado en pacientes con un primer fallo a un determinado anti-TNF, puesto que su presencia no contraindica el cambio entre medicamentos de la misma clase.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Zandvliet ML, van Bezooijen JS, Bos MA, Prens EP, van Doorn M, Bijen I, et al. Monitoring antigen-specific biologics: current knowledge and future prospects. *Ther Drug Monit* 2013;35:588-94.
- 2.- Garcês S, Demengeot J, Benito-García E. The immunogenicity of anti-TNF therapy in immune-mediated inflammatory diseases: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 2012;0:1-9.
- 3.- Pouw MF, Krieckaert CL, Nurmohamed MT, van der Kleij D, Aarden L, Rispiens T, et al. Key findings towards optimising adalimumab treatment: the concentration-effect curve. *Ann Rheum Dis* Published Online First: 10 Dec 2013. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204172.
- 4.- Aarden L, Ruuls SR, Wolink G. Immunogenicity of anti-tumor necrosis factor antibodies-toward improved methods of anti-antibody measurement. *Curr Opin Immunol* 2008, 20:431-435.
- 5.- Garcês S, Antunes M, Benito-García E, da Silva JC, Aarden L, Demengeot J. A preliminary algorithm introducing immunogenicity assessment in the management of patients with RA receiving tumour necrosis factor inhibitor therapies. *Ann Rheum Dis* 2013. Published Online First: 11 May 2013. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203296.
- 6.- Llinares Tello F, Rosas Gómez de Salazar J, Senabre Gallego JM, Santos Soler G, Santos Ramírez C, Salas Heredia E, et al. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1845-7.
- 7.- Ruiz-Argüello B, Ruiz del Agua A, Torres N, Monasterio A, Martínez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:e287-9.
- 8.- van Schouwenburg P, Rispiens T, Wolbink G. Immunogenicity of anti-TNF biologic therapies for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2013;9:164-72.
- 9.- Lofgren JA, Wala I, Koren E, Swanson SW, Jing S. Detection of neutralizing anti-therapeutic protein antibodies in serum or plasma samples containing high levels of the therapeutic protein. *J Immunol Methods* 2006;308:101-8.
- 10.- Patton A, Mullenix MC, Swanson SJ, Koren E. An acid dissociation bridging ELISA for detection of antibodies directed against therapeutic proteins in the presence of antigen. *J Immunol Methods* 2005;304:189-95.
- 11.- Rosas J, Llinares-Tello F, Senabre JM, Santos-Soler G, Santos-Ramírez C, Salas E, et al. Evaluation of anti-TNF levels and anti-TNF antibodies in rheumatic diseases treated with infliximab and adalimumab; results from a local registry. [Abstract]. *Ann Rheum Dis* 2011;63 (Suppl 10):S2211.
- 12.- Rosas J, Llinares-Tello F, de la Torre I, Valor L, Barber X, Santos-Ramírez C, et al. Clinical usefulness of serum level of adalimumab, in patients with rheumatoid arthritis. [Abstract]. *Ann Rheum Dis* 2013;72(Suppl 3):S333.
- 13.- van Schouwenburg PA, Krieckaert CL, Rispiens T, Aarden L, Wolbink GJ, Wouters D. Long-term measurement of anti-adalimumab using pH-shift-anti-idiotypic antigen binding test shows predictive value and transient antibody formation. *Ann Rheum Dis* 2013;72:1680-6.
- 14.- Butterfield AM, Chain JS, Ackermann BL, Konrad RJ. Comparison of assay formats for drug-tolerant immunogenicity testing. *Bioanalysis* 2010;2:1961-9.
- 15.- Dirks NL, Meibohm B. Population pharmacokinetics of therapeutic monoclonal antibodies. *Clin Pharmacokinet* 2010;49:633-59.