

VILNIUS UNIVERSITY  
STATE RESEARCH INSTITUTE  
CENTRE FOR INNOVATIVE MEDICINE

Inesa Arštikytė

**BIOLOGIC THERAPY IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE ARTHRITIS**

Summary of the Doctoral Thesis

Biomedical sciences, medicine (06B)

Skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system (B580)

Vilnius, 2015

The thesis was prepared during the period of 2009 – 2014 metais at State Research Institute Centre for Innovative Medicine.

**Scientific Supervisors:**

Prof. Dr. Habil. **Algirdas Venalis** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580) (from December 18, 2009 to April 23, 2014);

Prof. Dr. **Irena Butrimienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580) (from April 23, 2014 to December 18, 2014).

**Scientific Consultants:** Prof. Dr. **Irena Butrimienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580) from December 18, 2009 to April 23, 2014);

Prof. Dr. Habil. **Algirdas Venalis** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580) (from April 23, 2014 to December 18, 2014).

**The thesis will be defended at the Medical research Council of Vilnius University:**

**Chairman** – Prof. Dr. **Jolanta Dadonienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580).

**Members:**

Prof. Dr. **Janina Tutkuvienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, human anatomy and morphology – B440);

Prof. Dr. **Asta Baranauskaitė** (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580);

Prof. Dr. **Astra Vitkauskienė** (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical sciences, medicine – 06B, microbiology, bacteriology, virology, mykology – B230);

Ass. Prof. Dr. **Rita Rugienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580).

**Oponents:** Prof. Dr. Habil. **Limas Kupčinskas** (Lithuanian University of Health Sciences, Biomedical sciences, medicine – 06B, gastroenterology – B550);

Ass. Prof. Dr. **Sigita Stropuvienė** (Vilnius University, Biomedical sciences, medicine – 06B, skeleton, muscle, rheumatology, locomotor system – B580).

The thesis will be defended at the open session of the Medical research Council on December 18, 2015, 14 o'clock in the Conference Hall of the State Research Institute Centre for Innovative Medicine (Santariškių str. 5, LT-08406, Vilnius, Lithuania).

The summary of the doctoral thesis was send on November\_\_, 2015.

The thesis in full text is available in the Library of Vilnius University (Universiteto str. 3, LT-01122, Vilnius, Lithuania) and in the Library of the State Research Institute Centre for Innovative Medicine (Santariškių str. 5, LT-08406, Vilnius, Lithuania).

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
VALSTYBINIS MOKSLINIŲ TYRIMŲ INSTITUTAS  
INOVATYVIOS MEDICINOS CENTRAS

Inesa Arštikytė

**BIOLOGINĖS TERAPIJOS TAIKYMAS PACIENTAMS, SERGANTIEMS  
AUTOIMUNINIAIS ARTRITAIŠ**

Daktaro disertacijos santrauka

Biomedicinos mokslai, medicina (06 B)

Skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas (B 580)

Vilnius, 2015

Disertacija rengta 2009 – 2014 metais Valstyviniame mokslinių tyrimų institute, Inovatyvios medicinos centre.

**Moksliniai vadovai:**

Prof. habil. dr. **Algirdas Venalis** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580) (nuo 2009.12.18. iki 2014.04.23.);

Prof. dr. **Irena Butrimienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580) (nuo 2014.04.23. iki 2014.12.18.).

**Moksliniai konsultantai:**

Prof. dr. **Irena Butrimienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B 580) (nuo 2009.12.18. iki 2014.04.23.);

Prof. habil. dr. **Algirdas Venalis** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06 B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B 580) (nuo 2014.04.23. iki 2014.12.18.).

**Disertacija ginama Vilniaus universiteto Medicinos mokslo krypties taryboje:**

**Pirmininkė** – Prof.dr. **Jolanta Dadonienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580).

**Nariai:** Prof.dr. **Janina Tutkuvienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, žmogaus anatomija ir morfologija – B440);

Prof.dr. **Asta Baranauskaitė** (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580);

Prof.dr. **Astra Vitkauskienė** (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, mikrobiologija, bakteriologija, virusologija, mikologija – B230);

Doc.dr. **Rita Rugienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580).

**Oponentai:** Prof.habil.dr. **Limas Kupčinskas** (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, gastroenterologija – B550);

Doc.dr. **Sigita Stropuvienė** (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, medicina – 06B, skeletas, raumenų sistema, reumatologija, judėjimas – B580).

Disertacija bus ginama viešame Medicinos mokslo krypties tarybos posėdyje 2015 m. gruodžio mėn. 18 d. 14 val. Valstybinio mokslinių tyrimų instituto Inovatyvios medicinos centro salėje. Adresas: Santariškių g. 5, LT-08406, Vilnius.

Disertacijos santrauka išsiųsta 2015 m. lapkričio mėn. \_\_ d.

Su disertacija galima susipažinti Vilniaus universiteto (Universiteto g. 3, LT-01122, Vilnius) ir Valstybinio mokslinių tyrimų instituto Inovatyvios medicinos centro (Santariškių g. 5, LT-08406, Vilnius) bibliotekose.

## ABBREVIATIONS

AA – autoimmune arthritis	ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
Ab - antibodies	ESR – erythrocyte sedimentation rate
AE – adverse event	JIA – juvenile idiopathic arthritis
Anti-ADA Ab – anti-adalimumab antibodies	ICC – intraclass correlation coefficient
Anti-ETA Ab – anti-etanercept antibodies	IL - interleukin
Anti-INF Ab – anti-infliximab antibodies	INF – interferon
AS – ankylosing spondylitis	IQR – interquartile range
ASDAS – Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index Score	Md – median
BASDAI – Bath’s Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index	OR – odds ratio
BD – biologic drug	PsA – psoriatic arthritis
BIOLIT – Lithuanian database of biologic therapy of rheumatic diseases	QFT - <i>QuantiFERon TB Gold</i> test
CI – confidence interval	RA – rheumatoid arthritis
CRP – C reactive protein	RIA – radioimmunoassay
DAS28 – disease activity score-28	SD – standard deviation
DMARDs – disease modifying anti-rheumatic drugs	SpA – spondyloarthritis
	TB - tuberculosis
	TNF $\alpha$ - tumor necrosis factor $\alpha$
	VAS – visual analogue scale
	VUH SC – Vilnius University Hospital Santariskiu clinics

## INTRODUCTION

Autoimmune arthritis (AA) (rheumatoid arthritis (RA), ankylosing spondylitis (AS), psoriatic arthritis (PsA), juvenile idiopathic arthritis (JIA)) is the group of diseases which may differ in their clinical manifestation however similar by their outcomes. Joints and other organs and organ systems are involved during these diseases. Although the etiopathogenetic mechanisms are very complex and still not fully clarified, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF), interleukin (IL) -1, IL-6, IL-17, IL-23, IL-15, IL-12, IL-22, IL-18, interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) and other cytokines are involved in the pathogenesis of all these diseases. The prevalence of these diseases found in the world is different: RA affects up to 1.0 %, AS – 0.5 %, PsA and JIA – around 0.1 % of the population. These diseases are associated with increased short-term and long-term work disability. The incidence of co-morbidities (particularly cardiovascular) and mortality of autoimmune arthritis patients is greater than in the general population.

Approximately twenty years ago, accurate diagnosis in the early stages of AA was more important academically rather than clinically. At the beginning of disease, patients were treated with non-steroidal anti-inflammatory drugs; when the condition progressed – glucocorticosteroids and disease modifying anti-rheumatic drugs (DMARDs) were prescribed. This treatment strategy did reduce inflammation but was unsuccessful for inducing long-term remission of the disease. The first biologic product infliximab was introduced in clinical practice more than 15 years ago, and followed later by other biologic drugs (BD). BD very effectively reduce the symptoms of the disease and prevent the progression of joint structural damage, resulting in a reduction in the disability level from AA. Clinical effects and rational treatment continuation or discontinuation should be decided individually for each patient. There is the lack of data on long-term (over more than a 5-year period) safety of biologic therapy and continuous treatment with a particular drug in daily clinical practice. In order to eliminate this lack of long-term data in everyday practice, since 1996 biologic medicine registers and databases were developed. The Lithuanian database of biologic therapy in rheumatic diseases (BIOLIT) was launched on December 1, 2007.

The reasons for primary and secondary biologic therapy failure are frequently discussed in the literature because about one third of the patients do not reach sufficient effect with the first BD. One of the possible factors associated with the loss of efficacy is immunogenicity (antibody formation against the prescribed monoclonal antibody (i.e., anti-drug antibodies (Ab)). However, the effect of increasing doses of BD or prescription interval shortening value remains unclear, as evaluation of immunogenicity in previous studies with similar dosage changes were not included. Evaluation of therapeutic drug concentration and immunogenicity in daily clinical practice could be used to optimize treatment with TNF $\alpha$  blockers and increase cost-effectiveness of biologic therapy. Different analysis methods are used to determine concentrations of biologic drugs and anti-drug Ab. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and radioimmunoassay (RIA) are most commonly used for determining concentrations of anti-drug Ab. It is necessary to emphasize that there are no standardized methods in clinical practice for the determination of biologic drugs and anti-drug Ab.

Patients with AA treated with BD have increased probability of developing active tuberculosis (TB) and risk of latent TB reactivation. Due to atypical disease localization (i.e., in more than 60 % of the cases extra-pulmonic TB form is determined) and high TB prevalence (57.37 cases / 100,000 of population in 2013), this problem is particularly relevant in our country. A consensus of Lithuanian Pulmonologists and Rheumatologists: “Recommendations for the prevention and management of TB in patients treated with TNF $\alpha$  blockers” was approved in 2011. These recommendations helped professionals to optimize latent TB diagnosis and treatment prior to prescription of immunosuppressive therapy for AA patients. There are data of tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon ( $\gamma$ -INF) secretion tests for the diagnosis of latent TB in

immunosuppressed patients in the literature, however most research is carried out in the countries of low TB prevalence, so these data cannot be fully applied in regions of high prevalence of this disease.

**Scientific novelty of the study.** This is the first study in Lithuania where real clinical rheumatology practice data on peculiarities of biologic drugs application (dosage, switching, methotrexate prescription influence on clinical effect, security, antibodies against TNF $\alpha$  blockers formation) are analyzed. Most of the published scientific works analyze the results of treatment with the biologic drugs in patients with significantly shorter disease duration, lower disease activity and lower level of radiological alteration. It should be emphasized that our study includes data on AA patients whose treatment with biologic therapy was started when the disease was particularly active or with advanced radiological signs of the disease. This is one of the first works in rheumatology that compares the different methods of evaluation of immunogenicity in clinical practice and evaluates the consequences of immunogenicity for patients treated for a long time with different biologic drugs. The analysis of the TB diagnosis issue in AA patients prior to beginning biologic therapy in a country with a high TB prevalence is a unique aspect of our work.

**Aim of the study** – to evaluate the efficacy and safety of biologic drugs and immunogenicity when treating the autoimmune arthritis patients in daily clinical rheumatology practice.

**Objectives of the study:**

1. To assess the biologic drug prescription, dosage and synthetic disease-modifying drug consumption peculiarities for autoimmune arthritis patients in daily clinical practice.
2. To analyze biologic drugs and their dosage modifications and the reasons for these modifications.
3. To assess physical disability and work capacity dynamics of patients during treatment with biologic therapy.
4. To determine the most commonly observed adverse events when using biologic therapy in autoimmune arthritis patients.
5. To analyze tuberculosis diagnostics and treatment peculiarities prior to treatment with TNF $\alpha$  blockers.
6. To compare the benefit of two different laboratory methods determining TNF $\alpha$  blockers' concentrations in patients' blood sera.
7. To evaluate the significance of immunogenicity as one of the reasons of secondary inefficiency in the treatment with TNF $\alpha$  blockers.

**Practical value of the study.** This work determined efficacy and safety of treatment with different biologic drugs in autoimmune arthritis patients, evaluated

duration of effective treatment with various biologic drugs, and causes of treatment modification and termination. Influence of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug antibodies concentrations to treatment efficacy and potential adverse events were determined and value of immunogenicity tests for determining the cause of secondary treatment inefficiency was specified. Concordance of results of two different laboratory methods for detection of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug antibodies concentrations were compared. The results of two tests (tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion) used for diagnosis of latent tuberculosis compatibility and peculiarities of testing for latent tuberculosis prior to treatment with TNF $\alpha$  blockers were estimated.

**Statements defended:**

1. Clinical effect of treatment with different TNF $\alpha$  blockers was similar in patients with ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, and juvenile idiopathic arthritis, as well as the treatment with TNF $\alpha$  blockers and rituximab in patients with rheumatoid arthritis. Efficacy of treatment with smaller and with therapeutic infliximab doses was similar.
2. Treatment with the first biologic drug was effective for about a half of autoimmune arthritis patients. The main reasons for modifying treatment with biologic drugs were insufficient effect for patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and ankylosing spondylitis, and adverse events – for patients with juvenile idiopathic arthritis.
3. Improved mobility function and working capacity was seen after treating the autoimmune arthritis patients with biologic drugs for 24 months, however the status of work disability did not change.
4. Treatment with biologic drugs can be safe, nevertheless vigilance for the appearance of serious infections such as tuberculosis or its reactivation and oncological diseases must be maintained.
5. Tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion tests compatibility is low when testing autoimmune arthritis patients for possible latent tuberculosis, It is therefore recommended to update the patients' testing plan to include testing for latent tuberculosis prior to treatment with TNF $\alpha$  blockers.
6. There were no significant differences of TNF $\alpha$  blockers' concentrations, determined in two different laboratories by enzyme-linked immunosorbent methods, so each test can be used in everyday practice. Radioimmunoassay was more sensitive for detection of anti-infliximab and anti-adalimumab antibodies.
7. The antibodies formed during treatment with infliximab increased the risk of infusion reactions, reduced the effectiveness of treatment and increased the requirement for treatment modifications. The antibodies formed during treatment with adalimumab, were related to loss of clinical effect.



## **METHODS OF THE STUDY**

The patient data for the Lithuanian database of biologic therapy in rheumatic diseases (BIOLIT) were collected from December 1, 2007, after receiving of all necessary permits (Lithuanian Bioethics Committee permission No. 46 and Vilnius Regional Biomedical Research Ethics Committee permission No. 158200-14-737-253). All patients with AA (total of 386: 181 with RA, 108 with AS, 67 with PsA, and 30 patients with JIA), treated with biologic drugs at Vilnius University Hospital Santariskiu clinics (VUH SC) Rheumatology center to December 31, 2013 were included in BIOLIT.

### **The assessment of biologic therapy effectiveness and adverse events**

The questionnaires were filled out at planned intervals, first prior to starting treatment with one of the BD, after 3 months, after 6 months, and then every 6 months throughout the treatment and at the end of treatment with biologic therapy. Separate forms were filled out by the doctor, the patient, and for the adverse events (if there were any). The questionnaires assessed the following: sociodemographic data (age, gender, work capacity), anthropometric patients' data (height, weight), number of endoprosthetic joints, rehabilitation and physiotherapy application during the last 6 months, diagnosis of autoimmune arthritis, its' duration, usage of medications, their daily dose (mg), usage of BD, start and end dates of BD, the period (in months) from the start of biologic therapy, the earlier used BD, the patient's pain intensity assessment using a 100 mm visual analog scale (VAS), the patient's general health status VAS, the physician global disease activity VAS, physical disability was assessed by completing the Health Assessment Questionnaire, swollen and tender joints were calculated assessing 60 and 28 joints. The adverse events, time of their activity, duration, severity, used tools/medications, outcomes, and adverse events affected organ system were named. Blood tests, such as: erythrocyte sedimentation rate (ESR) (mm / hour), C - reactive protein (CRP), human leukocyte antigen B27 (in SpA patients), rheumatoid factor and antibodies to cyclic citrullinated peptide (in RA patients) were carried out. Radiologic peripheral and sacroiliac joint analysis results, performed before starting treatment with BD, were assessed.

In addition, patients with SpA were assessed for: spine mobility (forward bend, Schober's test, the distance between occiput and the wall), number of painful places to pressure and (or) touch - enthesopathy index (Maastricht Ankylosing Spondylitis Enthesitis Score), expansion of the chest wall, Bath's Ankylosing Spondylitis Functional Index), Bath's Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI), Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index Score (ASDAS). A disease activity score, that analyzed 28 swollen and tender joints (DAS28), was calculated for patients with rheumatoid arthritis, psoriatic (with peripheral joint damage) and juvenile idiopathic arthritis.

### **Compatibility of tuberculin skin and stimulated $\gamma$ -interferon secretion tests**

A retrospective cross-sectional study to assess the stimulated  $\gamma$ -INF secretion test (*QuantiFeronTB Gold in Tube*, QFT) and tuberculin skin test (using 5 tuberculin units) results' compatibility for AA patients was performed. Patients' data, from the BIOLIT database were reviewed and those 297 patients, to whom QFT, tuberculin skin test and chest radiographs were performed before treatment with TNF $\alpha$  blockers, were selected. Cohen's kappa coefficient was calculated comparing skin tuberculin test and QFT diagnostic value.

### **Comparison of two different methods for detection of concentrations of TNF $\alpha$ blockers and anti-drug antibodies in patients' sera**

We used 145 patients' sera in order to compare two different methods for detection of concentrations of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab. For this analysis we have selected only those patients whose data was already present in the BIOLIT database and whose blood serum samples were frozen in two tubes. Blood samples were taken from the patient once during this study, according to recommendations of both developers ("*Sanquin Diagnostics*" and "*Progenika*"). Collected patient's blood serum samples were sent to two different laboratories: VUH SC *Center of Laboratory Medicine*, where the concentrations were detected using ELISA principle based kits made in "*Progenika*" company (Derio, Spain) in strict accordance with the manufacturer's instructions; and *Laboratory for monoclonal Therapeutics, Sanquin Diagnostics*, (Amsterdam, the Netherlands), where TNF $\alpha$  antagonists' concentrations was determined using ELISA and anti-drug Ab concentrations were determined by RIA method. Laboratories were provided with encoded by numbers blood serum, allocated them according to used TNF $\alpha$  blocker.

### **The comparison of concentrations of TNF $\alpha$ blockers and anti-drug antibodies with clinical outcomes**

The significance of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab concentrations for clinical treatment effect was assessed by analyzing clinical data of 143 RA and SpA patients. Blood samples were taken once during study, doctor's and patient's forms were filled out, laboratory indicators (ESR, CRP), adverse events and clinical data (DAS28, for patients with RA and peripheral PsA, ASDAS and BASDAI for patients with AS, and axial form of PsA) were evaluated. Blood samples were taken from 27 adalimumab, 63 etanercept and from 55 patients treated with infliximab.

### **Statistical analysis of the results**

Statistical data analysis was performed using statistical programs "SPSS17", "Excel 2007" and "MedCalc 14.10.2.0" (free trial version). The research data were analyzed by a descriptive, comparative, and factor statistical methods. The following statistical characteristics, such as: mean, standard deviation (SD), median (Md), and the

interquartile range (IQR) were used for assessment of continuous values. Normal distribution of quantitative data was verified by *Kolmogorov - Smirnov* test. When the sample size was adequate and distribution is normal, the mean differences of two groups for independent samples were compared by *Student (t)* criterion. Contingency rates were expressed in percentages. Hypotheses about symptom dependence were tested using *chi<sup>2</sup>* test. The mean differences of a small samples ( $n < 20$ ), non-parametric values, or data that didn't meet the normal distribution condition were compared using the *Mann - Whitney U* test. Multiple group averages and variances were compared using one-factor analysis of variance. Independent factors influence for the variable was evaluated using logistic regression approach. *Welch* test statistics was used in case of unequal variances. *Pearson's* correlation coefficient ( $r$ ) was used for assessing symptom dependence. *Spearman* correlation coefficient ( $r$ ) was used for ordinal and small sample sizes. The odds ratio (OR) and its 95 % confidence interval (95 % CI) were evaluated. *Kaplan-Meier* time to event analysis curves was available for analysis of duration of treatment by biologic drugs; the differences were assessed by using a *Mantel-Cox* average time comparison method. *Cohen's kappa* coefficient was used to determine the compatibility of tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion tests. Drug concentration, using two detecting methods, results were analyzed using the *Spearman* correlation coefficient, *intraclass correlation coefficient (ICC)*, *Bland-Altman* and *mountain* charts, *Passing-Bablok* and *Deming* regression. The data in all studies were considered statistically significant at  $p < 0.05$ .

## RESULTS

386 patients (152 (39.4 %) men and 234 (60.6 %) women) from VUH SC Rheumatology Center, treated with biologic therapy were involved in the study. Nearly half of the patients at study – 181 patients (46.9 %) had RA, 108 patients (28.0 %) had AS, 67 (17.4 %) had PsA, and 30 patients (7.8 %) had JIA. Treatment with TNF $\alpha$  blockers, as the first prescribed BD, was provided to 375 (97.1 %) patients, of whom 198 (51.3 %) patients were treated with etanercept, 143 (37.0 %) – with infliximab, 27 (7.0 %) – with adalimumab; 1 (0.3 %) was treated with golimumab; 6 (1.6 %) RA patients continued treatment with pegylated certolizumab, 8 (2.1 %) – with rituximab and as the first BD and 3 (0.8 %) RA patients were treated with tocilizumab as the first BD. 1878 questionnaires were filled out during the analyzed period. Patients were monitored from the beginning of treatment with biologic therapy to 102 months (median was 12 months (IQR 3-36)).

### **Evaluation of treatment with different biologic drugs efficacy**

We found of treatment statistically significant DAS28 values decrease after 3 months and this effect remained up to 24 months of RA patients' treatment. We did not identify statistically significant mean DAS28 values differences between BD groups on

specific periods of evaluation. We found that the use of methotrexate did not statistically significant affect the 3, 6, 12, 18 and 24 months of RA patients' treatment with different BD.

A statistically significant reduction of BASDAI index results was determined after 3 months of AS patients' treatment in all three TNF $\alpha$  blockers groups and this effect remained until the 24 month of treatment. Statistically significant differences between the efficacy of three TNF $\alpha$  blockers' group we did not identify up to 24 months of treatment, except etanercept was statistically significantly more effective after 18 months of AS patients' treatment. We found that the use of methotrexate did not statistically significant affect the BASDAI index results after 3, 6, 12, 18 and 24 months in the treatment of AS patients with different TNF $\alpha$  blockers.

PsA patients' disease activity (DAS28) was reduced statistically significantly after 3 months of treatment and remained such up to 24 months. Disease activity did not differ statistically significant between the PsA patients treated with different TNF $\alpha$  blockers, except after 12 months of treatment etanercept was less effective and after 18 months – infliximab was more efficant compared to other TNF $\alpha$  blockers. We detected that the use of methotrexate did not statistically significant affect DAS28 results at 3, 6, 12, 18 and 24 months in the treatment of PsA patients with different TNF $\alpha$  blockers.

The disease activity (DAS28) statistically significantly decreased after 3 months of treatment with TNF $\alpha$  blockers in JIA patients. We found that the use of methotrexate did not affected the efficacy of treatment with TNF $\alpha$  blockers after 3 months.

### **The comparison of efficacy of the treatment with different infliximab doses**

Patients with AA were treated with initial low mean (SD) doses of infliximab: 2.838 (0.695) mg / kg of body weight for RA patients, 2.544 (0.847) mg / kg for AS patients, 2,498 (0.526) mg / kg for PsA patients, and 3.125 (0.659) mg / kg for JIA patients. Infliximab dose was increased for 24 (37.5 %) RA patients, 18 (40.9 %) AS patients, 14 (48.3 %) PsA patients, and 6 (100.0%) JIA patients on average (95% CI) for 1,753 (1.251 to 2.254), 2.358 (1.674 to 3.043), 1.02 (0.532 to 1.509), and 0.518 (0 to 1.069) person-years of treatment, respectively. Infliximab dose was increased to the mean (SD) 3.799 (0.671) mg / kg doses for RA patients, 3.637 (0.637) mg / kg doses for AS patients, 3.604 (0.960) mg / kg doses for PsA patients, and 5.132 (0.186 ) mg / kg doses for JIA patients. Due to treatment inefficacy infliximab dose has been increased one more time for one (1.6 %) RA patient (up to 4.00 mg / kg), for 5 (11.4 %) AS patients (up to 4.118 (0.333) mg / kg), and for 3 (10.3 %) PsA patients (up to 5.025 (0.643) mg / kg).

We found that in those patients with RA and AS whose treatment was modified, the average initial infliximab doses were reliably lower compared to those patients whose treatment was not modified. Medium infliximab doses ( $\pm$  SD) were 2,554

(0.514) for RA patients and 2.387 (0.427) mg / kg for AS patients, whose treatment was modified, compared to 3,005 (0.524) mg / kg and 2,941 (0.627) mg / kg, respectively, for patients whose treatment was not modified ( $p < 0.05$ ). Such trends were not found for PsA patients.

We have compared treatment effect of relatively small ( $< 3$  mg / kg) and higher ( $\geq 3$  mg / kg) infliximab dosage in RA, AS, PsA patients, who's treatment was not changed. Statistically significant clinical efficacy differences (DAS28 in RA and PsA patients, BASDAI – in AS patients) was not found after 12 and 24 months of treatment compared between AA patients groups treated with different infliximab doses.

### **Duration of patient treatment with biologic drugs and reasons for treatment modification**

During the six-year study period treatment with first prescribed BD was continued by 95 (52.5 %) RA, 59 (54.6 %) AS, 27 (40.3 %) PsA and 17 (56.7 %) JIA patients. Treatment with infliximab, as the first BD, was continued by 13 (20.3 %) RA patients, 10 (22.7 %) – AS and 1 (3.4 %) PsA patients. Adalimumab, as the first BD, during the study period was continued by 5 (33.3 %) patients with RA and 2 (28.6 %) patients with AS. The treatment was continued with etanercept as the first BD by 63 (75.0 %) RA, 41 (71.9%) AS and 12 (57.1%) JIA patients.

69 (38.1 %) patients with RA, 41 (38.0 %) – with AS, 29 (43.3 %) – with PsA and 8 (26.7 %) patients with JIA treatment with one BD was changed to the treatment with another BD. Most commonly rituximab has been chosen as the second drug for RA patients (13.3 %), infliximab – for AS and PsA patients (respectively 21.3 % and 26.9 % of patients), adalimumab (16.7% of cases) – as second drug for JIA patients. Searching for reasons for which treatment was changed most commonly, we have found that the lack of efficacy was the most common cause for RA (55 patients, 30.4 %), AS (29, 26.9 %) and PsA patients (22, 32.8 %); for JIA patients most commonly treatment has been modified due to adverse events (7 patients, 23.3 %).

### **Dynamics of patients' short and long – term disability and non-medicamental treatment before starting and during biologic therapy**

The significant reduction in the number of sick leave day's during last 6 months, the frequency of sick leave, physiotherapy and other people's assistance needs for RA and PsA patients was found after 12 and 24 months of treatment with BD. The significant decrease in the frequency of sick leaves, the need for occupational therapy, usage of assistive devices was found for AS patients after 24 months of treatment. A significant reduction in short – term work disability and number of sick leave days during last 6 months for JIA patients was found after 12 months of treatment. However, we hadn't found statistically significant differences in number of AA patients with permanent disability, as well as in number of working patients after 12 and 24 months of treatment in adult AA patients.

### **Adverse effects during treatment with biologic drugs**

436 adverse events (AEs) were recorded for 329 AA patients treated with BD during six years of study. From the beginning of AA patients' treatment with biologic therapy AEs were reported on average after 1.27 (IQR 0.46 to 2.62) person-years of treatment. Most frequently AEs occurred in RA patients (57.8% of all adverse events, incidence 617.17 case / 1,000 patient-years). When compared between patients, treated with different biologic drugs, most of AEs was registered in AA patients treated with tocilizumab, adalimumab and rituximab (3293.94, 1141.66 and 1013.27 cases for 1000 patient-years, respectively).

Various infections were the most common AEs as they were reported in 223 cases (51.1 %). Infusion reactions occurred for 10 (7.0 %) patients treated with infliximab, 4 (13.8 %) patients treated with rituximab, and 1 (20.0 %) patient treated with tocilizumab. Injection site reactions were observed for 12 (6.1 %) patients treated with etanercept. Injection site reactions were not seen for patients treated with adalimumab and pegylated certolizumab during the period of the study. In one case was detected very rare AE – skin pseudolymphoma, diagnosed for RA patient after previous treatment with infliximab, which was replaced by a combination of rituximab and methotrexate.

Light or moderate AEs were identified in 311 cases (71.3 %), serious AEs – in 27 cases (6.2 %). The patients have recovered from AEs completely in 280 cases (64.2 %). 76 patients (19.7 %) completely discontinued BD because of the adverse effects; treatment was temporarily suspended in 216 cases (49.3 %) and after resolution of AE treatment has been resumed.

While treating with biologic drugs TB was diagnosed in 16 (4.1 %) AA patients (including 3 cases (0.8 %) of active TB and 13 cases (3.4 %) of latent TB). Highest TB incidence was found in patients treated with adalimumab (23.3 case / 1000 patient-years), lowest – in patients treated with infliximab (7.09 case / 1000 patient-years). Throughout the study period, 6 (1.6 %) patients were diagnosed with cancer; 6 patients (1.6 %) died due to various reasons.

### **Examination of AA patients for latent tuberculosis prior to treatment with TNF $\alpha$ blockers**

In order to assess the compatibility of tuberculin skin test (using 5 tuberculin units) and stimulated  $\gamma$ -IFN secretion test (*QuantiFERonTB Gold in Tube*, QFT) results for AA patients prior to treatment with TNF $\alpha$  blockers, 297 patients' data were analyzed. For these patients QFT, tuberculin skin test and chest radiographs were performed before initiating biologic therapy. Latent TB prior to treatment with BD was found in 15 (10.4 %) RA, 7 (8.5 %) AS and 5 (10.4 %) PsA patients.

Matching tuberculin skin and QFT test results were for majority of patients (positive in 6 (2.02 %), negative in 253 (85.2 %) of cases). However, the results of these

two tests in some patients did not match. 9 (3.03 %) patients had a positive tuberculin skin test and a negative QFT; 26 (8.8 %) patients had a positive QFT and a negative tuberculin skin test. Indeterminate QFT and negative tuberculin skin tests' results were determined for 3 (1.01 %) patients. When comparing tuberculin skin test and QFT, *Cohen's kappa* coefficient was calculated, it was equal to 0.200 (95% CI 0.031 to 0.368), indicating a low compatibility of tests' results. The obtained results show that in order to more accurately determine the presence of latent TB, it is necessary to use both tests.

In addition to the tuberculin skin test and QFT, chest radiographs have been performed for all patients. Radiographs of 292 patients (98.3 %) had no lesions; only in 5 cases (1.7 %) were determined non-specific changes, possibly identifying latent TB. Chest computer tomography (CT) was carried out for 60 (20.2 %) patients. The CT scans revealed lesions characteristic for latent TB in 8 (2.7 %) patients, nonspecific lesions – in 16 (5.4 %) patients, lesions not detected in 36 (12.0 %) patients. Bronchoscope and bronchoalveolar lavage fluid microbiologic study was performed for 23 (7.7 %) patients; mycobacteria were not found in any of samples. 28 (9.4 %) patients had preventive latent TB treatment with rifampicin and isoniazid before initiating treatment with BD.

### **The comparison of two different methods, used to determine concentrations of TNF $\alpha$ blockers and anti-drug antibodies**

In order to find the most appropriate method to determine trough concentrations of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab, blood sera of 145 patients were tested in two different laboratories ("*Sangue Diagnostics*" (Method A) and VUH SC Department of Laboratory Diagnostics (Method B)) and the results were compared.

In order to assess the compatibility of the tests, we analyzed their correlation and agreement. The results of TNF $\alpha$  blockers' concentrations correlation, determined by two methods were good: *Spearman* correlation coefficient  $r = 0.962$  ( $p < 0.0001$ ) for infliximab;  $r = 0.915$  ( $p < 0.0001$ ) – adalimumab and  $r = 0.938$  ( $p < 0.0001$ ) – etanercept concentrations. The best agreement (ICC 0.925 (95% CI 0.875 to 0.956),  $p < 0.0001$ ) was obtained comparing infliximab concentrations detected in two different laboratories. A questionable agreement was found in adalimumab group (ICC 0.732 (0.387 to 0.898),  $p < 0.0001$ ), and no overlapping was found in etanercept group (ICC 0.427 (0.195 to 0.613),  $p < 0.0001$ ). *Bland-Altman* and "*mountain*" charts showed good agreement in all three TNF $\alpha$  blockers' concentrations determined by both methods.

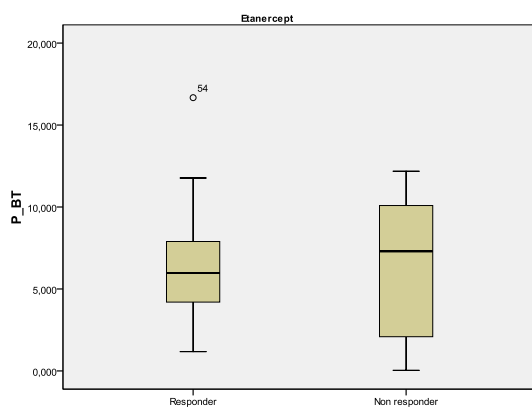
*Passing-Bablok* regression did not reveal systematic differences in TNF $\alpha$  blockers' concentrations results detected by two methods, but proportional differences were found. Determined high residual standard deviation (RSD) intervals show random differences between results of TNF $\alpha$  blockers' concentrations, determined in two laboratories. Using the *Cusum* linearity test, the significant deviation from the linear method was found only investigating the concentrations of infliximab, but not in etanercept and adalimumab groups. *Deming* regression results indicated that used methods for determination of adalimumab and etanercept concentrations have no

systemic, but there were proportional differences. As the estimated coefficient of variation evaluating infliximab concentrations values was above 100%, so this regression method cannot be applied for assessing agreement of his drug trough concentration results.

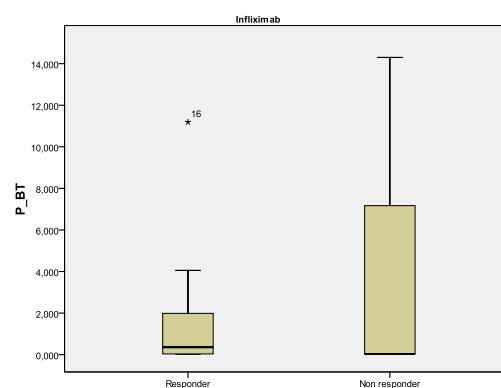
We tried to investigate whether the results of anti-INF Ab and anti-ADA Ab concentrations, determined by ELISA and RIA methods, corresponded and found that the anti-INF Ab concentrations, established by two different laboratory methods, results correlate very well (*Spearman* correlation coefficient  $r = 0.918$ ,  $p = 0.0001$ ), anti-ADA Ab concentration results correlated moderately ( $r = 0.530$ ,  $p = 0.004$ ). However, anti-INF Ab and anti-ADA Ab concentrations, determined by two different methods, did not agree (ICC 0.1814 (95% CI, -0.4108 – 0.525) and 0.3597 (95% CI, -0.8325 – 0.7763), respectively).

### The significance of TNF $\alpha$ blockers and anti-drug antibodies concentrations for clinical outcomes

The data of 143 patients (62 RA and 81 SpA patients (49 with AS and 32 with PsA)) were analyzed in order to determine concentrations of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab in blood sera and to evaluate relationship with clinical outcomes. We have not determined statistically significant differences of etanercept and infliximab trough concentrations among RA patients, who responded to treatment and those who did not (*Fig. 1*). A similar situation was among SpA patients treated with three TNF $\alpha$  blockers: we did not find any statistically significant differences in drugs' concentration between patients, who responded to treatment and those who did not (*Fig. 2*).



1.1

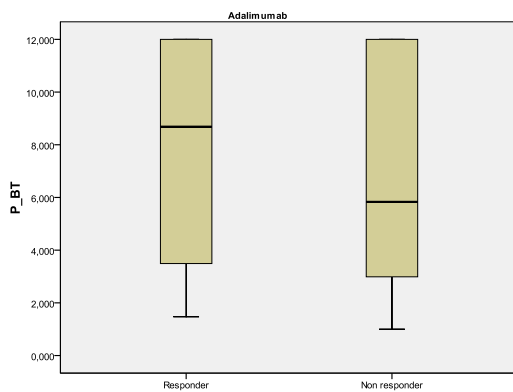


1.2

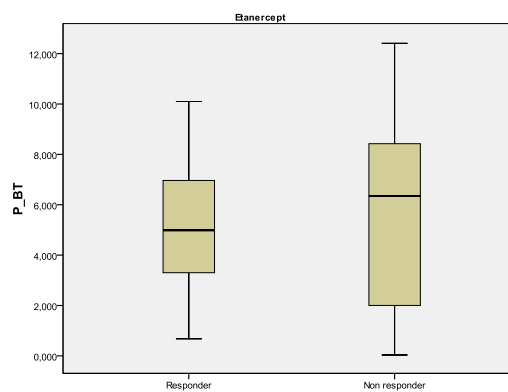
*Fig. 1.* Serum trough etanercept (*Fig. 1.1*) and infliximab (*Fig. 1.2*) concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) among RA patients, who responded to treatment and those who did not ( $p = 0.956$  in etanercept group;  $p = 0.880$  in infliximab group).



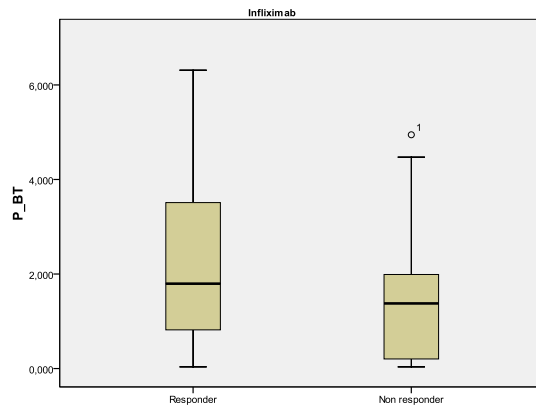
At baseline all RA patients had active disease as indicated by a mean ( $\pm$ SD) DAS28 of 5.76 ( $\pm$ 1.35) with no differences in DAS28 values between patients that subsequently did ( $3.3 \pm 1.55$ ) or did not ( $3.46 \pm 1.73$ ) develop anti-INF Ab or anti-ADA Ab ( $p = 0.727$ ). The treatment effect for SpA patients with peripheral joint involvement did not differ significantly between patients with anti-INF Ab (DAS28 mean ( $\pm$  SD) 2.3 (1.39)) and those without Ab (2.91 (1.32) ( $p = 0.326$ )). The disease activity did not differ significantly between SpA patients with axial involvement and anti-INF Ab (ASDAS mean ( $\pm$  SD) 4.82 (3.25); BASDAI 5.73 (2.1)) and those without Ab (ASDAS 2.83 (2.31) ( $p = 0,564$ ); BASDAI 2.2 (0.9) ( $p = 0.718$ )). We did not determine significant anti-INF Ab concentration differences, regardless of whether the treatment for RA and SpA patients was effective or was not.



2.1



2.2



2.3

Fig. 2. Serum trough adalimumab (Fig. 2.1), etanercept (Fig. 2.2) and infliximab (Fig. 2.3) concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) among SpA patients, who responded to treatment and those who did not ( $p = 0.861$ ,  $p = 0.618$  or  $p = 0.293$ , respectively).

Only in one RA patients' treated with adalimumab sera was found a high level of anti-ADA Ab concentration, while no drug trough concentration. Mean concentration of adalimumab clearly differ among RA patients who responded to treatment, and those who were not ( $p < 0.0001$ ).

The concentrations of infliximab and anti-INF Ab in sera were not found for 3 (5.3 %) patients, but due to good efficacy treatment has not been corrected. We found 14 patients with anti-INF Ab, 13 of them had no detectable levels of infliximab. Three patients (5.3 %) with anti-INF Ab had infusion related reactions, 8 (57.1%) had insufficient treatment effect; 3 patients had good clinical response. In 3 patients (5.3 %) with anti-INF Ab, treatment was discontinued, in 3 cases dose was escalated, in 3 biologic drug was changed, and in 5 cases (8.8 %) treatment was not changed (patients' decision). In 3 patients (5.3 %) infliximab and anti-INF Ab levels were undetectable.

In order to know the odds of developing infusion related reactions and TNF $\alpha$  blockers treatment modification in patients with anti-INF Ab, we calculated odds ratio (OR) in 143 evaluated patients. Our data shows that patients with anti-INF Ab have higher odds to have infusion related reaction (OR 5.88 (95% CI 1.04–33.28)), to change one to another TNF $\alpha$  blocker (OR 11.43 (95% CI 1.08–120.93)), to stop treatment with infliximab (OR 9.28 (95% CI 1.64–52.52)). Odds to increase INF dose (OR 2.07 (95% CI 0.43–9.96)), to respond to treatment (OR 0.8 (95% CI 0.19–3.38)) and to continue INF with the same dose (OR 0.2 (95% CI 0.05–0.69)) were not statistically significant.

## **DISCUSSION**

Treatment with biologic drugs at VUH SC Rheumatology Center was started in 2000. First the clinically severe patients were treated with infliximab, later other BD (etanercept – since 2005, adalimumab – since 2006, rituximab – since 2009, tocilizumab – since 2010) were prescribed for the patients. Golimumab and pegylated certolizumab have not yet been reimbursed in Lithuania. Because of the method used for the purchase biologic drugs in Lithuania (when centrally procured the drug of lowest cost is chosen) doctors have no different options when prescribing BD to a new AA patient, therefore the number of patients differs in BD groups (etanercept as the first BD was prescribed to more than a half patients).

Treatment with BD statistically significantly reduced the disease activity of patients with RA and PsA (measured by DAS28 values) already after the first 3 months of treatment and this finding very well corresponds to the literature data. JIA patients' disease activity (DAS28) did decrease, but this was not statistically significant (probably because of small patient sample groups). Disease activity of AS patients (according to BASDAI) decreased significantly (while assessing ASDAS values we did not find a statistically significant decrease). BASDAI more reflects the rapidly changing symptoms of the illness, while ASDAS reflects not only disease activity, but also functional

disability aspects. Therefore, according to our data, the more sensitive method to evaluate changes in the degree of inflammation is BASDAI.

During the study we did not find any significant differences with regard to effectiveness while treating autoimmune arthritis patients with different BD. This fact also matches data found in scientific literature. It should be emphasized that the use of methotrexate had no critical influence on the treatment with BD results in AA patients. It may be due to the fact that most of the observed patients used quite small doses of methotrexate (5 – 15 mg a week) and the doses did not vary significantly among the groups.

Due to a positive effect, over a half of patients suffering from RA, AS, JIA and 40.3% of those with PsA continued their treatment with first BD for more than a year. Literature sources indicate that up to 84.7 % of SpA patients and up to 65.4 % of RA patients continued their treatment with the first TNF $\alpha$  blocker, however the duration of treatment in studies did not exceed one year. Up to half of SpA patients continued their treatment with one of the TNF $\alpha$  blockers up to 24 months. In our centre infliximab prescribed in initial small doses was continued for 12.5 % RA, for 20.5 % – AS and for 3.4 % PsA patients. It is statistically significant that more patients continued their treatment with adalimumab (33.3 % RA, 28.6 % AS, none PsA and 33.3 % JIA patients) and etanercept (78.6 %, 84.2 %, 72.2 % and 76.2 %, respectively). According to information found in the literature, there were more patients who continued their treatment with infliximab (more than 70 % RA and more than 60 % SpA patients), however these patients were treated by taking larger doses of the medication (5 kg/mg in SpA group) and duration of the treatment was shorter (up to one person-year). There may be several reasons for shorter treatment persistence in our analyzed patients group while using infliximab in comparison to etanercept and adalimumab – aside from the fact that the drug was taken in smaller doses, anti-INF Ab had been identified more often than for other TNF $\alpha$  blockers, also some patients did not take DMARDs due to various reasons.

While analyzing data of the AA patients treated with various infliximab doses (i.e., < 3 mg/kg and > 3 mg/kg for RA patients; < 3 mg/kg and 3–5 mg/kg for SpA patients), we did not identify any statistically significant differences of treatment effectiveness after 12 and 24 months of treatment. According to the literature, small infliximab doses were effective for 42.2 % – 54 % of AS patients up to 6 months of treatment and for 26.7 % – 63 % of AS patients after 12 months as estimated according to 50 % BASDAI index improvement. Only a few examples that addressed this issue were found in the literature. It should be noted that we analyzed groups of patients whose doses of infliximab varied inconsiderably (especially in SpA group) and that the groups of patients were small. However, our data allow us to propose that for some patients' treatment with small infliximab doses is effective and allows to achieve remission. Since infliximab was the first BD used in VUH SC Rheumatology Center to treat AA patients, they were diagnosed with higher disease activity and higher progression of the disease, therefore it is likely that the treatment outcomes of such

patients should differ from those of the patients who were started treatment with adalimumab and etanercept at a later time. A higher activity of the disease at the beginning of biologic therapy is one of the reasons why some PsA and JIA patients discontinued treatment with infliximab or replaced it with another BD. In the case of all diseases initial average infliximab doses were less than 3 mg/kg of body weight. Such doses especially differ when compared to recommended therapeutic doses in SpA group. In consequence, for some patients, even those with SpA (22.7% AS patients and 3.4 % PsA patients), initial small doses of infliximab were sufficient. Small doses of infliximab are rational based on financial reasons, which is especially relevant in countries with lower economic level.

Our study is the first in Lithuania providing data on economic benefits of biologic therapy. We found that during treatment with BD working capacity was restored for some of the patients. It is noted that compared to data before treatment with BD initiation, already after 12 months of treatment there was a significant decrease in the number of sick days in last 6 months, frequency of sick leave, decrease in need for rehabilitation, physiotherapy, assisting devices used in everyday activities and the other people's help. However, the proportion of patients who had permanent disability remained unchanged. The results match the literature data as it has been determined that biologic therapy reduces the temporary disability while there are no irreversible structural changes and permanent disability. However, in the late stages of the disease, if irreversible changes are present, the effect on temporary is minimal too. The fact that there was no reliable decrease in the number of patients who lost their working capacity in our country is also conditioned by the fact that due to social and economic reasons, even after achieving minimal disease activity and clinical effect, permanent disability continued to be attributed to the patients due to structural lesions and function impairments. It indicates that biologic therapy should be prescribed early in the beginning of the disease while structural impairments have not yet developed.

During the study 386 AA patients were diagnosed with 436 adverse events, most of these emerged for RA patients. Our reviewed literature contained no data about comparing the frequency of AEs in different AA. Nevertheless, our data match the data found in literature, stating that most of the adverse events are infections. During 6 years of the study 6 deaths were registered, only the deaths which were caused by TB and pneumonia were directly linked to the biologic drug (infliximab and etanercept). The remaining 4 deaths were not directly linked to biologic drugs.

During the assessment period, 6 cases of cancer were diagnosed and two patients died due to these diseases. It would be difficult to identify a direct link between the above mentioned diseases and biologic therapy. Literature reviews have not yet defined an exact risk of the development of oncologic diseases to AA patients treated with biologic therapy. It is known that RA itself increases the risk of oncologic diseases whereas in SpA patients such risk is not yet completely known. According to literature, TNF $\alpha$  blockers increase the risk of lymphomas in children with JIA. Positive effect of

rituximab has been proven and the positive effect of tocilizumab is being researched in the oncology.

During the biologic therapy 3 (1.66 %) patients were diagnosed with active TB and 13 (3.37 %) were diagnosed with latent TB. Literature reviews data from regions with very low levels of TB, whereas this disease prevalence in Lithuania is highest in the European Union (57.37 cases / 100,000 residents in 2013). It must also be noted that consensus of pulmonologists and rheumatologists regarding the recommendations for the diagnostics and management of TB in patients before treatment with TNF $\alpha$  blockers was accepted in Lithuania only in 2011. Until then Lithuania followed international recommendations which relied on studies carried out in regions where the prevalence of TB were low or average and therefore were not specifically adapted to our country. The application of this consensus to everyday practice improved the examination of patients for latent and active TB before BD treatment. It also improved observation during biologic therapy: since the adaptation of the consensus back in 2011, in the period of two years not a single case of active TB was diagnosed in VUH SC Rheumatology Center. Admittedly, that tuberculin skin test result may be false negative due to insufficient immune system reaction for the immunosuppressed patients. Also, due to BCG vaccination performed during childhood the tuberculin skin test result may be a false positive.

We determined a poor compatibility of the tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion tests results, literature sources also confirm this data. Therefore in order to minimize the possibility of latent TB misdiagnosis, we recommend to perform both tests for patients who are going to be treated with biologic therapy, as well as obtain a two-way chest radiographs and in the event of uncertainty – a chest CT scan. It should be noted, that many countries have approved national recommendations for the diagnostics and treatment of TB before the prescription of BD; however, data regarding the dynamics of tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion tests during biologic therapy is insufficient. It would be meaningful to plan the evaluation of the dynamics of these two tests which allow identifying TB during treatment with BD.

As a conclusion to clinical part of the study, we should mention several flaws we have not managed to avoid during this study. While setting concrete limits of observation from 1 December, 2007 to 31 December, 2013 we got non-uniform patient' observation periods. It was caused by the fact that during various intervals of observation different amounts of patients were assessed and it undoubtedly influenced the results of the study. We wish to emphasize once more that the data of the patients receiving biologic therapy in VUH SC Rheumatology Center continue to be collected in BIOLIT database and will be examined in future works. Since this study dealt with a considerable amount of clinical, laboratory disease activity, function and other indicators, the data tables in this paper are much too detailed. We rate it as a drawback as well.

*European League Against Rheumatism* recommendations (2013) emphasize that one of topical directions of scientific research is the immunogenicity of BD and its

importance to clinical treatment outcomes. Even though the importance of immunogenicity to biologic therapy is discussed widely, no universally accurate method to determinate the concentrations of drugs and anti-drug Ab have been proposed. In order to evaluate the compatibility of the results of two different methods, we compared the concentrations, measured in two separate laboratories, of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab in blood sera of 145 patients. We determined a good correlation and agreement of TNF $\alpha$  blockers' concentrations results. Even though in some patients' treated with etanercept and infliximab sera trough concentrations of drug and anti-drug Ab were not found, the treatment had not been altered for these patients due to a good clinical effect. In theory, none of the currently existing laboratory methods are able to determine all of the types of anti-drug Ab. Our comparison of concentrations TNF $\alpha$  blockers and anti-drug Ab determined using two separate laboratory methods has some flaws: we did not have control groups of healthy people or patients with especially high trough drug concentrations and therefore we cannot evaluate the sensitivity and specificity of RIA and ELISA methods. However, in our opinion the largest shortcoming is that the concentrations and clinical efficacy were evaluated and compared in patients with different treatment duration.

According to the literature, anti-drug Ab were determined for approximately one third RA patients and for 25 % SpA patients. Studies have shown that chimeric (human-mouse) drugs (for example, infliximab) have a higher chance to cause antibody production. Since anti-drug Ab do not form in every patient, it is likely that the immunogenicity is caused by a few factors associated with the treatment, the patient itself and external factors. According to our data, anti-INF Ab were found for 33.3 % RA patients and for 18.2 % SpA patients. This information matches the data found in the literature. We determined that the formation of anti-INF Ab and anti-ADA Ab is related to a lower clinical efficacy, a higher risk of infliximab infusion reactions and higher risk of treatment modification and treatment with infliximab discontinuation.

We did not manage to identify any statistically significant differences of TNF $\alpha$  blockers' concentrations between patients responding and not responding to treatment. According to the literature, serum trough drug concentration strongly correlates with clinical response. Our data can be justified by the fact that the groups of patients were relatively small, and that the patients took small doses of infliximab. According to literature, treatment with small infliximab doses may increase the risk of anti-INF Ab formation in RA and SpA patients. However, we did not found differences between our patients who were treated with smaller infliximab doses and detected anti-INF Ab compared to data in the literature, when patients were treated with adequate therapeutic doses. Consequently, it can be assumed that immunogenicity is not necessarily associated to BD doses. In order to confirm this theory, additional and larger studies should be carried out.

According to various authors infusion related reactions are observed for up to 16 % of patients with anti-INF Ab; injection site reactions occur less often in those

with subcutaneous BD. It was determined that anti-ADA Ab were found in up to 85 % of patients who discontinued their treatment with adalimumab. According to *Wolkin* and colleagues, the frequency of infusion reactions is connected to the dose. Infusion related reactions most likely occur due to the fact that during treatment with small infliximab doses anti-INF Ab develop in an organism and immune complexes are formed. Out of all of the patients we observed, infusion reactions which can be associated with anti-INF Ab occurred only for 5.3 % of them. Infliximab infusion related reactions occurred for a total of 10 (7.0 %) patients of all, however immunogenicity studies were not carried out in 7 patients, and therefore we cannot make any conclusions regarding their connection to anti-INF Ab.

According to literature, ETA is least immunogenic, most likely due to its molecular structure. We did not determine anti-ETA Ab for any of patients treated with etanercept in our centre. Four of these patients did not have trough drug concentrations, however, the clinical effect was good and treatment was not changed.

We examined all 25 patients treated with adalimumab, only one serum in RA patient with anti-ADA Ab and not detectable drug concentrations was found. We also discovered an average negative correlation between the use of methotrexate and the formation of anti-ADA Ab. According to other authors, anti-ADA Ab are found from 6 % to 87 % of patients. It has been proven that if adalimumab is taken along with methotrexate anti-ADA Ab are found only for up to 1% of patients. Since the number of AA patients in our study is relatively small, propositions regarding the tendencies of anti-drug Ab formation, effectiveness and adverse events can only be made with regard. Immunogenicity studies continue to be carried out in VUH SC Rheumatology Center, in the future we plan to provide additional and more comprehensive results.

Our study is the first in Lithuania assessing the effectiveness of biologic therapy for AA patients, adverse events and prevention of them, consequences of the formation of anti-drug Ab in real clinical practice of a rheumatologist. Our research show that immunogenicity studies can be very beneficial for everyday practice. They help to prescribe individualized treatment for patients, understand the reasons of BD inefficacy, development of AEs, as well as select specific BD, to determine its' dosage and intake intervals and to choose concomitant medications. The use of such analysis would shorten period of inefficient treatment and reduce its' costs for the patients.

Our study presents the experience of an economically less well developed country which has a specific system for prescribing biologic therapy, as well as attempts to give scientific reasoning to latent TB diagnostics and immunogenicity issues. The data of this research cannot be directly compared with data of biologic therapy registers and databases as rheumatologists in Lithuania do not have a direct ability to prescribe an individualized treatment.

Despite the mentioned weaknesses, the data of this study might be useful to doctors, patients, health system organizers, pharmacists and scientists studying the peculiarities of prescribing biologic therapy (especially small dosage therapy, treatment

modifications), adverse events (especially rare ones) and issues of diagnosing TB in a population with high prevalence, as well as the importance of immunogenicity for the treatment of AA patients.

## CONCLUSIONS

1. Autoimmune arthritis treatment with biologic drugs (adalimumab, etanercept, infliximab, rituximab) is effective: statistically significant decrease in disease activity has been achieved after 3 months of treatment and remained up to 24 months, no advantages that one biologic drug might have over others were determined. No correlation between the disease activity and usage of methotrexate (evaluation carried out after 3, 6, 12, 18 and 24 months of treatment) were found. No significant differences of treatment effectiveness while prescribing different infliximab doses were found.

2. Due to a positive clinical and laboratory effect, more than a half rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and juvenile idiopathic arthritis patients and 40.3 % psoriatic arthritis patients continued their treatment with the first biologic drug for up to 24 months. In the case of rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and ankylosing spondylitis patients the main reason for treatment with first biologic drug modification was an insufficient treatment effect, in juvenile idiopathic arthritis patients – adverse events.

3. The number of sick leave days, the frequency of sick leaves and the need for rehabilitation, physiotherapy and help from other people significantly decreased in rheumatoid, psoriatic and juvenile idiopathic arthritis patients after 12 months of biologic therapy; in ankylosing spondylitis patients – after 24 months. No statistically significant changes regarding long – term disability were found.

4. 71.3 % of all adverse events that developed during treatment with biologic drugs were mild or moderate. In most cases they resolved with no consequences. Most of the adverse events were infections. Due to adverse events 19.7 % patients discontinued biologic therapy, and for 49.3 % of autoimmune arthritis patients treatment was temporarily suspended. Most of adverse events developed for rheumatoid arthritis patients. During biologic therapy 4.1 % of the patients were diagnosed with tuberculosis. The highest number of cases of tuberculosis for 1000 patient-years was discovered among patients treated with adalimumab, the lowest – among patients treated with infliximab.

5. Low tuberculin skin test and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion test result compatibility was determined (*Cohen* kappa 0.200 (95 % PI 0.031 – 0.368)) in diagnosing latent tuberculosis for autoimmune arthritis patients before initiating TNF $\alpha$  blockers.

6. While comparing serum concentrations of TNF $\alpha$  blockers using immunofluorescent methods, good correlation and agreement of methods was identified while determining adalimumab, etanercept and infliximab concentrations. The



correlation of results of determined anti-infliximab antibodies concentrations using immunofluorescent method and radioimmunoassay was good, but agreement was not found.

7. Anti-drug antibodies which develop during treatment with infliximab were related to loss of clinical effect, increased frequency of infusion reactions as well as secondary treatment inefficacy and modification of treatment. Anti-drug antibodies which developed during treatment with adalimumab are linked to attenuation of clinical effect.

## **PRACTICAL RECOMMENDATIONS**

1. Biologic drug, its dosage, prescription tactics of methotrexate or other disease modifying medications must be selected individually for each autoimmune arthritis patient.

2. Since biologic therapy is effective and protects from permanent disability and functional disability, it is advisable to prescribe biologic therapy when the disease is active and before development of structural damage.

3. Questions dealing with biologic therapy' adverse events, connected symptoms, consequences and tactics for biologic drug use when adverse events occur should be added to residency and training programs for general practitioners, rheumatologists, orthopedic surgeons, pulmonologists, infectologists, gastroenterologists and other doctors.

4. We recommend Lithuanian Rheumatologists Association and associations of pulmonologists of the country to review the "Recommendations for the prevention and management of tuberculosis assigning tumor necrosis factor alpha inhibitors: a consensus of Lithuanian pulmonologists and rheumatologists recommendations for the and update them including mandatory testing for tuberculosis using two methods: tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -interferon secretion before prescribing TNF $\alpha$  blockers.

5. If the effect of biologic therapy is lost, it is advisable to examine the concentrations of biologic drug and anti-drug antibodies and use the results of such assessment to carry out further modifications regarding biologic drug dosage or replacement with another drug.

6. It is recommended to continue scientific studies which deal with issues of immunogenicity of biologic drugs. Once the broad studies are complete and statistically reliable results are obtained, it is advisable that Lithuanian Rheumatologists Association deliberate a proposal addressed to structures responsible for health care planning to include the determination of concentrations of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug antibodies into the mandatory observation plan of autoimmune arthritis patients treated with biologic drugs.

7. Since literature lacks sufficient data of tuberculin skin and stimulated  $\gamma$ -

interferon secretion tests changes during biologic therapy it is beneficial to continue studies dealing with peculiarities of tuberculosis diagnostics for patients already being treated with biologic drugs.

## PUBLICATIONS

1. Arštikytė I, Vitkus D, Prodan A, Butrimienė I, Venalis A. Detection of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug's antibodies levels: a comparison of two commercially available assays. *Laboratorinė medicina*. 2014; t. 16; 4(64): 172-180.
2. Arštikytė I, Kaplerytė G, Butrimienė I. Autoimmune inflammatory rheumatic diseases and benefit of vaccination. *Sveikatos mokslai*. 2014; 24(6):100-104.
3. Arstikyte I, Butrimiene I, Petrulioniene A , Venalis A. A rare kind of lymphoma in a patient on treatment with two different biological agents. *Arch Rheumatol*. 2015; 30(1):75-78. Online first: doi: 10.5606/ArchRheumatol.2015.4383.
4. Arstikyte I, Kapleryte G, Butrimiene I. Venalis A. Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with TNF $\alpha$  blockers in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *BioMed Research International*. 2015; Article ID 604872, 10 pages. Online first: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/604872>.
5. Arštikytė I, Butrimienė I, Venalis A. Results of observational study on biologic therapy for the treatment of autoimmune arthritis (data from the Lithuanian database of biologic therapy of rheumatic diseases). *Medicinos teorija ir praktika*. 2015; 21(3.2):390-405. doi: 10.15591/mtp.2015.063.

## POSTERS

1. Sakalyte R, Arstikyte I, Venalis A, Butrimiene I. Incidence of infectious complications in rheumatic patients treated with biologics in Vilnius University, Rheumatology centre. June 14, 2014, Paris, France, Annual European Congress of Rheumatology. Poster presentation, abstrakt no. SAT0084.
2. Arstikyte I, Butrimiene I, Zablockis R, Venalis A. The value of the QuantiFERON TB Gold test in the identification of latent tuberculosis in rheumatic patients before treatment with TNF- $\alpha$  blockers in Vilnius University Hospital Santariskiu Clinics. September 22, 2014, Stockholm, Sweden, Scandinavian Congress of Rheumatology. Abstract No. PP155. *Scan J Rheumatol*. 2014; 43(s127):44-45.
3. Punceviciene E, Arstikyte I, Butrimiene I, Venalis A. Detection of TNF $\alpha$  blockers and anti-drug's antibodies levels: a comparison of two commercially available assays. June 13, 2015, Roome, Italy, Annual European Congress of Rheumatology. Poster presentation, abstrakt no. SAT0604.

## ORAL PRESENTATIONS

1. 6 years of experience with TNF blockers in Lithuania. 4<sup>th</sup> Meeting of young rheumatologist across Europe (MYRACE). January 18, 2008, Reichenau, Austria. Abstract No. AB08. *Joint Bone Spine*. 2008; 75 (2): 245.
2. What kind of patients are target of biologic therapy? Vilnius Seminars of Rheumatology/18: prospects in the treatment of systemic autoimmune diseases. November 25, 2011, Vilnius, Lithuania.

## SUMMARY IN LITHUANIAN

### BIOLOGINĖS TERAPIJOS TAIKYMAS PACIENTAMS, SERGANTIEMS AUTOIMUNINIAIS ARTRIT AIS

#### SANTRUMPOS

Ak – antikūnai

Anti-ADA Ak – antikūnai prieš adalimumabą

Anti-ETA Ak – antikūnai prieš etanerceptą

Anti-INF Ak – antikūnai prieš infliksimabą

ASDAS – ankilozinio spondilito ligos aktyvumo indeksas (angl. *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*)

BASLAI – Bath'o ankilozinio spondilito ligos aktyvumo indeksas

BIOLIT – Lietuvos reumatinių ligų biologinės terapijos bazė

BV – biologiniai vaistai

CRB – C reaktyvus baltymas

DAS28 – ligos aktyvumo indeksas, vertinant 28 sąnarius (angl. *Disease Activity Score-28*)

ELISA – imunofermentinis metodas (angl. *Enzyme-Linked Immunosorbent assay*)

ENG – eritrocitų nusėdimo greitis

ICC – intraklasinės koreliacijos koeficientas

IL – interleukinas

INF – interferonas

IQR – tarpkvartilinė reikšmė (angl. *interquartile range*)

Md – mediana

NR – nepageidaujami reiškiniai

PI – pasikliautiniai intervalai

RIA – radioimuninė precipitacija

SN – standartinis nuokrypis

ŠS – šansų santykis

TNF $\alpha$  - naviko (angl. *tumor*) nekrozės faktorius alfa

VAS – vizualinės analogijos skalė

VUL SK – Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikos

QFT – stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo tyrimas (angl. *QuantiFeron TB Gold*)

#### ĮVADAS

Autoimuniniai artritai (reumatoidinis artritas, ankilozinis spondilitas, psoriazinis artritas, juvenilinis idiopatinis artritas) – ligų grupė, kurios gali skirtis savo

klinikiniu pasireiškimu, tačiau panašios savo išėjimais. Jų metu pažeidžiami ne tik sąnariai, bet ir kiti organai ir organų sistemos. Nors etiopatogenetiniai mechanizmai yra labai sudėtingi ir iki šiol nėra iki galo išaiškinti, visų šių ligų patogenezėje dalyvauja naviko (angl. *tumor*) nekrozės faktorius  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), interleukinas (IL)-1, IL-6, IL-17, IL-23, IL-15, IL-12, IL-22, IL-18, interferonas- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ) bei kiti citokinai. Šių ligų paplitimas pasaulio šalyse skiriasi: reumatoidiniu artritu serga iki 1,0 %, ankilozinium spondilitu – iki 0,5 %, psoriazinium ir juveniliniu artritu – apie 0,1 % populiacijos. Šios ligos yra susijusios su padidėjusiu trumpalaikiu ir ilgalaikiu nedarbingumu ir neįgalumu. Sergamumas lydinčiomis ligomis (ypač širdies ir kraujagyslių) bei jų sąlygotas mirtingumas sergantiems autoimuniniais artritais yra didesnis palyginti su bendra populiacija.

Maždaug prieš dvidešimt metų tiksli diagnozė ankstyvose autoimuninio artrito stadijose buvo daugiau svarbi akademinium, nei klinikiniu požiūriu. Ligos pradžioje pacientai buvo gydomi nesteroidiniais vaistais nuo uždegimo, būklei blogėjant palapsniui gydymui buvo skiriami gliukokortikosteroidai ir ligą modifikuojantys vaistai. Tokia gydymo taktika sumažindavo uždegimą, bet neduodavo ilgalaikių ligos remisijų. Daugiau nei prieš 15 metų klinikinėje praktikoje pradėtas naudoti pirmasis biologinis vaistas – infliksimabas, vėliau pradėti naudoti ir kiti biologiniai vaistai (BV). Jie labai veiksmingai mažina ligos požymius ir apsaugo nuo sąnarių struktūrinių pažeidimų progresavimo, kartu mažindami neįgalumo dėl autoimuninių artritų lygį. Klinikinis poveikis ir racionalus gydymo tęsimas ar nutraukimas turi būti sprendžiami individualiai kiekvienam pacientui. Iki šiol trūksta duomenų apie ilgalaikį (ilgesnio nei 5 metų laikotarpio) biologinės terapijos saugumą kasdieninėje praktikoje ir nenutrūkstamo gydymo konkrečiu vaistu trukmę. Siekiant panaikinti ilgalaikio stebėjimo duomenų stygių kasdieninėje praktikoje, nuo 1996 m. pasaulyje pradėti kurti biologinių vaistų registrai ir duomenų bazės. Lietuvos reumatinių ligų biologinės terapijos duomenų bazė (BIOLIT) pradėjo veikti 2007 m. gruodžio 1 d.

Kadangi net apie trečdalis pacientų gydymas pirmuoju biologiniu vaistu būna nepakankamai efektyvus arba gydant efektas išsenka, todėl literatūroje vis plačiau nagrinėjamos gydymo biologiniais vaistais pirminio ir antrinio neefektyvumo priežastys. Vienas iš galimų veiksnių, susijusių su efektyvumo praradimu yra imunogeniškas – antikūnų susiformavimas prieš skiriamus monokloninius antikūnus (t.y. prieš biologinį vaistą susiformuoja antikūnai (Ak)). Visgi išlieka neaiški šių vaistų dozių didinimo ar vaisto skyrimo intervalų trumpinimo reikšmė, kadangi į ankstesnius tyrimus su tokio pobūdžio dozavimo keitimais imunogeniško tyrimai nebuvo įtraukti. Terapinės vaistų koncentracijos ir imunogeniško tyrimai kasdieninėje praktikoje galėtų optimizuoti gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais, sumažinti neefektyvias išlaidas įsigyti šiems medikamentams. Pasaulyje biologinių vaistų ir antikūnų prieš juos koncentracijoms nustatyti naudojami skirtingi tyrimo metodai. Dažniausiai nustatant antikūnų prieš vaistus koncentracijas yra naudojami imunofermentinis (angl. *enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) ir radioimuninis metodai (angl. *radioimmunoassay*, RIA).

Būtina pabrėžti, kad biologinių vaistų ir antikūnų prieš juos nustatymo metodų pritaikymas klinikinėje praktikoje nėra standartizuotas, taip pat nėra nė vieno universalaus metodo, galinčio nustatyti visas antikūnų prieš vaistus klases ir subtipus.

Pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais ir gydomiems TNF $\alpha$  blokatoriais, būdinga padidėjusi tikimybe susirgti tuberkulioze bei latentinės tuberkuliozės reaktyvacijos rizika. Dėl netipiškos ligos pasireiškimo lokalizacijos (t.y. daugiau nei 60 % atvejų nustatoma ekstrapulmoninė forma), o taip pat dėl didelio tuberkuliozės paplitimo (2013 m. duomenimis sergamumas buvo 57,37 atvejai / 100 000 gyventojų) mūsų šalyje, ši problema yra itin aktuali. 2011 m. buvo patvirtintos tuberkuliozės prevencijos ir gydymo rekomendacijos skiriant TNF $\alpha$  blokatorius (bendras Lietuvos pulmonologų ir reumatologų sutarimas), kurios padėjo specialistams optimizuoti latentinės tuberkuliozės diagnostiką ir gydymą prieš skiriant imunosupresinę terapiją autoimuniniais artritais sergantiems pacientams. Literatūroje nagrinėjama odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono ( $\gamma$ -INF) išskyrimo mėginių reikšmė diagnozuojant latentinę tuberkuliozę imunosupresuotiems pacientams, tačiau dauguma tyrimų atlikta žemo tuberkuliozės paplitimo šalyse, todėl šie duomenys negali būti pilnai pritaikomi didelio šios ligos paplitimo regionuose.

**Darbo mokslinis naujumas.** Šis tyrimas yra pirmasis Lietuvoje, kuriuo nagrinėjami realios klinikinės reumatologų praktikos duomenys apie biologinių vaistų taikymo ypatumus (vaistų dozavimo, keitimų, metotreksato skyrimo įtaką klinikiniam efektui, saugumui, antikūnų prieš TNF $\alpha$  blokatorius susidarymą). Dauguma publikuotos pasaulinės literatūros nagrinėja gydymo biologiniais vaistais rezultatus pacientų, turinčių žymiai trumpesnę ligos trukmę, mažesnę ligos aktyvumą ir rentgenologinio pažeidimo lygį. Ypač pabrėžtina, kad mūsų atliktas tyrimas apima autoimuniniais artritais sergančių pacientų, kurių gydymas biologine terapija buvo pradėtas esant ypač aktyviai ligai arba jau esant toli pažengusiems radiologiniams ligos požymiams, duomenis. Tai vienas pirmųjų darbų reumatologijoje, palyginantis imunogeniškumo nustatymo skirtingus metodus klinikinėje praktikoje ir įvertinantis imunogeniškumo pasekmes pacientams, gydytiems skirtingais biologiniais vaistais ilgą laiką. Mūsų darbo išskirtinumas yra tuberkuliozės klausimo nagrinėjimas pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais prieš paskiriant ir gydant TNF $\alpha$  blokatoriais didelio tuberkuliozės paplitimo valstybėje.

**Darbo tikslas** – įvertinti biologinės terapijos vaistų efektyvumą, saugumą ir šių vaistų sąlygotą imunogeniškumą gydant autoimuniniais artritais sergančius pacientus kasdienėje reumatologo praktikoje.

#### **Darbo uždaviniai:**

1. Įvertinti biologinių vaistų skyrimo, dozavimo bei sintetinių ligą modifikuojančių vaistų vartojimo ypatumus autoimuniniais artritais sergantiems pacientams kasdienėje reumatologo praktikoje.

2. Išanalizuoti biologinių vaistų ir jų dozių keitimus bei keitimų priežastis.
3. Įvertinti pacientų gydomų biologiniais vaistais fizinio neįgalumo ir darbingumo dinamiką gydymo metu.
4. Nustatyti dažniausiai pasitaikiusius nepageidaujamus reiškinius gydant biologiniais vaistais autoimuniniais artritais sergančius pacientus.
5. Išnagrinėti tuberkuliozės diagnostikos ir gydymo ypatumus prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais.
6. Palyginti dviejų skirtingų laboratorinių metodų naudą, nustatant TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijas pacientų kraujo serume.
7. Įvertinti imunogeniškumo, kaip vienos iš gydymo TNF $\alpha$  blokatoriais antrinio neefektyvumo priežasčių, reikšmę.

**Darbo praktinė reikšmė** – nustatytas taikyto gydymo skirtingais biologiniais vaistais sergantiesiems autoimuniniais artritais efektyvumas ir saugumas, įvertinta efektyvaus gydymo išsilaikymo trukmė, gydymo keitimo ir nutraukimo priežastys. Nustatyta TNF $\alpha$  blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijų įtaka gydymo efektui ir galimiems nepageidaujamiems reiškiniams, patikslinta imunogeniškumo tyrimų vertė nustatant antrinio gydymo neefektyvumo priežastis. Palygintas dviem skirtingais metodais nustatytų TNF $\alpha$  blokatorių ir antikūnų prieš vaistus koncentracijų rezultatų atitikimas. Įvertintas latentinės tuberkuliozės diagnostikai naudojamų dviejų testų (odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo) rezultatų suderinamumas ir ištyrimo dėl latentinės tuberkuliozės prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais ypatumai.

#### **Ginamieji teiginiai:**

1. Gydant TNF $\alpha$  blokatoriais ankilozinu spondilitu, psoriaziniu artritu, juveniliniu idiopatinu artritu sergančius, o taip pat gydant TNF $\alpha$  blokatoriais ir rituksimabu reumatoidiniu artritu sergančius pacientus, klinikinis gydymo efektas yra panašus. Gydymo infliksimabo tiek mažesnėmis, tiek terapinėmis dozėmis efektyvumas buvo panašus.
2. Gydymas pirmuoju biologiniu vaistu efektyvus apie pusę autoimuniniais artritais sergančių pacientų. Pagrindinė gydymo keitimo priežastis – nepakankamas efektas sergantiesiems reumatoidiniu, psoriaziniu artritu ir ankilozinu spondilitu, o nepageidaujami reiškiniai – sergantiesiems juveniliniu idiopatinu artritu.
3. Autoimuniniais artritais sergančių pacientų, 24 mėnesius gydomų biologiniais vaistais, judėjimo funkcijos nepakankamumas mažėja, gerėja jų darbingumas, tačiau nesikeičia nustatytas nuolatinis neįgalumas.
4. Gydymas biologiniais vaistais yra pakankamai saugus, tačiau būtinas budrumas dėl rimtų infekcijų, tuberkuliozės atsiradimo ar reaktyvacijos bei onkologinių susirgimų.

5. Odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo mėginių rezultatų suderinamumas, tiriant dėl galimos latentinės tuberkuliozės autoimuniniais artritais sergančius pacientus, yra žemas, todėl rekomenduotinas pacientų ištyrimo plano prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais tolesnis tikslinimas.
6. Dviejose skirtingose laboratorijose imunofermentiniais metodais nustatytų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų tyrimų rezultatai statistiškai patikimai nesiskiria, todėl bet kuris iš tyrimų gali būti naudojamas kasdieninėje praktikoje. Antikūnų prieš infliksimabą ir adalimumabą nustatymui jautresnis yra radioimuninis metodas.
7. Gydymo infliksimabu eigoje susidarę antikūnai prieš vaistą didina infuzinių reakcijų riziką, mažina gydymo efektyvumą ir didina gydymo keitimo būtinybę. Gydant adalimumabu atsiradę antikūnai prieš vaistą yra susiję su klinikinio efekto išsekimu.

## **DARBO METODIKA**

Lietuvos reumatinių ligų biologinės terapijos duomenų bazėje (BIOLIT) pacientų duomenys buvo pradėti kaupti nuo 2007.12.01., gavus visus reikalingus leidimus (Lietuvos bioetikos komiteto leidimas Nr. 46 ir Vilniaus regioninio biomedicininų tyrimų etikos komiteto leidimas Nr. 158200-14-737-253). Į BIOLIT įtraukti visi autoimuniniais artritais sergantys pacientai (viso 386: 181 reumatoidiniu artritu, 108 ankiloziniu spondilitu, 67 psoriaziniu artritu ir 30 juveniliniu idiopatininiu artritu sergantieji) gydyti biologiniais vaistais Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų (VUL SK) Reumatologijos centre iki 2013 m. gruodžio 31 d.

### **Gydymo biologiniais vaistais efektyvumo vertinimas, nepageidaujamų reiškinių registravimas**

Prieš paskiriant gydymą vienu iš biologinės terapijos vaistų, po 3, po 6 ir vėliau kas 6 mėnesius visą gydymo laikotarpį bei baigiant gydymą biologine terapija buvo pildomi klausimynai: gydytojo, paciento ir nepageidaujamų reiškinių (jei jie buvo pasireiškę) formos. Buvo vertinta: sociodemografiniai duomenys (amžius, lytis, darbingumas ir neįgalumas), antropometriniai duomenys (tiriamųjų ūgis, svoris), atliktos sąnarių operacijos, reabilitacijos, fizioterapijos taikymas per paskutinius 6 mėnesius, autoimuninės ligos diagnozė, jos nustatymo metai, vartojami medikamentai, jų paros dozė (mg), naudojamas BV, jo vartojimo pradžios ir pabaigos datos bei laikotarpis (mėnesiais) nuo gydymo pradžios, pažymimi anksčiau naudoti biologiniai vaistai, paciento skausmo intensyvumo įvertinimas, naudojant 100 mm vizualinės analogijos skalę (VAS), paciento bendrosios sveikatos būklės vertinimo VAS, gydytojo bendro ligos aktyvumo VAS, fizinė negalia vertinta užpildant sveikatos vertinimo klausimyną, apskaičiuoti sutinę ir skausmingi sąnariai, vertinant 60 bei 28 sąnarius. Buvo įvardinti tyrimo metu pasireiškę nepageidaujami reiškiniai, jų pasireiškimo laikas, trukmė,



sunkumo laipsnis, naudotos priemonės, išeitys, nepageidaujamo reiškinių pažeista organų sistema. Buvo atlikti kraujo tyrimai: eritrocitų nusėdimo greitis (ENG) (mm/val.), C – reaktyviojo baltymo (CRB) koncentracija, žmogaus leukocitų antigenas B27 (sergantiems spondiloartropatijomis), reumatoidinis faktorius ir antikūnai prieš ciklinį citrulinintą peptidą (sergantiems reumatoidiniu artritu). Vertinti prieš skiriant gydymą atlikti radiologiniai periferinių ir kryžmeninių klubo sąnarių sąnarių tyrimų rezultatai.

Papildomai sergantiejiems spondiloartropatijomis vertinta: stuburo paslankumas (priekinis pasilenkimas, Šobero testas, atstumas tarp pakaušio ir sienos), spaudimui ir (ar) prisilietimui skausmingų vietų skaičius – entezopatijų indeksas (angl. *Maastricht Ankylosing Spondylitis Enthesitis Score*), krūtinės ląstos ekspansijos, Bath'o ankilozinio spondilito funkcinį indekso klausimynas, Bath'o ankilozinio spondilito ligos aktyvumo indekso (BASLAI) klausimynas, ankilozinio spondilito ligos aktyvumo indeksas (angl. *Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score*, ASDAS). Sergantiejiems reumatoidiniu, psoriaziniu (esant periferinių sąnarių pažeidimui) ir juveniliniu idiopatininiu artritu papildomai apskaičiuotas ligos aktyvumo indeksas, vertinant 28 sąnarius (angl. *Disease Activity Score 28*, DAS28).

### **Odos tuberkulino mėginio ir stimuliuoto $\gamma$ -interferono išskyrimo testo suderinamumas**

Atliktas retrospektyvinis (momentinis skerspjūvio) tyrimas norint įvertinti stimuliuoto  $\gamma$ -INF išskyrimo testo (*QuantiFeronTB Gold in Tube*) ir odos tuberkulino mėginio (naudojant 5 tuberkulino vienetus) rezultatų suderinamumą pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais. Buvo peržiūrėti BIOLIT duomenų bazėje įtrauktų pacientų duomenys ir rasti 297 pacientai, kuriems prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais buvo atlikti stimuliuoto  $\gamma$ -INF išskyrimo testas, odos tuberkulino mėginys ir dviejų kryptinių krūtinės ląstos rentgenogramos. Lyginant odos tuberkulino mėginio ir stimuliuoto  $\gamma$ -INF išskyrimo testo diagnostinę vertę, skaičiuotas *Cohen kappa* koeficientas.

### **Dviejų skirtingų metodų, naudojamų nustatant TNF $\alpha$ blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijas kraujo serumuose, palyginimas**

Dviejų skirtingų metodų, naudojamų nustatant TNF $\alpha$  blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijas, palyginimui naudojome 145 pacientų kraujo serumus. Šiai analizei atrinkome tik tuos pacientus, kurių duomenys jau buvo sukaupti BIOLIT duomenų bazėje bei kraujo serumų mėginiai buvo užšaldyti dviejuose mėgintuvėliuose. Kraujo mėginiai pacientui buvo imami tik vieną kartą šio tyrimo metu, remiantis abiejų tyrimo metodikų kūrėjų („*Sanquin Diagnostics*“ ir „*Progenika*“) rekomendacijomis. Kraujo serumai, surinkus visų tirtųjų pacientų mėginius, buvo siunčiami į dvi skirtingas laboratorijas: Vilniaus universiteto ligoninės Santariškių klinikų Laboratorinės medicinos centrą, kur koncentracijos buvo nutatytos naudojant ELISA principu paremtais rinkiniais, pagamintais „*Progenika*“ kompanijoje (Derio,

Ispanija) griežtai laikantis gamintojo instrukcijų; bei į „Sanquin Diagnostics“ monokloninės terapijos laboratoriją (angl. *Laboratory for Monoclonal Therapeutics*, „Sanquin Diagnostics“, Amsterdamas, Olandija), kur TNF $\alpha$  blokatorių koncentracija buvo nustatoma naudojant ELISA metodą, antikūnų prieš vaistus koncentracijos nustatytos RIA metodu. Laboratorijos, atlikusios tyrimus, neturėjo jokios demografinės ir klinikinės pacientų informacijos, joms buvo pateikti tik numeriais užkoduoti kraujo serumai, paskirsčius juos pagal vartojamą TNF $\alpha$  blokatorių.

### **TNF $\alpha$ blokatorių ir antikūnų prieš juos koncentracijų ryšio su klinikinėmis išėtimis nustatymas**

TNF $\alpha$  blokatorių ir antikūnų prieš juos reikšmė klinikiniam gydymo efektyvumui buvo vertinta papildomai analizuojant 143 reumatoidiniu artritu ir spondiloartropatijomis sergančių pacientų, kurių duomenys buvo sukaupti BIOLIT duomenų bazėje, klinikiškus duomenis. Kraujo mėginiai pacientui imti vieną kartą ir tuo metu pildytos gydytojų ir pacientų formos, vertinti laboratoriniai (ENG, CRP) rodikliai, pasireiškusios nepageidaujamos reakcijos, klinikiškus duomenys: DAS28 – sergantiems reumatoidiniu artritu ir periferine psoriazinio artrito forma, ASDAS ir BASLAI – sergantiems ankiloziniu spondilitu ir ašine psoriazinio artrito forma. Kraujo mėginiai buvo paimti 27 adalimumabu, 63 etanerceptu ir 55 infliksimabu VUL SK Reumatologijos centre gydytiems pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais.

### **Duomenų statistinė analizė**

Statistinė duomenų analizė atlikta statistinėmis programomis: „SPSS17“, „Excel 2007“, „MedCalc 14.10.2.0“ (nemokama bandomoji versija). Tyrimo duomenys analizuoti aprašomuoju, lyginamuoju ir veiksnių statistiniais metodais. Tolydiems dydžiams vertinti taikytos šios statistinės charakteristikos: vidurkis, standartinis nuokrypis (SN), mediana (Md), tarpkvartilinė reikšmė (IQR). *Kolmogorov – Smirnov* testu patikrintas kiekybinių dydžių normalusis skirstinys. Kai imties dydis pakankamas ir skirstinys normalus, dviejų grupių vidurkių skirtumai nepriklausomoms imtims buvo lyginti *Student* (t) kriterijumi. Požymių dažnis reiškiamas procentais. Hipotezės apie požymių tarpusavio priklausomumą buvo tikrinamos naudojant  $chi^2$  kriterijų. Mažų imčių ( $n < 20$ ), nparametrinių dydžių ar neatitinkantys normaliojo skirstinio sąlygos vidurkių skirtumai buvo lyginti naudojant *Mann – Whitney U* testą. Kelių grupių vidurkiai ir jų dispersijos buvo lygintos naudojant vienfaktorinės dispersinės analizės. Nepriklausomų veiksnių įtaka kintamajam įvertinta taikant logistinės regresijos metodą. Nelygių dispersijų atveju naudota *Welch* testo statistika. Vertinant požymių priklausomumą naudotas *Pearson* 'o koreliacijos koeficientas (r). Ranginiams dydžiams bei mažoms imtims naudotas *Spearman* 'o koreliacijos koeficientas (r). Vertintas šansų santykis (ŠS) ir jo 95 % pasikliautinis intervalas (95 % PI). *Kaplan–Meier* laiko iki įvykio analizės kreivės buvo taikomos analizuojant gydymo biologiniais vaistais trukmę; skirtumai vertinti naudojant *Mantel-Cox* laikotarpių vidurkių palyginimo metodą. Odos

tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo testų suderinamumui nustatyti naudojome *Cohen kappa* koeficientą. Dviem metodais nustatytų vaistų koncentracija buvo analizuota naudojant *Spearman*'o koreliacijos koeficientą, intraklasinės koreliacijos koeficientą (angl. *intraclass correlation coefficient*, ICC), *Bland–Altman* ir kalno (angl. *mountain*) grafikais, *Passing-Bablok* ir *Deming* regresiją. Duomenys visuose tyrimuose buvo laikomi statistiškai reikšmingais, kai  $p < 0,05$ .

## REZULTATAI

Tyrime dalyvavo 386 VUL SK Reumatologijos centre biologine terapija gydyti pacientai (152 (39,4 %) vyrai; 234 (60,6 %) moterys). Beveik pusė tirtųjų – 181 (46,9 %) sirgo reumatoidiniu artritu, 108 pacientai (28,0 %) – ankiloziniu spondilitu, 67 (17,4 %) – psoriaziniu artritu, 30 pacientų (7,8 %) – juveniliniu idiopatininiu artritu. Gydytas TNF $\alpha$  blokatoriais, kaip pirmaisiais biologiniais vaistais buvo skirtas 375 (97,1 %) pacientams, iš jų 198 (51,3 %) pacientai buvo gydyti etanerceptu, 143 (37,0 %) – infliksimabu, 27 (7,0 %) – adalimumabu; 1 (0,3 %) – golimumabu; 6 (1,6 %) pacientai gydyti pegiliuotu certolizumabu. Kaip pirmasis biologinis vaistas, 8 (2,1 %) reumatoidiniu artritu sergantiems pacientams buvo skirtas rituksimabas ir 3 (0,8 %) – tocilizumabas. Analizuojamu periodu buvo užpildytos 1878 anketos. Pacientai buvo stebimi nuo gydymo biologiniu vaistu pradžios iki 102 mėnesių (mediana – 12 mėnesių (tarpkvartilinė reikšmė (IQR) 3 – 36)).

### Gydymo biologiniais vaistais efektyvumo vertinimas

Statistiškai reikšmingas gydymo efektas, palyginti su nustatytais DAS28 reikšmėmis prieš gydymą, nustatytas jau po trijų gydymo mėnesių ir išlieka tyrimo periodu (t. y. iki 24 mėnesių) gydant reumatoidiniu artritu sergančiuosius biologiniais vaistais. Lyginant gydymo efektą po 3 mėnesių su vėlesniais gydymo laikotarpiais iki 24 mėnesių – statistiškai reikšmingų kitimų nenustatėme. Statistiškai reikšmingų DAS28 reikšmių vidurkių tarp konkrečiu laikotarpiu skirtingais biologiniais vaistais gydytų reumatoidiniu artritu sergančiųjų pacientų grupių nenustatėme. Metotreksato vartojimas neturėjo įtakos DAS28 reikšmėms vertinant po 3, 6, 12, 18 ir 24 mėnesių gydant skirtingais biologiniais vaistais reumatoidiniu artritu sergančiuosius.

Statistiškai reikšmingas BASLAI indekso sumažėjimas buvo nustatytas jau po 3 mėnesių gydant ankiloziniu spondilitu sergančiuosius visais trimis TNF $\alpha$  blokatoriais ir išliko iki 24 mėnesių tyrimo laikotarpio. Statistiškai reikšmingų skirtumų tarp trijų vartotų TNF $\alpha$  blokatorių nenustatėme visais vertintais iki 24 gydymo mėnesių laikotarpiais, išskyrus 18 mėnesį, kai buvo rastas statistiškai reikšmingai geresnis etanercepto efektas. Nustatėme, kad metotreksato vartojimas statistiškai reikšmingai neįtakojė BASLAI rezultatų vertinant po 3, 6, 12, 18 ir 24 mėnesių gydant ankiloziniu spondilitu sergančiuosius skirtingais TNF $\alpha$  blokatoriais.

Ligos aktyvumas statistiškai reikšmingai sumažėjo po 3 mėnesių psoriaziniu artritu sergančiųjų gydymo ir išliko efektyvus vėlesniais vertinimo laikotarpiais iki 24 mėnesių, tačiau lyginant vėlesnius vertinimus su 3 mėnesio rezultatu, statistiškai reikšmingo ligos aktyvumo sumažėjimo nenustatėme. Ligos aktyvumas nesiskyrė tarp skirtingais TNF $\alpha$  blokatoriais gydytų psoriaziniu artritu sergančių pacientų visais vertinimo laikotarpiais, išskyrus 12 mėnesį nustatytas didžiausias DAS28 reikšmes etanercepto ir 18 mėnesį – mažiausias DAS28 reikšmes infliksimabo grupėje. Nustatėme, kad metotreksato vartojimas statistiškai reikšmingai neįtakojo DAS28 rezultatų vertinant po 3, 6, 12, 18 ir 24 mėnesių gydant psoriaziniu artritu sergančiuosius skirtingais TNF $\alpha$  blokatoriais.

Juveniliniu idiopatininiu artritu sergančius pacientus gydant TNF $\alpha$  blokatoriais ligos aktyvumas (DAS28) sumažėjo po 3 mėnesių skiriant TNF $\alpha$  blokatorius. Nustatėme, kad metotreksato vartojimas statistiškai reikšmingai nepaveikė gydymo rezultatų po 3 mėnesių gydant skirtingais TNF $\alpha$  blokatoriais.

### **Gydymo skirtingomis infliksimabo dozėmis efektyvumo palyginimas**

Autoimuniniais artritais sergantiems pacientams buvo skiriamas gydymas pradinėmis mažomis vidutinėmis (SN) infliksimabo dozėmis: 2,838 (0,695) mg/kg kūno svorio reumatoidiniu artritu, 2,544 (0,847) mg/kg ankilozinu spondilitu, 2,498 (0,526) mg/kg psoriaziniu artritu bei 3,125 (0,659) mg/kg juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems pacientams. Infliksimabo dozė buvo didinama 24 (37,5 %) reumatoidiniu artritu, 18 (40,9 %) ankilozinu spondilitu, 14 (48,3 %) psoriaziniu artritu ir 6 (100,0 %) juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems pacientams vidutiniškai (95 % PI) atitinkamai po 1,753 (1,251 – 2,254), 2,358 (1,674 – 3,043), 1,02 (0,532 – 1,509) ir 0,518 (0 – 1,069) asmens gydymo metų. Infliksimabo dozės buvo didintos iki vidutinių (SN) 3,799 (0,671) mg/kg – reumatoidiniu artritu, 3,637 (0,637) mg/kg – ankilozinu spondilitu, 3,604 (0,960) mg/kg – psoriaziniu artritu ir 5,132 (0,186) mg/kg dozių juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems pacientams. Dėl nepakankamo gydymo efekto infliksimabo dozė pakartotinai didinta vienam (1,6 %) reumatoidiniu artritu sergančiajam (iki 4,00 mg/kg), penkiems (11,4 %) ankilozinu spondilitu (iki 4,118 (0,333) mg/kg) ir trims (10,3 %) psoriaziniu artritu sergantiems pacientams (iki 5,025 (0,643) mg/kg dozės).

Nustatėme, kad tiems reumatoidiniu artritu ir ankilozinu spondilitu sergantiems pacientams, kuriems gydymas buvo keistas, pradinės vidutinės infliksimabo dozės buvo patikimai mažesnės. Vidutinės infliksimabo dozės (SN) buvo 2,554 (0,514) reumatoidiniu artritu ir 2,387 (0,427) mg/kg ankilozinu spondilitu sergantiems pacientams, kuriems gydymas buvo keistas (palyginti su atitinkamai 3,005 (0,524) mg/kg ir 2,941 (0,627) mg/kg dozėmis pacientams, kuriems gydymas nebuvo keistas) ( $p < 0,05$ ). Tokios tendencijos neradome psoriaziniu artritu sergančių pacientų grupėje.

Palyginome mažų (< 3 mg/kg) ir didesnių (≥ 3 mg/kg) infliksimabo dozių efektą gydant reumatoidiniu artritu, ankiloziniu spondilitu, psoriaziniu spondilitu sergančius pacientus, kuriems nebuvo keičiamas gydymas infliksimabu. Neradome statistiškai reikšmingų klinikinio efektyvumo kriterijų skirtumų po 12 ir 24 mėnesių gydymo, palyginti tarp pacientų, gydytų skirtingomis infliksimabo dozėmis, grupių .

### **Pacientų gydymo biologiniais vaistais trukmė, gydymo keitimo priežastys**

Pirmuoju biologiniu vaistu gydymą tęsė 95 (52,5 %) reumatoidiniu artritu, 59 (54,6 %) ankiloziniu spondilitu, 27 (40,3) psoriaziniu artritu ir 17 (56,7) juveniliniu idiopatininiu artritu sergantys pacientai šešerių metu tyrimo laikotarpiu. Infliksimabą, kaip pirmąjį biologinį vaistą tęsia 13 (20,3 %) reumatoidiniu artritu, 10 (22,7 %) ankiloziniu spondilitu ir 1 (3,4 %) psoriaziniu artritu sergantis pacientas. Adalimumabą, kaip pirmąjį biologinės terapijos preparatą, tiriamuoju laikotarpiu tęsė 5 (33,3 %) reumatoidiniu artritu ir 2 (28,6 %) – ankiloziniu spondilitu sergantys pacientai. Kaip pirmu biologiniu vaistu etanerceptu tęsė gydymą 63 (75,0 %) reumatoidiniu artritu, 41 (71,9 %) ankiloziniu spondilitu ir 12 (57,1 %) juveniliniu idiopatininiu artritu sergančių pacientų.

69 (38,1 %) reumatoidiniu artritu, 41 (38,0 %) ankiloziniu spondilitu, 29 (43,3 %) psoriaziniu artritu sergančių pacientų bei 8 (26,7 %) juveniliniu idiopatininiu artritu sergančiųjų buvo keičiamas gydymas antruoju biologiniu vaistu. Reumatoidiniu artritu sergantiems pacientams dažniausiai antras pasirinktas vaistas buvo rituksimabas (13,3 % pacientų), ankiloziniu spondilitu ir psoriaziniu artritu sergantiems – infliksimabas (atitinkamai 21,3 % ir 26,9 % pacientų), juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems dažniausiai antras skirtas vaistas buvo adalimumabas (16,7 % pacientų).

Ieškant priežasčių, dėl kurių dažniausiai gydymas buvo keičiamas, nustatėmė, kad nepakankamas efektas buvo statistiškai reikšmingai dažniausia priežastis reumatoidiniu artritu (55 pacientai, 30,4 %), ankiloziniu spondilitu (29 pacientai, 26,9 %) ir psoriaziniu artritu (22 pacientai, 32,8 %) sergantiems pacientams, o juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems dažniausiai gydymas buvo keičiamas dėl nepageidaujamų reakcijų (7 pacientai, 23,3 %).

### **Pacientų darbingumo, neįgalumo, taikytų nemedikamentinių priemonių prieš pradedant gydymą biologiniais vaistais bei gydymo metu dinamika**

Gydant biologiniais vaistais jau po 12 ir po 24 mėnesių, palyginti su rodikliais prieš pradedant gydymą, statistiškai reikšmingai mažėja nedarbingumo dienų per 6 mėnesius, nedarbingumo pažymėjimų išdavimų dažnis, fizioterapijos, kitų žmonių pagalbos poreikis pacientams, sergantiems reumatoidiniu ir psoriaziniu artritu. Ankiloziniu spondilitu sergantiems pacientams reikšmingai po 24 gydymo mėnesių mažėja nedarbingumo pažymėjimų išdavimų dažnis, ergoterapijos poreikis, pagalbinių prietaisų naudojimas. Reikšmingai mažėja laikino nedarbingumo, nedarbingumo dienų per 6 mėnesius pacientams sergantiems juveniliniu idiopatininiu artritu po 12 gydymo mėnesių. Tačiau neradome reikšmingų pacientų, kuriems buvo nustatytas nuolatinis

neįgalumas, taip pat dirbančiųjų pacientų dalies skirtumų autoimuniniais artritais sergantiems pacientams po 12 ir 24 mėnesių gydymo.

### **Nepageidaujami reiškiniai, pasireiškę gydant biologiniais vaistais**

Per 6 tyrimo metus iš viso užregistruoti 436 nepageidaujami reiškiniai (NR), pasireiškę 329 biologiniais vaistais gydytiems pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais. NR automuniniais artritais sergantiems pacientams pasireiškė vidutiniškai po 1,27 (IQR 0,46 – 2,62) asmens gydymo metų nuo gydymo biologine terapija pradžios. Lyginant tarp autoimuninių artritų grupių, dažniausiai NR pasireiškė reumatoidiniu artritu sergantiems pacientams (57,8 % visų nepageidaujamų reiškinių, 617,17 atvejai / 1000 paciento metų). Lyginant tarp pacientų, gydytų skirtingais biologiniais vaistais, dažniausiai NR stebėti pacientams, gydytiems tocilizumabu, adalimumabu ir rituksimabu (atitinkamai 3293,94; 1141,66 ir 1013,27 skaičiuojant 1000 paciento metų).

Įvairios infekcijos buvo dažniausi nepageidaujami reiškiniai, nustatyti 223 atvejais (51,1 %). Infuzinės reakcijos pasireiškė 10 (7,0 %) infliksimabu, 4 (13,8 %) rituksimabu ir 1 (20,0 %) tocilizumabu gydytiems pacientams. Injekcijos vietos reakcijos nustatytos 12 (6,1 %) etanerceptu gydytų pacientų. Adalimumabu ir pegiliuotu certolizumabu gydytiems pacientams tiriamuoju laikotarpiu injekcijų vietų reakcijos nepasireiškė. Vienu atveju nustatytas itin retas NR – odos pseudolinfoma, diagnozuota reumatoidiniu artritu sergančiai pacientei po praeityje taikyto gydymo infliksimabu, kuris buvo pakeistas rituksimabo ir metotreksato deriniu.

Lengvi ar vidutinio intensyvumo NR buvo nustatyti 311 atvejų (71,3 %), sunkūs NR – 27 atvejais (6,2 %). 280 (64,2 %) pacientams NR praėjo be pasėkmių. Dėl nepageidaujamų reiškinių 76 pacientai (19,7 %) visiškai nutraukė gydymą biologine terapija, 216 atvejų (49,3 %) gydymas biologine terapija buvo stabdytas laikinai ir pasibaigus nepageidaujamam reiškiniui buvo atnaujintas

Gydant biologine terapija 16 (4,1 %) autoimuniniais artritais sergančių pacientų pasireiškė tuberkuliozė (TBC): 3 atvejais (0,8 %) buvo diagnozuota – aktyvi TBC, 13 atvejų (3,4 %) – latentinė TBC. Tyrimo laikotarpiu dažniausiai TBC pasitaikė adalimumabu gydytiems pacientams (23,3 atvejo / 1000 paciento metų), rečiausiai – infliksimabu gydytiems pacientams (7,09 atvejo / 1000 paciento metų). Tyrimo laikotarpiu diagnozuoti 6 (1,6%) onkologiniai susirgimai; dėl įvairių priežasčių mirė šeši pacientai (1,6 %).

### **Pacientų ištyrimas dėl latentinės tuberkuliozės prieš skiriant gydymą TNFα blokatoriais**

Norint įvertinti stimuliuoto γ-IFN išskyrimo testo (*QuantiFeronTB Gold in Tube*, QFT) ir odos tuberkulino mėginio (naudojant 5 tuberkulino vienetus) rezultatų suderinamumą pacientams, sergantiems autoimuniniais artritais prieš skiriant gydymą TNFα blokatoriais, buvo išnagrinėti duomenys 297 pacientų, kuriems buvo atlikta: QFT,

odos tuberkulino mėginys ir dviejų krypčių krūtinės ląstos rentgenogramos. Iš 297 tirtųjų, prieš skiriant gydymą biologiniais vaistais latentinė tuberkuliozė buvo nustatyta 15 (10,4 %) reumatoidiniu artritu, 7 (8,5 %) ankiloziniu spondilitu ir 5 (10,4 %) psoriaziniu artritu sergantiems pacientams.

Sutampantys odos tuberkulino ir QFT testo rezultatai nustatyti didžiajai tirtų pacientų daliai (teigiami – 2,02 %, neigiami – 85,2 % atvejų). 9 (3,03 %) pacientams nustatytas teigiamas odos tuberkulino mėginys ir neigiamas QFT testas; 26 (8,8 %) pacientams nustatytas teigiamas QFT testas ir neigiamas odos tuberkulino mėginys. 3 (1,01 %) pacientams nustatyti neapibrėžti QFT ir neigiamas odos tuberkulino mėginys. Lyginant odos tuberkulino mėginio ir QFT diagnostinę vertę, apskaičiuotas *Cohen kappa* koeficientas lygus 0,200 (95 % PI 0,031-0,368), rodantis žemą rezultatų suderinamumą. Todėl norint kuo tiksliau nustatyti latentinės tuberkuliozės buvimą, būtina pasitelkti abu tyrimus.

Visiems pacientams buvo atlikta dviejų krypčių krūtinės ląstos rentgenogramos. 292 (98,3 %) pacientams pakitimų nerasta, 5 atvejais (1,7 %) nustatyti nespecifiniai, galimai latentinei tuberkuliozei būdingi pakitimai. Krūtinės ląstos kompiuterinė tomografija (KT) buvo atlikta 60 (20,2 %) pacientų. Latentinei tuberkuliozei būdingi pakitimai rasti 8 (2,7 %) pacientams, nespecifiniai pakitimai – 16 (5,4 %) pacientų, pakitimų nerasta 36 (12,0 %) pacientams. Bronchoskopija ir bronchoalveolinio lavažo skysčio mikrobiologinis tyrimas buvo atliktas 23 (7,7 %) pacientams, iš jų nė vienu atveju mikobakterijų nebuvo nustatyta. Iš tirtųjų 297 pacientų 28 (9,4 %) atvejais prieš skiriant gydymą biologiniais preparatais taikytas profilaktinis latentinės TBC gydymas rifampicinu ir izoniazidu.

### **Dviejų skirtingų metodų, naudotų nustatant TNF $\alpha$ blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijas, palyginimas**

Siekiant rasti kuo tinkamiausią metodą nustatyti TNF $\alpha$  blokatorių ir antikūnų prieš juos koncentracijas, 145 pacientų kraujo serumai buvo tiriami dviejose skirtingose laboratorijose („Sanguin Diagnostics“ (A metodas) ir VUL SK Laboratorinės diagnostikos skyriuje (B metodas)) bei palyginti nustatytų serumų vaistų ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijų rezultatai.

Siekdami įvertinti tyrimų suderinamumą, buvo analizuota jų koreliacija bei atitikimas. Dviem metodais nustatytų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų rezultatų koreliacija buvo gera: *Spearman*‘o koreliacijos koeficientas  $r = 0,962$  ( $p < 0,0001$ ) nustatant infliksimabo;  $r = 0,915$  ( $p < 0,0001$ ) – adalimumabo ir  $r = 0,938$  ( $p < 0,0001$ ) etanercepto koncentracijas. Geriausias sutapimas (ICC 0,925 (95 % PI 0,875-0,956),  $p < 0,0001$ ) gautas lyginant infliksimabo koncentracijas, nustatytas dviejose skirtingose laboratorijose. Abejotinas sutapimas rastas adalimumabo grupėje (ICC 0,732 (0,387-0,898),  $p < 0,0001$ ), ir sutapimo nerasta etanercepto grupėje (ICC 0,427 (0,195-0,613),  $p < 0,0001$ ). *Bland-Altman*‘o ir „kalno“ (angl. *mountain*) grafiniais metodais nustatytų trijų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų sutapimas yra geras.

Naudojant *Passing–Bablok*’o regresiją nenustatėme A ir B metodais nustatytų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų rezultatų sisteminių skirtumų, tačiau radome proporcinių skirtumų. Nustatyti dideli liekamojo standartinio nuokrypio (RSD) intervalai rodo atsitiktinius skirtumus tarp dviejose laboratorijose nustatytų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų rezultatų. Mūsų tyrime reikšmingas nukrypimas nuo linijinio metodo, naudojant *Cusum* lineariškumo testą, rastas tik tiriant infliksimabo koncentracijas, tačiau etanercepto ir adalimumabo tyrimams nukrypimo nenustatyta. Naudojant *Deming*’o regresiją, nustatėme, kad adalimumabo ir etanercepto koncentracijoms nustatyti naudotų ELISA metodų rezultatai neturi sisteminių, tačiau rasta proporcinių skirtumų. Kadangi apskaičiuotas variacijos koeficientas vertinant infliksimabo koncentracijų reikšmes viršijo 100 %, todėl šio regresijos metodo negalime pritaikyti vertindami jo koncentracijų rezultatų atitikimą.

Siekėme ištirti, ar anti-INF Ak ir anti-ADA Ak koncentracijų, nustatytų ELISA ir RIA metodais, rezultatai atitinka. Nustatėme, kad anti-INF Ak, nustatytų dviem skirtingais laboratoriniais metodais, rezultatai koreliuoja labai gerai (*Spearman*’o koreliacijos koeficientas  $r = 0,918$ ,  $p = 0,0001$ ), anti-ADA Ak rezultatai koreliavo vidutiniškai ( $r = 0,530$ ,  $p = 0,004$ ). Tačiau anti-INF Ak ir anti-ADA Ak, nustatytų dviem skirtingais metodais, rezultatai neatitiko (ICC 0,1814 (95 % PI -0,4108 – 0,525) ir 0,3597 (95 % PI -0,8325 – 0,7763), atitinkamai).

### **TNF $\alpha$ blokatorių ir antikūnų prieš juos reikšmė klinikinėms gydymo išeitims**

Siekiant nustatyti TNF $\alpha$  blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijas kraujo serumuose bei įvertinti jų tarpusavio ryšį buvo analizuoti 143 pacientų, iš kurių 62 sirgo reumatoidiniu artritu ir 81 spondiloartropatijomis (49 ankiloziniu spondilitu ir 32 psoriaziniu artritu), duomenys. Nenustatėme statistiškai reikšmingų etanercepto ir infliksimabo registruojamų koncentracijų skirtumų tarp reumatoidiniu artritu sergančių pacientų, kuriems gautas gydymo efektas, ir tų, kuriems gydymo efekto nebuvo. Analogiška situacija ir spondiloartropatijomis sergančių pacientų, gydytų TNF $\alpha$  blokatoriais tarpe – neradome statistiškai reikšmingų vaistų koncentracijų skirtumų tarp skirtingais preparatais gydytų pacientų, kuriems buvo pasiektas ar nepasiektas gydymo efektas.

Reumatoidiniu artritu sergantiems pacientams, kuriems buvo nustatyti anti-INF Ak (DAS28 vidurkis (SN) 3,46 (1,73)) ir tų, kuriems jų nebuvo rasta (3,3 (1,55)) nenustatėme statistiškai reikšmingo ligos aktyvumo skirtumo ( $p = 0,727$ ). Pacientų, sergančių spondiloartropatijomis ir esant periferinių sąnarių pažeidimams, gydymo efektas reikšmingai nesiskyrė tarp tų, kuriems buvo rasta anti-INF Ak (DAS28 vidurkis (SN) 2,3 (1,39)) ir tų pacientų, kuriems antikūnų nebuvo rasta (2,91 (1,32) ( $p = 0,326$ )). Pacientams, sergantiems spondiloartropatijomis ir esant ašiniam pažeidimui, ligos aktyvumas taip pat nesiskyrė tarp pacientų, kuriems buvo rasta anti-INF antikūnų (ASDAS vidurkis (SN) 4,82 (3,25); BASLAI 5,73 (2,1)) ir tų, kuriems antikūnų nebuvo nustatyta (ASDAS 2,83 (2,31) ( $p = 0,564$ ); BASLAI 2,2 (0,9) ( $p = 0,718$ )). Nenustatėme



reikšmingų anti-INF antikūnų koncentracijų skirtumų, nepriklausomai nuo to, ar gydymas reumatoidiniu artritu ir spondiloartropatijomis sergantiems pacientams buvo efektyvus, ar efektas nebuvo pasiektas.

Tik vienos adalimumabu gydytos reumatoidiniu artritu sergančios pacientės serume nenustatėme vaisto, tačiau radome aukštą anti-ADA antikūnų koncentraciją. Adalimumabo koncentracija statistiškai reikšmingai skyrėsi tarp reumatoidiniu artritu sergančių pacientų, kuriems pasiektas gydymo efektas, ir tų, kuriems jis nepasiektas.

3 (5,3 %) pacientams serume nustatomų infliksimabo ir anti-INF antikūnų koncentracijų nebuvo rasta, tačiau esant geram gydymo efektui, gydymas nebuvo koreguotas. 14 pacientų buvo nustatyti teigiami anti-INF Ak, iš jų 13 pacientų serume nebuvo rasta išmatuojamų vaisto koncentracijų. 3 pacientams (5,3 %), kuriems buvo rasta anti-INF Ak, pasireiškė su infuzija susijusios reakcijos, 8 (57,1 %) – nepakankamas gydymo efektas, 3 pacientams nustatytas geras gydymo efektas. Iš 14 pacientų trims gydymas buvo nutrauktas, 3 – dozė didinta, 3 – keistas kitu BV, 5 (8,8 %) atvejais gydymas nebuvo koreguojamas.

Nustatėme, kad susiformavus anti-INF Ak, atsiranda didesni su infuzija susijusių reakcijų išsivystymo (šansų santykis (ŠS) 5,88 (95 % PI 1,04 – 33,28)), vieno biologinio vaisto keitimo kitu (ŠS 11,43 (95 % PI 1,08 – 120,93)), gydymo infliksimabu nutraukimo šansai (ŠS 9,28 (95 % PI 1,64 – 52,52)). Atrodo, kad infliksimabo dozės didinimo šansai didėja, jei susiformuoja antikūnų, tačiau duomenys yra statistiškai nereikšmingi (ŠS 2,07 (95 % PI 0,43 – 9,96)). Stebima tendencija, kad pacientai, kuriems yra nustatoma anti-INF antikūnų, turi mažesnius šansus tęsti gydymą nekeičiant infliksimabo dozės (ŠS 0,2 (95 % PI 0,05 – 0,69)) ir gauti gerą klinikinį efektą (ŠS 0,8 (95 % PI 0,19 – 3,38)), tačiau statistinio patikimumo šiam teiginiui patvirtinti negavome.

## REZULTATŲ APTARIMAS

Gydymas biologiniais vaistais VUL SK Reumatologijos centre buvo pradėtas 2000 m. Pirmiesiems, ypač kliniškai sunkiems pacientams buvo skiriamas infliksimabas, vėliau pradėti skirti ir kiti BV: etanerceptas – nuo 2005 m., adalimumabas – nuo 2006 m., rituksimabas – nuo 2009 m., tocilizumabas – nuo 2010 m., pastarasis valstybės kompensuojamas tik nuo 2015 m. Golimumabas ir pegiliuotas certolizumabas iki šiol dar nėra kompensuojami valstybės lėšomis. Dėl biologinių vaistų įsigijimo Lietuvos respublikoje tvarkos (kai centralizuotai perkamas tik vienas, tuo metu pigiausias biologinis vaistas) gydytojai naujo vaisto paskyrimui pasirinkimo neturi, todėl pacientų, gydytų skirtingais vaistais, skaičius labai skiriasi.

Mūsų duomenimis, gydymas biologiniais vaistais reikšmingai sumažino sergančiųjų reumatoidiniu ir psoriaziniu artritu ligos aktyvumą (vertinant DAS28) jau po pirmų 3 gydymo mėnesių. Sergančiųjų juveniliniu idiopatininiu artritu vidutinis ligos aktyvumas (DAS28) sumažėjo, tačiau tai nebuvo statistiškai reikšminga (greičiausiai dėl

to, kad buvo lygintos mažos pacientų grupės). Ankiloziniu spondilitu sergančių pacientų ligos aktyvumas (BASLAI) sumažėjo reikšmingai, tačiau vertinant pagal ASDAS – statistiškai reikšmingo sumažėjimo nenustatėme.

Tyrimo metu neradome reikšmingų efektyvumo skirtumų gydant skirtingais biologiniais vaistais sergančiuosius autoimuniniais artritais. Pabrėžtina, kad metotreksato vartojimas neturėjo lemiamos reikšmės sergančiųjų autoimuniniais artritais gydymo skirtingais biologiniais vaistais rezultatams. Šį faktą galima paaiškinti tuo, kad daugiausia mūsų stebėtų pacientų vartojo mažesnes metotreksato dozes – 5-15 mg per savaitę, taip pat jos statistiškai reikšmingai nesiskyrė tarp grupių.

Daugiau nei pusė sergančiųjų reumatoidiniu artritu, ankiloziniu spondilitu, juveniliniu idiopatininiu artritu bei 40,3 % sergančiųjų psoriaziniu artritu tęsė gydymą pirmuoju biologiniu vaistu esant geram efektui ilgiau nei metus. Literatūros šaltiniai nurodo, kad iki 84,7 % spondiloartropatijomis ir iki 65,4 % reumatoidiniu artritu sergančiųjų pacientų tęsė gydymą pradėtu pirmu TNF $\alpha$  blokatoriumi, tačiau gydymo laikotarpis buvo iki metų. Iki pusės spondiloartropatijomis sergančių pacientų tęsė gydymą vienu iš TNF $\alpha$  blokatorių 24 mėnesius. Svarbu pažymėti, kad skirtas INF pradinėmis žemomis dozėmis buvo tęsiamas 12,5 % sergančiųjų reumatoidiniu artritu, 20,5 % ankiloziniu spondilitu ir 3,4 % psoriaziniu artritu. Statistiškai reikšmingai daugiau pacientų tęsė gydymą adalimumabu (33,3 % - reumatoidiniu artritu, 28,6 % - ankiloziniu spondilitu, 33,3 % - juveniliniu idiopatininiu artritu sergančių pacientų) bei etanerceptu (atitinkamai 78,6 %, 84,2 %, 72,2 % ir 76,2 %). Literatūros duomenimis, pacientų, tęsiančių gydymą infliksimabu, dalis yra didesnė (daugiau nei 70 % sergančiųjų reumatoidiniu artritu, ir daugiau nei 60 % spondiloartropatijomis sergančių pacientų), tačiau šie pacientai gydyti didesnėmis vaisto dozėmis (5 mg/kg spondiloartropatijų grupėje), bet trumpesnę laikotarpį (iki vienerių asmens gydymo metų). Mūsų tirtiems pacientams galimos kelios trumpesnio gydymo infliksimabu išsilaikymo, palyginti su etanerceptu ir adalimumabu, priežastys: be to, kad vaistas buvo vartojamas mažomis dozėmis, dažniau už kitus TNF $\alpha$  blokatorius buvo nustatoma anti-INF antikūnų, dalis pacientų dėl įvairių priežasčių nevartojo ligą modifikuojančių vaistų.

Analizuodami sergančiųjų autoimuniniais artritais, gydytų skirtingomis infliksimabo dozėmis (t. y. < 3 mg/kg ir  $\geq$  3mg/kg – sergantiesiems reumatoidiniu artritu; < 3 mg/kg ir 3–5 mg/kg – sergantiesiems spondiloartropatijomis) duomenis, neradome statistiškai reikšmingų gydymo efektyvumo skirtumų po 12 ir 24 mėnesių gydymo. Literatūros duomenimis, mažos infliksimabo dozės buvo efektyvios 42,2 % – 54 % ankiloziniu spondilitu sergančiųjų pacientų per pirmus 6 gydymo mėnesius ir 26,7 % – 63 % - po 12 mėnesių vertinant pagal BASLAI indekso pagerėjimą 50 %. Būtina pabrėžti, kad analizavome pacientų grupes, tarp kurių infliksimabo dozės skyrėsi nežymiai, taip pat pacientų grupės buvo labai mažos. Visgi mūsų duomenys leidžia teigti, kad kai kuriems pacientams gydymas mažomis infliksimabo dozėmis yra efektyvus, leidžiantis pasiekti remisiją. Kadangi INF buvo pirmasis BV, kuriuo sergantieji autoimuniniais artritais pradėti gydyti VUL SK Reumatologijos centre, juo

gydyti pacientai turėjo nustatytą didesnę ligos aktyvumą, toliau pažengusią ligą, todėl tikėtina, kad jų gydymo išeitys turėtų skirtis nuo vėliau pradėtų adalimumabu ir etanerceptu gydyti pacientų. Didesnis ligos aktyvumas gydymo biologine terapija pradžioje yra viena iš priežasčių, kodėl dalis psoriazinio ir juveniliniu idiopatinio artritu sergančių pacientų gydymą infliksimabu nutraukė ar pakeitė kitu preparatu. Pradinės vidutinės infliksimabo dozės visų ligų atveju buvo žemesnės nei 3 mg/kg kūno svorio, ypač nuo rekomenduojamų vaisto apraše dozių skiriasi vaisto dozavimas spondiloartropatijų grupėje. Tačiau daliai pacientų, net ir sergančių spondiloartropatijomis (22,7 % sergančiųjų ankiloziniu spondilitu ir 3,4 % sergančiųjų psoriazinio artritu), užteko pradinės mažos infliksimabo dozės. Mažos infliksimabo dozės yra racionalios finansiniu aspektu, ypač tai aktualu žemesnio ekonominio lygio šalyse.

Mūsų atliktas tyrimas – pirmasis Lietuvoje, objektyviai parodantis ir ekonominę biologinių vaistų vartojimo naudą. Nustatėme, kad gydymo biologine terapija metu daliai pacientų grąžinamas darbingumas. Jau po 12 mėnesių reikšmingai mažėja buvęs nedarbingumo dienų skaičius vertinant per 6 paskutinius mėnesius, nedarbingumo pažymėjimų išdavimo dažnis, reabilitacijos, fizioterapijos, pagalbinių prietaisų, naudojamų kasdienėje paciento veikloje, bei kitų žmonių pagalbos pacientui poreikis, tačiau nekinta darbingumą praradusių pacientų dalis lyginant su laikotarpiu prieš pradedant gydymą. Gauti rezultatai atitinka literatūros duomenis, kadangi nustatyta, kad biologinė terapija mažina laikiną darbingumo praradimą nesant negrįžtamų struktūrinių pakitimų ir nuolatinio darbingumo praradimo, tačiau vėlyvose ligos stadijose, esant negrįžtamiems pakitimams šis poveikis lieka minimalus. Tai, kad patikimai nesumažėjo darbingumą praradusių pacientų skaičius, mūsų šalyje sąlygoja ir tai, kad dėl socialinių ir ekonominių priežasčių pacientams, nors ir pasiekus minimalų ligos aktyvumą ir gerą savijautą, dėl struktūrinių pažeidimų ir funkcijos sutrikimo prarasto darbingumo nustatymas yra tęsiamas. Tai dar kartą nurodo tai, kad gydymas turėtų būti skiriamas anksti, ligos pradžioje dar neišsivysčius struktūriniais pažeidimams.

Tyrimo metu 386 autoimuniniais artritais sirgusiems ir biologiniais vaistais gydytiems pacientams diagnozuoti 436 nepageidaujami reiškiniai, dažniausiai jie pasireiškė sergantiesiems reumatoidiniu artritu. Mums prieinamoje literatūroje neradome duomenų, kur būtų lyginamas nepageidaujamų reiškinų dažnis tarp skirtingais autoimuniniais artritais sergančių pacientų. Šešerių metu laikotarpiu registruotos 6 mirtys. Gydžiusių gydytojų vertinimu, tik dėl miliarinės tuberkuliozės ir nepatikslintos etiologijos plaučių uždegimo įvykusios mirtys buvo tiesiogiai siejamos su vartotu biologiniu vaistu. Gydymo biologiniais vaistais metu nustatyti aktyvios tuberkuliozės atvejai Lietuvoje inicijavo ilgalaikes reumatologų diskusijas su pulmonologais dėl tuberkuliozės ištyrimo taktikos pacientams prieš gydant TNF $\alpha$  blokatoriais. Dėl šių ilgų diskusijų ir bendro darbo buvo sukurtos ir 2011 m. publikuotos “Tuberkuliozės prevencijos ir gydymo rekomendacijos skiriant naviko nekrozės faktoriaus alfa blokatorius (Lietuvos pulmonologų ir reumatologų sutarimas)“.

Vertinimo laikotarpiu diagnozuoti 6 onkologiniai susirgimai, dėl kurių du pacientai mirė. Būtų sunku nustatyti tiesioginį mūsų diagnozuotų onkologinių ligų ryšį su gydymu biologine terapija. Ir literatūroje kol kas nėra nustatyta tiksli autoimuniniais artritais sergančių ir biologine terapija gydomų pacientų onkologinių susirgimų atsiradimo rizika, kadangi yra žinoma, kad pats reumatoidinis artritas didina onkologinių ligų riziką, spondiloartropatijų atveju – ši rizika dar nėra visiškai žinoma. Literatūroje skelbiama, kad TNF $\alpha$  blokatoriai juveniliniu idiopatininiu artritu sergantiems vaikams didina limfomų riziką. Įrodytas rituksimabo ir tiriamas tocilizumabo teigiamas poveikis onkologijoje.

Lietuvoje tik 2011 m. buvo priimtas bendras pulmonologų ir reumatologų sutarimas dėl tuberkuliozės diagnostikos ir gydymo rekomendacijų pacientams prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais. Iki to laiko Lietuvoje buvo laikomasi tarptautinių rekomendacijų, kurios rėmėsi tyrimais, atliktais žemo ar vidutinio tuberkuliozės paplitimo regionuose, todėl nebuvo tiksliai pritaikyti mūsų šaliai. Sutarimo pritaikymas kasdienėje praktikoje pagerino pacientų ištyrimą dėl latentinės ir aktyvios tuberkuliozės prieš skiriant gydymą ir stebėjimą gydymo biologine terapija metu – nuo sutarimo priėmimo 2011 m. iki 2013 metų pabaigos VUL SK Reumatologijos centre nebuvo nustatyta nė vieno aktyvios tuberkuliozės atvejo. Žinoma, kad imunosupresuotiems pacientams, odos tuberkulino mėginys gali būti klaidingai neigiamas dėl nepakankamos imuninės sistemos reakcijos; o dėl pacientų vaikystėje atliktos BCG vakcinacijos mėginys gali būti klaidingai teigiamas. Nustatėme žemą odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo mėginių rezultatų suderinamumą. Todėl, siekdami maksimaliai sumažinti latentinės tuberkuliozės „pražiūrėjimo“ riziką, mes rekomenduojame atlikti abu mėginius pacientams, kuriems yra planuojamas gydymas BT, kartu su dviejų kryptinių plaučių rentgenograma, o esant neaiškiems atvejams – atlikti ir krūtinės ląstos kompiuterinę tomografiją. Pabrėžtina, kad dauguma šalių patvirtino savo individualias nacionalinės tuberkuliozės diagnostikos ir gydymo prieš skiriant biologinius vaistus rekomendacijas, tačiau įrodymų apie odos tuberkulino testo ir QFT dinamiką gydymo biologiniais vaistais metu nepakanka. Prasminga būtų planuoti ir šių dviejų latentinę tuberkuliozę padedančių identifikuoti tyrimų dinamikos vertinimą gydymo biologiniais vaistais eigoje.

Apibendrinant klinikinę tyrimo dalį būtina paminėti keletą trūkumų, kurių neišvengėme šiame darbe. Imant konkrečias stebėjimo ribas nuo 2007.12.01 iki 2013.12.31, gavome pacientų stebėjimo laikotarpių netologymą. Tai apsprendė, kad skirtingais stebėjimo mėnesiais vertinti netolygūs pacientų skaičiai. Tai neabejotinai įtakojo tyrimų rezultatus. Norėtume dar kartą pabrėžti, kad VUL SK Reumatologijos centre biologiniais vaistais gydomų pacientų duomenys yra ir toliau kaupiami BIOLIT ir bus nagrinėjami tolimesniuose darbuose. Kadangi darbe vertinta labai daug klinikinių, laboratorinių ligos aktyvumo, funkcijos ir kitų rodiklių darbe pateikiamos lentelės yra labai „apkrautos“, ką irgi vertiname kaip darbo trūkumą.

2013 m. Europos priešreumatinės lygos (angl. *European League Against Rheumatism*) rekomendacijose pabrėžiama, kad viena iš aktualių mokslinių tyrimų kryptų yra biologinių vaistų imunogeniškumas ir jo reikšmė klinikinėms gydymo išeitims. Nors yra daug diskutuojama apie imunogeniškumo reikšmę gydant biologine terapija, nėra pasiūlyta visuotinai tiksliausio metodo nustatyti antikūnų prieš biologinį vaistą ir vaisto koncentracijas. Mes radome gerą rezultatų koreliaciją ir atitikimą, nustatant TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijas tirtųjų 145 pacientų serumuose. Nepaisant to, kad abiem metodais buvo nustatomos panašios visų tirtų vaistų koncentracijos, „*Sanguin Diagnostics*“ laboratorijoje buvo nustatytos žemos adalimumabo ir anti-ADA antikūnių koncentracijos trimis pacientams, kuriems anti-ADA antikūnų nepavyko nustatyti „Progenica“ kompanijos tyrimo rinkiniais. Nors dalies pacientų, gydytų etanerceptu ir infliksimabu, serumuose buvo nenustatytos vaistų ir antikūnų prieš juos koncentracijos, šiems pacientams dėl gero klinikinio efekto gydymas nebuvo keistas. Teoriškai, nė vienas iš šiuo metu egzistuojančių tyrimų metodų negali nustatyti visų organizme susidarantių antikūnų prieš vaistus klasių. Mūsų atlikto TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų, nustatytų dviem skirtingais laboratorijos metodais, rezultatų palyginimas turi savo trūkumų – neturėjome sveikų asmenų ir pacientų su itin aukštomis vaistų koncentracijomis duomenų palyginimui, todėl negalime įvertinti RIA ir ELISA metodų jautrumo ir specifiškumo. Tačiau pagrindiniu trūkumu laikytume tai, kad vaisto koncentracijų ir efektyvumo vertinimai atlikti ir lyginami pacientams, kurių gydymo trukmė buvo skirtinga.

Ak prieš vaistus nustatomi apytiksliai trečdaliui reumatoidiniu artritu ir 25 % spondiloartropatijomis sergančių pacientų. Mes nustatėme, kad anti-INF ir anti-ADA antikūnų susidarymas organizme yra susijęs su blogesniu klinikiu gydymo efektu, didesne su infliksimabo infuzija susijusių reakcijų, gydymo keitimo ir gydymo INF nutraukimo rizika. Tačiau statistiškai reikšmingų TNF $\alpha$  blokatorių koncentracijų skirtumų tarp autoimuniniais artritais sergančių pacientų, kuriems gydymas buvo efektyvus ir neefektyvus mums nepavyko nustatyti. Literatūros duomenimis, serumo vaisto koncentracija stipriai koreliuoja su klinikiu atsaku. Mūsų duomenys gali būti paaiškinami tuo, kad pacientų grupės palyginti mažos, ir tuo, kad pacientai vartojo mažas infliksimabo dozes. Literatūros duomenimis, gydymas mažomis infliksimabo dozėmis gali didinti anti-INF antikūnų formavimosi riziką sergantiems reumatoidiniu artritu ir spondiloartropatijomis. Tačiau mūsų tyrimas nenustatė, kad žemomis infliksimabo dozėmis gydytų pacientų dalis, kuriems buvo nustatyti anti-INF Ak, skirtusi nuo literatūros duomenų, kurie vertino pacientus, vartojusius adekvačias terapines infliksimabo dozes. Todėl galima būtų manyti, kad imunogeniškumas nebūtinai susijęs su vaisto doze. Tam patvirtinti reikėtų atlikti didesnės apimties papildomus tyrimus.

Skirtingų autorių duomenimis, su infuzija susijusios reakcijos stebimos iki 16 % pacientų, kuriems susiformuoja anti-INF Ak; injekcijų vietų reakcijos vartojantiems poodinius biologinius vaistus pasitaiko rečiau. Tik 5,3 % mūsų stebėtų pacientų įvyko infuzinės reakcijos, kurias galima sieti su randamais anti-INF antikūnais.

Su infliksimabo infuzija susijusios reakcijos pasireiškė iš viso 10 (7,0 %) pacientų, tačiau iš jų 7 pacientams imunogeniškumo tyrimai nebuvo atlikti, todėl ir negalime spręsti apie jų ryšį su anti-INF antikūnais.

Literatūros duomenimis, ETA yra mažiausiai imunogeniškas, greičiausiai dėl savo molekulinės struktūros. Iš tiesų, nenustatėme nė vienam iš tirtųjų etanerceptu gydytų pacientų anti-ETA antikūnų, keturiems pacientams nebuvo rasta nustatomos vaisto koncentracijos, tačiau šiems pacientams buvo gautas geras kliniškinis efektas, todėl gydymas nebuvo keičiamas.

Ištyrėme visus 25 adalimumabu gydytus pacientus, anti-ADA antikūnų radome tik vienos reumatoidiniu artritu sergančios pacientės serume, kuriame adalimumabo koncentracija nesiekė registruojamos ribos. Be to, radome vidutinę neigiamą koreliaciją tarp metotreksato vartojimo ir anti-ADA antikūnų susidarymo. Literatūros duomenimis, kartu vartojant adalimumabą ir metotreksatą, anti-ADA antikūnai nustatomi tik iki 1 % gydytų pacientų. Žinoma, dėl palyginti mažo pacientų skaičiaus galima teigti tik apie antikūnų prieš vaistą ir efektyvumo bei nepageidaujamų reiškinių tendencijas, gydant autoimuniniais artritais sergančius pacientus. Imunogeniškumo tyrimai VUL SK Reumatologijos centre ir toliau yra tęsiami, ateityje planuojame pateikti papildomus, išsamesnius tyrimų rezultatus.

Mūsų atliktas tyrimas – pirmasis Lietuvoje, vertinantis gydymo biologiniais vaistais efektyvumą autoimuniniais artritais sergantiesiems pacientams, pasireiškusių nepageidaujamų reiškinių, jų prevenciją, antikūnų prieš vaistus susidarymo pasekmes realios reumatologo klinikinės praktikos sąlygomis. Mūsų atlikti tyrimai ir gautos preliminarios išvados įrodo, kad imunogeniškumo tyrimai gali būti labai naudingi kasdienei praktikai. Dėl jų galima lengviau paskirti pacientui individualizuotą gydymą, suprasti biologinių vaistų neefektyvumo ir nepageidaujamų reiškinių priežastis, lengviau paskirti konkretų medikamentą, parinkti jo dozę, vartojimo intervalus, gretutinius medikamentus. Šių tyrimų naudojimas didelei daliai pacientų sutrumpintų gydymo laiką ir išlaidas.

Mūsų atliktas tyrimas atspindi ekonomiškai apribotos valstybės, turinčios specifinę vaistų skyrimo sistemą, patirtį, taip pat ir bandymą moksliskai pagrįsti ypač aktualų Lietuvoje latentinės tuberkuliozės diagnostikos ir imunogeniškumo klausimus. Šio tyrimo duomenų tiesiogiai lyginti su biologinės terapijos registru ir duomenų bazių duomenimis negalima visų pirma dėl to, kad gydytojas reumatologas Lietuvoje neturi tiesioginės galimybės skirti individualizuotą gydymą.

Nežiūrint paminėtų trūkumų, šio tyrimo duomenys gali pasitarnauti gydytojams, pacientams, sveikatos sistemos organizatoriams, farmacininkams ir mokslininkams, nagrinėjantiems biologinės terapijos skyrimo ypatumus (ypač mažų dozių terapiją, vaistų keitimus), nepageidaujamus reiškinius (ypač retus nepageidaujamus reiškinius, tuberkuliozės diagnostikos problemas endemiškai didelio paplitimo populiacijoje), imunogeniškumo reikšmę gydant autoimuniniais artritais sergančius pacientus.

## IŠVADOS

1. Autoimuniniais artritais sergančių pacientų gydymas biologiniais vaistais (adalimumabu, etanerceptu, infliksimabu, rituksimabu) yra efektyvus: statistiškai reikšmingas ligos aktyvumo sumažėjimas pasiektas jau po 3 gydymo mėnesių ir išliko gydant 24 mėnesius, nebuvo nustatyta nė vieno tirta biologinio vaisto privalumo prieš kitus. Nerasta koreliacijos tarp nustatyto ligos aktyvumo ir metotreksato naudojimo vertinant po 3, 6, 12, 18 ir 24 gydymo mėnesių. Nerasta reikšmingų gydymo efektyvumo skirtumų taikant skirtingas infliksimabo dozes.
2. Daugiau nei pusė sergančiųjų reumatoidiniu artritu, ankiloziniu spondilitu ir juveniliniu idiopatininiu artritu bei 40,3 % psoriaziniu artritu tęsė gydymą pirmuoju biologiniu vaistu esant geram klinikiniam ir laboratoriniam efektui iki 24 mėnesių laikotarpiu. Nepakankamas gydymo efektas buvo pagrindinė priežastis keisti gydymą pirmuoju biologiniu vaistu sergantiesiems reumatoidiniu, psoriaziniu artritu ir ankiloziniu spondilitu, o nepageidaujami reiškiniai – sergantiesiems juveniliniu idiopatininiu artritu.
3. Nedarbingumo dienų, nedarbingumo pažymėjimų išdavimų dažnio, reabilitacijos, fizioterapijos, kitų žmonių pagalbos poreikio reikšmingas sumažėjimas reumatoidiniu, psoriaziniu ir juveniliniu idiopatininiu artritu sergančiuosius pacientus gydant biologiniais vaistais nustatytas tiriant po 12 mėnesių, o ankiloziniu spondilitu – po 24 mėnesių. Nuolatinio neįgalumo statistiškai reikšmingo kitimo šiais laikotarpiais nenustatyta.
4. 71,3 % visų pasireiškusių nepageidaujamų reiškinių gydant biologiniais vaistais buvo lengvi ir vidutinio intensyvumo, dauguma atvejų jie praėjo be pasekmių. Dažniausi nepageidaujami reiškiniai buvo infekcijos. Dėl nepageidaujamų reiškinių 19,7 % visų pacientų nutraukė gydymą biologiniais vaistais, 49,3 % AA pacientų gydymas buvo stabdomas laikinai. Daugiausia nepageidaujamų reiškinių pasitaikė pacientams sergantiems reumatoidiniu artritu. Gydymo biologine terapija metu tuberkuliozė buvo nustatyta 4,1% pacientų. Didžiausias tuberkuliozės atvejų skaičius 1000 paciento metų nustatytas tarp adalimumabu, mažiausias – tarp infliksimabu gydytų pacientų.
5. Nustatytas žemas odos tuberkulino mėginio ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo testo rezultatų suderinamumas diagnozuojant latentinę tuberkuliozę sergantiesiems autoimuniniais artritais prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais (*Cohen kappa* = 0,200 (95 % PI 0,031 – 0,368)).
6. Lyginant TNF $\alpha$  blokatorių serumo koncentracijų nustatymą imunofermentiniais metodais, rasta gera rezultatų koreliacija, geras metodų atitikimas nustatant adalimumabo, etanercepto ir infliksimabo koncentracijas. Gydant infliksimabu susidariusių antikūnų prieš vaistą koncentracijų, nustatytų imunofermentiniu ir radioimuninės precipitacijos metodais, rezultatų koreliacija buvo gera, tačiau nenustatyta jų atitikimo.

7. Gydant infliksimabu atsiradę antikūnai prieš vaistą yra susiję su klinikinio efekto praradimu, padidėjusiu infuzinių reakcijų dažniu bei antriniu gydymo neefektyvumu ir su tuo susijusiu gydymo keitimu. Gydant adalimumabu atsiradę antikūnai prieš vaistą yra susiję su klinikinio efekto išsekimu.

## **PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS**

1. Autoimuniniu artritu sergančiam pacientui biologinis vaistas, jo dozė, metotreksato ir kitų ligą modifikuojančių vaistų skyrimo taktika turi būti parenkama individualiai.
2. Siekiant autoimuniniu artritu sergantį pacientą apsaugoti nuo darbingumo praradimo ir funkcinio neįgalumo, tikslinga biologinę terapiją sergantiesiems autoimuniniais artritais skirti esant aktyviai ligai ir iki struktūrinių pažeidimų išsivystymo.
3. Siūloma įvesti į šeimos gydytojų, reumatologų, ortopedų – traumatologų, pulmonologų, infektologų, gastroenterologų ir kitų specialybių gydytojų rezidentūros ir gydytojų tobulinimo mokymo programas klausimus, nagrinėjančius biologinių vaistų sukeltus nepageidaujamus reiškinius, jų simptomus, pasekmes ir biologinių vaistų skyrimo taktiką pasireiškus nepageidaujamiems reiškiniams.
4. Rekomenduojama Lietuvos reumatologų asociacijai ir šalies pulmonologų draugijoms peržiūrėti 2011 m. priimtas „Tuberkuliozės prevencijos ir gydymo rekomendacijas skiriant naviko nekrozės faktoriaus alfa blokatorius (Lietuvos pulmonologų ir reumatologų sutarimas)“ bei jas koreguoti, numatant dviejų metodų (odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo) privalomą atlikimą prieš skiriant gydymą TNF $\alpha$  blokatoriais.
5. Praradus efektyvumą gydant biologiniais vaistais, tikslinga atlikti biologinių vaistų ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijų tyrimus, bei pagal juos atlikti tolimesnius biologinio vaisto dozės ar keitimo kitu vaistu modifikavimus.
6. Rekomenduojama pratęsti mokslinius tyrimus, nagrinėjančius imunogeniškumo klausimus gydant biologiniais vaistais. Atlikus plačius tyrimus bei gavus statistiškai patikimus rezultatus, Lietuvos reumatologų asociacijai rekomenduojama svarstyti pasiūlymą sveikatos priežiūrą organizuojančioms struktūroms TNF $\alpha$  blokatorių ir prieš juos susidariusių antikūnų koncentracijų nustatymą įtraukti į privalomą autoimuniniais artritais sergančiųjų gydymą biologiniais vaistais tyrimų priežiūros planą.
7. Pasaulinėje literatūroje nesant pakankamų duomenų apie odos tuberkulino ir stimuliuoto  $\gamma$ -interferono išskyrimo mėginių kitimus gydymo biologiniais vaistais eigoje, tikslinga toliau tęsti mokslinius tyrimus apie tuberkuliozės imuninio atsako ypatumus pacientams jau gydomiems biologiniais vaistais.



## **ABOUT THE AUTHOR**

**Inesa Arštikytė**

### **Personal data:**

Date and place of birth: April 27, 1980, Kėdainiai, Lithuania.

Nationality: Lithuanian.

e-mail: [inesa.arstikyte@santa.lt](mailto:inesa.arstikyte@santa.lt)

### **Education**

1998 – 2004 - Faculty of medicine, Vilnius University, Diploma of medical doctor;

2004 – 2005 - Vilnius University Hospital Santariskiu clinics, primary residency, Qualification of medical doctor;

2005 – 2009 - Clinic of Rheumatology, Orthopedics and Reconstructive surgery, Faculty of medicine, Vilnius University, Rheumatologist residency, Qualification of rheumatologist;

2009 – 2014 - postgraduate studies in Rheumatology at State Research Institute Centre for Innovative Medicine (Vilnius University Institute of Experimental and Clinical Medicine till 2009.12.23).

### **Professional experience**

2004 – 2009 - doctor-resident at Vilnius University Hospital Santariskiu clinics;

2007-2008 medical doctor in the Emergency Department, Centre filial of Vilnius University hospital Santariškių klinikos;

2008 – 2009 - junior research assistant at the Department of Clinical Rheumatology, Vilnius University Institute of Experimental and Clinical Medicine;

2009 – present - rheumatologist at the Department of Rheumatology, Vilnius University Hospital Santariskiu clinics.

**Practical skills:** ultrasonography, joint injections.

**Language skills:** Lithuanian – native; English, Russian – fluent.