

JULIANA BARBOSA BRUNELLI

**Cinética da concentração sérica de adalimumabe e de anticorpos anti-adalimumabe
no seguimento longitudinal de pacientes com artrite idiopática juvenil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Músculo Esquelético

Orientador: Dra. Nádia Emi Aikawa

SÃO PAULO

2023

JULIANA BARBOSA BRUNELLI

**Cinética da concentração sérica de adalimumabe e de anticorpos anti-adalimumabe
no seguimento longitudinal de pacientes com artrite idiopática juvenil**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema Músculo Esquelético

Orientador: Dra. Nádia Emi Aikawa

SÃO PAULO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Brunelli, Juliana Barbosa
Cinética da concentração sérica de adalimumabe e
de anticorpos anti-adalimumabe no seguimento
longitudinal de pacientes com artrite idiopática
juvenil / Juliana Barbosa Brunelli. -- São Paulo,
2023.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientadora: Nádia Emi Aikawa.

Descritores: 1.Artrite idiopática juvenil
2.Fator de Necrose Tumoral alfa 3.Adalimumabe
4.Anticorpo 5.Tratamento farmacológico 6.Prevenção &
controle

USP/FM/DBD-243/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Marisa e Luiz, que sempre me incentivaram a ser minha melhor versão e sempre acreditaram em mim.

À minha irmã, Luiza, que sempre me apoiou e torceu por mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Marisa e Luiz, por me proporcionarem sempre o melhor e me incentivarem, nos estudos e na vida, a trilhar o meu próprio caminho. Obrigada por me proporcionarem todas as oportunidades que me permitiram alcançar meus objetivos.

À minha irmã, Luiza, por sempre estar ao meu lado, me dando todo seu apoio, e por sempre acreditar em mim.

À minha família estendida, Gabriela, Sueli, Wlamir e Danielle, obrigada por toda a torcida e por vibrarem comigo a cada pequena conquista.

À querida Dra. Nadia Emi Aikawa, por toda orientação, suporte, disponibilidade e paciência durante todas as etapas de elaboração deste trabalho. Obrigada por aceitar ser minha orientadora. Obrigada pela confiança, por todo o carinho e pelo exemplo de profissionalismo, empatia e dedicação.

À Prof. Dra. Eloisa Bonfá, pelo apoio e por todas as críticas construtivas no início deste projeto. Obrigada por todos os ensinamentos e pelo exemplo de ética e profissionalismo.

Ao querido chefe, Prof. Dr. Clóvis Artur Almeida da Silva, por ter me apresentado a Reumatologia Pediátrica e pela sua contagiante paixão pela vida acadêmica. Obrigada pelo acolhimento e por todos os ensinamentos, oportunidades de trabalho e pesquisa e incentivo aprender cada vez mais.

Às queridas, Dra. Lucia, Dra. Adriana e Dra. Kátia, por todos os ensinamentos que contribuíram com a minha formação. Agradeço o exemplo de dedicação e cuidado com os pacientes.

Às amigas, Gláucia e Clarissa, que dividiram comigo as alegrias e dificuldades dos anos da especialização em reumatologia pediátrica. Obrigada por todo o apoio e incentivo que sempre encontrei em vocês. À amiga Verena, obrigada por todo o suporte, pelas conversas e pela cumplicidade, desde a especialização e por todas as etapas desse trabalho.

À Mariza, por toda ajuda com as pesquisas bibliográficas.

Aos pacientes e seus familiares, agradeço pela confiança atribuída a mim e a toda a instituição. Obrigada por possibilitarem a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi parte de um projeto temático realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2015/03756-4).

Esta Tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. Artrite idiopática juvenil	16
1.2. Fisiopatogênese e fator de necrose tumoral alfa	17
1.3. Tratamento e terapia anti-TNF	18
1.4. Imunogenicidade ao adalimumabe	19
2. JUSTIFICATIVA	22
3. OBJETIVOS	23
4. PACIENTES E MÉTODOS	24
4.1. Desenho do estudo	24
4.2. Critérios de inclusão	24
4.3. Critérios de exclusão	25
4.4. Termo de consentimento livre e esclarecido	25
4.5. Aprovação pelo Comitê de Ética	25
4.6. Avaliação clínico-laboratorial	25
4.7. Quantificação da concentração sérica de anticorpo anti-ADL	26
4.8. Quantificação da concentração sérica de ADL	27
4.9. Análise estatística	28
5. RESULTADOS	30
5.1. Características clínicas dos pacientes	30
5.2. Cinética do anticorpo anti-adalimumabe	33
5.3. Cinética da concentração sérica de adalimumabe	34
5.4. Anticorpo anti-adalimumabe e atividade de doença	36
5.5. Preditores basais da produção de anticorpo anti-ADL	37
6. DISCUSSÃO	41

7. CONCLUSÕES	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
9. APÊNDICES	52
9.1. Parecer de aprovação do projeto no Comitê de Ética	52
9.2. Manuscrito	54

Lista de Abreviaturas e Siglas

AAA	<i>Anti-adalimumab antibody</i>
ACR	<i>American College of Rheumatology</i>
ACR Pedi 30	<i>American College of Rheumatology Pediatric 30</i>
ADA	<i>Adalimumab</i>
ADL	Adalimumabe
AIJ	Artrite idiopática juvenil
AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
ANOVA	Análise de variância
Anti-ADL	Anticorpo anti-adalimumabe
CEDMAC	Centro de Dispensação de Medicação de Alto Custo
CHAQ	<i>Childhood Health Assessment Questionnaire</i>
CI	<i>Confidence interval</i>
DAS28	<i>Disease Activity Score 28-Joint Counts</i>
DMARD	Droga antirreumática modificadora de doença
DO	Densidade ótica
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
ESR	<i>Eritrocyte sedimentation rate</i>
et al.	e outros
EVA	Escala visual analógica
FAN	Fator antinuclear
FcRn	Receptor Fc neonatal
FR	Fator reumatoide
HAQ	<i>Health Assessment Questionnaire</i>
HLA	Antígeno leucocitário humano
IC	Intervalo de confiança
ILAR	<i>International League of Associations for Rheumatology</i>
JADAS	<i>Juvenile Arthritis Disease Activity Score</i>
JIA	<i>Juvenile idiopathic arthritis</i>
mcg/mL	Microgramas por mililitro
N	Número absoluto
OR	<i>Odds Ratio</i>
p	Nível de significância
PCR	Proteína C reativa
RR	Risco relativo
TNF	Fator de necrose tumoral
TNRF	Receptor de fator de necrose tumoral
UA/mL	Unidades arbitrárias por mililitro
VHS	Velocidade de hemossedimentação
vs.	<i>Versus</i>

Lista de Figuras

Figura 1 – Cinética do anticorpo anti-adalimumabe	33
Figura 2 – Cinética do adalimumabe	35
Figura 3 – Frequência de troca de biológico após 12 meses de terapia com adalimumabe associado a falha terapêutica	37

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Dados clínicos e demográficos basais dos pacientes para cada subtipo de artrite idiopática juvenil.....	31
Tabela 2 – Dados clínicos e demográficos no momento basal de pacientes com artrite idiopática juvenil de acordo com a positividade de anticorpo anti-adalimumabe aos 3 meses	38
Tabela 3 – Fatores de risco clínicos, laboratoriais e medicação concomitante no momento basal associados ao desenvolvimento de anticorpo anti-adalimumabe em pacientes com artrite idiopática juvenil.....	40

RESUMO

Brunelli JB. Cinética da concentração sérica de adalimumabe e de anticorpos anti-adalimumabe no seguimento longitudinal de pacientes com artrite idiopática juvenil [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2023.

Objetivo: Avaliar a produção longitudinal de anticorpo anti-adalimumabe (anti-ADL) e sua associação com a concentração sérica de adalimumabe (ADL), além de avaliar os fatores de risco presentes no tempo basal para o desenvolvimento desse anticorpo em pacientes com artrite idiopática juvenil (AIJ) iniciando terapia com ADL e a associação entre a presença do anticorpo antidroga e a ocorrência de reações adversas. **Métodos:** Estudo observacional, longitudinal, de desenho prospectivo. Foi incluída uma amostra de conveniência de 30 pacientes consecutivos com AIJ tratados no Centro de Dispensação de Medicação de Alto Custo do HC-FMUSP no período de junho/2010 a outubro/2016. Para a análise laboratorial, foram utilizadas amostras de soros estocadas, obtidas no tempo basal (BL) e de forma seriada durante o tratamento com ADL. Para determinação dos níveis séricos de ADL e de anticorpos anti-ADL (ELISA e *bridging* ELISA) foram utilizadas as amostras do BL, 2 meses (2M), 3 meses (3M), 6 meses (6M), 12 meses (12M) e 24 meses (24M) de terapia com ADL. Os parâmetros clínicos e laboratoriais e drogas concomitantes utilizadas pelos pacientes foram obtidos pela revisão dos dados registrados em prontuário eletrônico nas visitas pré-determinadas realizadas nos dias das coletas das amostras de soro. Os pacientes foram posteriormente classificados de acordo com a positividade de anticorpo anti-ADL aos 3 meses para análise de fatores preditivos basais para a produção de anticorpo anti-ADL. **Resultados:** O anticorpo anti-ADL não foi detectado em nenhum dos pacientes no BL, sendo inicialmente identificado após 2M de ADL em 2/30(7%) pacientes, com aumento significativo aos 3M [10/29(34%), $p=0,013$], mantendo-se estável aos 6M [11/30(37%)] e 12M [9/26 (35%)]. Foi observada uma correlação negativa entre a concentração sérica de ADL e a presença de anticorpo anti-ADL aos 3M ($r=-0,781$, $p=0,0001$). A análise dos preditores basais para a produção de anticorpo anti-ADL revelou risco significativamente maior em pacientes do sexo feminino (OR 21; IC95% 1,08-406,57; $p=0,044$), VHS $>30\text{mm}/1^{\text{a}}$ hora (OR 5,44; IC95% 1,04-28,53; $p=0,045$) e uso concomitante de leflunomida (OR 9,33; IC95% 1,51-57,66; $p=0,016$). Por outro lado, uso concomitante de metotrexato foi observado como fator de proteção (OR 0,08; IC95% 0,01-0,53; $p=0,009$). Após 12M de ADL, 60% dos pacientes com anticorpo anti-ADL positivo necessitaram de troca da medicação por falha terapêutica, comparado a 15% dos pacientes com anti-ADL negativo ($p=0,03$). Nenhum dos pacientes incluídos necessitou de troca do ADL relacionada a ocorrência de reação adversa. **Conclusão:** Este estudo fornece novas evidências sobre a cinética da produção de anticorpo anti-ADL, demonstrando um aumento significativo após 3M de terapia, mantendo-se estável até 24M. Sexo feminino, VHS elevado e uso concomitante de leflunomida foram identificados como fatores de risco relevantes no BL para o desenvolvimento de anticorpo anti-ADL. Por outro lado, uso concomitante de metotrexato foi identificado como fator protetor. Assim, a implementação de investigação sistemática do anticorpo anti-ADL aos 3M poderia guiar a troca precoce do biológico e garantir melhor controle de atividade de doença em pacientes com AIJ em terapia com ADL.

Palavras-chave: Artrite idiopática juvenil. Fator de Necrose Tumoral alfa. Adalimumabe. Anticorpo. Tratamento farmacológico. Prevenção & controle.

ABSTRACT

Brunelli JB. Kinetics of adalimumab serum concentration and anti-adalimumab antibody in the longitudinal follow-up of patients with juvenile idiopathic arthritis [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo", 2023.

Objective: To assess the longitudinal production of anti-ADA antibody (AAA) and adalimumab (ADA) serum concentration, in addition to the analysis of baseline risk factors for this antibody development in juvenile idiopathic arthritis (JIA) patients initiating ADA and to evaluate the correlation of AAA positivity and the occurrence of adverse reactions. **Method:** This concerns a longitudinal observational study with a prospective design. From June 2010 to October 2016, a convenience sample of 30 consecutive JIA patients under ADA therapy were prospectively followed in the biologic therapy center of Rheumatology Division of a tertiary university hospital. For laboratory analysis, stored serum samples obtained at baseline and serially during treatment with ADA were used. ADA and AAA determinations (ELISA and bridging ELISA) were assessed from patients' sera obtained at baseline (BL), 2 months (2M), 3 months (3M), 6 months (6M), 12 months (12M) and 24 months (24M). JIA clinical and laboratorial data as well as concomitant treatment were assessed by longitudinal review of data registered in electronic medical records in the pre-determined visits on the days of serum samples collection. Patients were subsequently classified according to the positivity of AAA at 3M for the analysis of baseline predictive factors for the development of AAA. **Results:** AAA was absent at BL, first detected at 2M after ADA initiation in 2/30(7%) patients with a significant increase at 3M [10/29(34%), $p=0.013$] and no major change in 6M [11/30(37%)] and 12M [9/26 (35%)]. Of note, at 3M AAA levels correlated negatively with ADA levels ($r=-0.781$, $p=0.0001$). Analysis of BL predictors revealed a significantly higher risk of developing AAA in patients with female gender (OR 21; 95%CI 1.08-406.57; $p=0.044$), ESR>30mm/1sthour (OR 5.44; 95%CI 1.04-28.53; $p=0.045$) and leflunomide use (OR 9.33; 95%CI 1.51-57.66; $p=0.016$). In contrast, concomitant use of methotrexate was protective for AAA appearance (OR 0.08; 95%CI 0.01-0.53; $p=0.009$). After 12M of ADA, 60% of AAA-positive patients required drug switch for drug failure compared to 15% in AAA-negative group ($p=0.03$). None of patients included required ADA discontinuation due to the occurrence of adverse reactions. **Conclusions:** This study provides novel evidence of AAA production kinetics demonstrating a timely significant increase starting at 3M and stable throughout 24M. We also identified female gender, increased ESR and leflunomide use at BL as relevant risk factors for AAA production, whereas methotrexate was protective. Early systematic monitoring of AAA at 3M may therefore, guide drug switching in these patients.

Keywords: Juvenile idiopathic arthritis. Tumor Necrosis Factor-alpha. Adalimumab. Antibody. Drug therapy. Prevention & control.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Artrite idiopática juvenil

O termo artrite idiopática juvenil (AIJ) não corresponde a uma única doença, mas compreende todas as formas de artrite crônica com início antes dos 16 anos de idade, após exclusão de causas conhecidas de inflamação articular (PETTY et al., 2004).

A *International League of Associations for Rheumatology* (ILAR) propôs critérios classificatórios para AIJ com o objetivo de estabelecer grupos mais homogêneos entre as diferentes apresentações da doença, a fim de promover melhor definição de opções terapêuticas, seguimento e prognóstico. O sistema de classificação se baseia na expressão clínica da doença nos primeiros 6 meses, sendo definido pelo número de articulações acometidas, presença ou ausência de manifestações extra-articulares e presença ou ausência de marcadores – fator reumatoide (FR) e HLA-B27. A classificação inclui 7 categorias, com 6 subtipos mutuamente excludentes: artrite sistêmica; oligoartrite; poliartrite com FR positivo; poliartrite com FR negativo; artrite relacionada a entesite; e artrite psoriásica juvenil. A sétima categoria corresponde a artrite indiferenciada (PETTY et al., 2004). A classificação de ILAR é atualmente utilizada como ferramenta na prática clínica e como referência na pesquisa internacional.

Todos os subtipos de AIJ estão relacionados com potencial prejuízo da qualidade de vida e risco de dano articular permanente. A doença pode persistir durante a vida adulta, levando a morbidade e comprometendo a qualidade de vida desses pacientes (RINGOLD et al., 2009; GUTIERREZ-SUAREZ et al., 2007; SEID et al., 2009).

Além do comprometimento articular, crianças com AIJ apresentam maior risco de uveíte. A uveíte anterior ou iridociclite é diagnosticada antes do início de artrite em menos de 10% dos pacientes com AIJ. Na maioria dos casos, a uveíte ocorre simultaneamente ao diagnóstico da artrite ou em até 5 a 7 anos (RAVELLI et al., 2007). Cerca de 12 a 38% dos pacientes com AIJ desenvolvem uveíte até 7 anos após o

início de artrite (RAMANAN et al., 2017). O curso da uveíte se caracteriza por episódios recorrentes de atividade ou atividade crônica, sem associação com atividade articular da doença (RAVELLI et al., 2007). A uveíte crônica não controlada pode levar a sequelas oculares como sinéquias, catarata, glaucoma e perda de visão (THORNE et al., 2007; ANGELES-HAN et al., 2019).

1.2. Fisiopatogênese e fator de necrose tumoral alfa

A etiologia da AIJ ainda é desconhecida, sendo provavelmente multifatorial e diferindo entre as várias subclasses da doença.

Apesar dos diferentes mecanismos fisiopatológicos envolvidos entre os subtipos de AIJ, a maioria deles inclui perda de auto-tolerância imunológica e ativação de linfócitos B autorreativos e de linfócitos T CD4+ (MAHMUD et al., 2019) .

Considerando-se a ativação de linfócitos B autorreativos, a produção de diversos autoanticorpos já foi associada à patogênese da AIJ, incluindo fator antinuclear (FAN), FR, anticorpo anti-peptídeo citrulinado cíclico, entre outros. Porém, ao contrário do observado na artrite reumatoide, o papel de autoanticorpos específicos é relevante em apenas alguns subtipos de AIJ, como na AIJ poliarticular com FR positivo (MAHMUD et al., 2019).

Por outro lado, a ativação de linfócitos T CD4+ e macrófagos, e consequente produção de citocinas pró-inflamatórias, está associada à patogênese da sinovite em todos os subtipos de AIJ. Entre as citocinas pró-inflamatórias produzidas está incluído o fator de necrose tumoral (TNF)-alfa.

As evidências do envolvimento do TNF-alfa na patogênese da sinovite desses pacientes inclui a descrição de concentração de TNF elevada no soro (MANGEE et al., 1995) e no líquido sinovial (MANGEE et al., 1995; EBERHARD et al., 1994), e detecção de TNF no tecido sinovial (GROM et al., 1996) de pacientes com AIJ. Além disso, também foi observada concentração sérica elevada do receptor de TNF (TNRF)

solúvel em pacientes com AIJ, com correlação positiva com atividade de doença (MANGEE et al., 1995).

Modelos experimentais de uveíte autoimune também têm demonstrado um envolvimento importante do TNF-alfa na patogênese da uveíte (DICK et al., 2004; RAMANAN et al., 2017). Assim como no desenvolvimento da sinovite, a ativação sistêmica de linfócitos T CD4+ e macrófagos, e subsequente produção de TNF-alfa, promove uma resposta imune continuada resultando em dano tecidual. Na uveíte, ocorre ainda a liberação de TNF-alfa por células da retina (DICK et al., 2004).

1.3. Tratamento e terapia anti-TNF

Em cerca de um terço dos pacientes com AIJ, a atividade articular da doença é controlada com drogas anti-inflamatórias não esteroidais (AINEs), fisioterapia e terapia ocupacional adequadas (LOVELL et al., 2000). No restante dos pacientes, a introdução de terapia mais agressiva, com uso de drogas antirreumáticas modificadoras de doença (DMARDs) sintéticas e/ou biológicas, é necessária para controle de doença e prevenção de dano articular e/ou ocular. Entre os DMARDs sintéticos tradicionais, o metotrexato corresponde a primeira linha de tratamento, considerando-se sua comprovada eficácia no tratamento de artrite periférica (STOLL et al., 2014; RINGOLD et al., 2019). A leflunomida parece possuir um perfil de eficácia e segurança comparável ao metotrexato, e corresponde a uma boa alternativa em pacientes com intolerância ou toxicidade ao metotrexato (SILVERMAN et al., 2005; AYAZ et al., 2019). Outros DMARDs sintéticos também utilizados na AIJ incluem a sulfassalazina (RINGOLD et al., 2019) e a ciclosporina, geralmente indicada no tratamento de uveíte refratária a outros DMARDs (ANGELES-HAN et al., 2019).

Apesar da variedade de DMARDs sintéticos disponíveis para o tratamento da AIJ, muitos pacientes evoluem com doença ativa crônica. O desenvolvimento de DMARDs biológicos forneceu novas opções terapêuticas para o tratamento de pacientes resistentes aos DMARDs tradicionais (RAVELLI et al., 2007).

Com a identificação do potencial patogênico do TNF-alfa no desenvolvimento de artrite crônica, essa citocina inflamatória se tornou um alvo molecular para a produção de medicações biológicas. A terapia anti-TNF revolucionou, então, o tratamento e o prognóstico de pacientes com esta doença (DOELEMAN et al., 2019; LOVELL et al., 2008; SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015; LOVELL et al., 2000).

O adalimumabe (ADL), integra a classe dos anti-TNFs. O ADL corresponde a um anticorpo monoclonal completamente humanizado específico para o TNF-alfa. Este biológico é produzido por tecnologia de DNA recombinante, sendo idêntico em estrutura e função à IgG humana. Seus efeitos terapêuticos são mediados pela ligação ao TNF-alfa presente no soro e nos tecidos, bloqueando sua interação com as porções 55 e 75 de seus receptores de superfície celular (TNRFp55 e TNFRp75) (LOVELL et al., 2008; IMAGAWA et al., 2012).

A terapia com ADL apresenta uma comprovada relação de risco-benefício favorável em pacientes com AIJ (LOVELL et al., 2008; IMAGAWA et al., 2012; BURGOS-VARGAS et al., 2015), além de eficácia e boa tolerabilidade a longo-prazo (LOVELL et al., 2020).

As recentes recomendações de tratamento da AIJ do *American College of Rheumatology* (ACR) de 2021 (ONEL et al., 2022) orientam a introdução de DMARD biológico, incluindo a classe anti-TNF-alfa, em pacientes com oligoartrite com resposta incompleta ou intolerância após utilização de glicocorticoide intra-articular associado ou não a AINEs e posterior falha terapêutica a DMARD não biológico, preferencialmente metotrexato. Já em pacientes com AIJ de curso poliarticular, de acordo com as recomendações do ACR de 2019 (RINGOLD et al., 2019), a terapia anti-TNF está indicada naqueles mantendo atividade de doença moderada/alta após início de DMARD sintético, em geral metotrexato. Considerando-se pacientes com sacroiliíte ou entesite ativa, a indicação de um inibidor de TNF-alfa é mais precoce, já sendo recomendada em pacientes com manutenção de atividade de doença após introdução de AINEs (RINGOLD et al., 2019).

1.4. Imunogenicidade ao adalimumabe

Apesar de sua estrutura completamente humanizada, a imunogenicidade ao ADL já foi descrita (DOELEMAN et al., 2019; MANEIRO et al., 2013; THOMAS et al., 2015; EMI AIKAWA et al., 2010), estando possivelmente relacionada ao desenvolvimento de anticorpos anti-idiotípicos não direcionados às partículas humanas da droga. A produção do anticorpo anti-adalimumabe (anti-ADL) pode levar a redução dos níveis séricos da droga e a falha terapêutica, através do aumento do *clearance* da droga e pela competição aos sítios de ligação da droga (EMI AIKAWA et al., 2010).

A presença de anticorpos anti-ADL já foi observada em pacientes com AIJ (LOVELL et al., 2008; SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015; MARINO et al., 2018; IMAGAWA et al., 2012; BURGOS-VARGAS et al., 2015; LEINONEN et al., 2017). Existem, no entanto, dados escassos e conflitantes a respeito da imunogenicidade ao ADL no curso clínico da AIJ. Dois estudos sugerem que a produção de anti-ADL está relacionada a falha terapêutica e reativação da doença. Skrabl-Baumgartner et al. (2015) avaliaram de forma prospectiva as concentrações séricas de ADL e de anticorpo anti-ADL em 23 pacientes consecutivos com AIJ com boa resposta inicial à terapia com ADL. Do total de 23 pacientes incluídos, 6 (26%) desenvolveram anticorpo anti-ADL, dos quais 5 evoluíram com falha terapêutica secundária, comparado a apenas 1 de 17 pacientes com anticorpo anti-ADL negativo. As limitações deste estudo incluem a exclusão de pacientes com falha terapêutica primária e intervalos irregulares de avaliação clínica e coleta de soro para quantificação das concentrações de ADL e anticorpo anti-ADL. Marino et al. (2018) conduziram um estudo observacional prospectivo incluindo 27 pacientes com AIJ. Dez (37%) do total de pacientes apresentaram anti-ADL positivo em pelo menos uma amostra avaliada, dos quais 7 (70%) evoluíram com pelo menos um episódio de reativação da doença. Em comparação, apenas 2 (12%) dos 17 pacientes com anti-ADL negativo evoluíram com reativação da doença. É importante ressaltar que os pacientes só foram incluídos após 3 meses de terapia com ADL, não havendo dados disponíveis entre o início da exposição ao ADL e a entrada no estudo. Além disso, a coleta de soro para avaliação de anticorpo anti-ADL ocorreu a intervalos irregulares, com média de $6 \pm 3,5$ meses de intervalo entre as amostras, e 8/27 pacientes incluídos tiveram apenas uma amostra coletada. Em ambos estudos (SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015; MARINO et al., 2018) não foi possível determinar o momento em que teve início a

produção de anticorpo anti-ADL ou a cinética da produção do anticorpo anti-ADL e sua correlação com as concentrações séricas de ADL ao longo do tempo.

Outros estudos não observaram nenhuma associação entre a presença de anticorpos anti-ADL e reativação da AIJ (LOVELL et al., 2008; IMAGAWA et al., 2012; BURGOS-VARGAS et al., 2015).

2. JUSTIFICATIVA

Os estudos sobre a imunogenicidade ao ADL em pacientes com AIJ publicados até o presente momento fornecem dados escassos e conflitantes sobre a relevância clínica da presença de anticorpos anti-ADL nesta população.

Além disso, não existem trabalhos avaliando a cinética da produção de anticorpos anti-ADL através de um desenho prospectivo de longo prazo padronizado com início na introdução de ADL. Ademais, a avaliação de preditores para a produção de anticorpos anti-ADL entre pacientes com AIJ também não foi avaliada.

A identificação de preditores de resposta à terapia com ADL visa garantir um adequado controle de atividade de doença em pacientes com AIJ, a fim de prevenir danos articulares e oculares permanentes, diminuindo a morbidade e promovendo melhor qualidade de vida para essa população.

3. OBJETIVOS

Objetivo primário:

- Avaliar a produção longitudinal de anticorpo anti-ADL e sua possível associação com a concentração sérica de ADL em pacientes com AIJ tratados com ADL.

Objetivos secundários:

- Avaliar possíveis fatores clínicos e laboratoriais e medicações concomitantes presentes no momento basal preditores do desenvolvimento de anticorpos anti-ADL.

- Avaliar a associação entre o anticorpo anti-ADL e a ocorrência de reações adversas ao ADL.

4. PACIENTES E MÉTODOS

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo observacional, longitudinal, de desenho prospectivo. Foram incluídos 30 pacientes consecutivos com diagnóstico de AIJ de acordo com os critérios da ILAR (PETTY et al., 2004) que iniciaram terapia com ADL após falha de DMARDs sintéticas ou biológicas. Todos os pacientes foram tratados com ADL no Centro de Dispensação de Medicação de Alto Custo (CEDMAC) do HC-FMUSP no período de junho/2010 a outubro/2016 com soros seriados estocados a -80°C.

Para determinação das concentrações séricas de ADL e dos anticorpos anti-ADL, foram utilizadas as amostras de soros estocadas em biorrepositório do momento basal (imediatamente pré-introdução de ADL), 2 meses, 3 meses, 6 meses, 12 meses e 24 meses. Essas amostras foram obtidas imediatamente antes da aplicação da medicação.

4.2. Critérios de inclusão

- Critérios da *International League Against Rheumatism* - ILAR (PETTY et al., 2004).
- Uso de terapia com ADL no CEDMAC a partir de 2010.
- Idade de início de terapia com ADL menor ou igual a 26 anos incompletos.

4.3. Critérios de exclusão

- Pacientes que não possuíam soro estocado a -80° coletados no tempo basal e a cada 6-8 semanas após início da terapia com ADL.

- Pacientes com tempo de terapia com ADL inferior a 3 meses.

4.4. Termo de consentimento livre e esclarecido

Um termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido de todos os pacientes e/ou seus guardiões legais, no caso de pacientes com até 18 anos incompletos.

4.5. Aprovação pelo Comitê de Ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Pesquisa do HCFMUSP (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética: CAAE 39705014.6.0000.0068).

4.6. Avaliação clínico-laboratorial

Os parâmetros clínicos e laboratoriais foram obtidos através de revisão dos dados longitudinalmente registrados em prontuário eletrônico nas visitas pré-determinadas realizadas nos dias das coletas das amostras de soro (basal, 2 meses, 3 meses, 6 meses, 12 meses e 24 meses). Parâmetros clínicos incluíram: número de articulações ativas e limitadas, avaliação global de atividade de doença pelo paciente

ou responsável e pelo médico, medida em cm em uma escala visual analógica (EVA) horizontal de 10 cm e a versão brasileira validada do *Childhood Health Assessment Questionnaire* (CHAQ) (MACHADO et al., 2001) para pacientes com até 18 anos, e o *Health Assessment Questionnaire* (HAQ) (FERRAZ et al., 1990) para pacientes com mais de 18 anos. Atividade de doença foi avaliada através do escore *Juvenile Arthritis Disease Activity Score* (JADAS-71) (variação: 0-101 pontos) para pacientes até 18 anos (CONSOLARO et al., 2009) e pelo *Disease Activity Score 28-Joint Counts* (DAS28) para pacientes com mais de 18 anos (VAN RIEL, 2014). A avaliação laboratorial incluiu: velocidade de hemossedimentação (VHS) (método de Westergren) e proteína C reativa (PCR) (nefelometria), no momento basal e em visitas subsequentes; FAN por imunofluorescência indireta em células HEp-2; FR por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA); concentração sérica de imunoglobulinas (IgG, IgA e IgM) por ensaio imunoturbidimétrico no momento base.

Como critério de resposta clínica estabelecido na literatura foi avaliada a resposta *American College of Rheumatology Pediatric 30* (ACR Pedi 30) (GIANNINI et al., 1997). A resposta ACR PEDi 30 é definida como melhora de pelo menos 30% desde o momento basal em pelo menos 3 entre 6 variáveis (número de articulações ativas, número de articulações limitadas, CHAQ, EVA do paciente/responsável, EVA do médico e VHS), sem que haja piora $\geq 30\%$ em mais do que uma dessas variáveis. A falha terapêutica foi definida para cada subtipo de AIJ de acordo com as recomendações de tratamento do ACR de 2011 (BEUKELMAN et al., 2011).

O uso de medicações concomitantes também foi avaliado, incluindo AINEs, prednisona e DMARDs (metotrexato, leflunomida, sulfassalazina e ciclosporina).

Os pacientes que necessitaram de troca para outro medicamento biológico foram avaliados quanto ao motivo de troca: falha primária, secundária e eventos adversos. Foi realizada uma análise dos fatores clínicos e laboratoriais e drogas concomitantes associados à concentração sérica do ADL e a presença de anticorpo anti-ADL.

4.7. Quantificação da concentração sérica de anticorpo anti-ADL

A monitorização da imunogenicidade de ADL foi feita pela quantificação de anticorpos específicos no soro de pacientes na introdução do biológico e após 2 meses, 3 meses, 6 meses, 12 meses e 24 meses. A técnica utilizada foi ELISA de ponte (*bridging* ELISA), seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante dos kits (Promonitor®-anti-ADL ELISA, Proteomika SLU, Espanha) que se baseia na bivalência das subclasses IgG1, IgG2 e IgG3 de interligar moléculas do agente biológico imobilizado na placa. Os kits são fornecidos com placas de microtitulação previamente sensibilizadas e com todos os reagentes prontos para uso.

Promonitor®-anti-ADL: as placas de microtitulação que acompanham o kit são pré-sensibilizadas com ADL. A incubação das amostras de soro permite que anticorpos anti-ADL presentes no soro se liguem ao ADL imobilizado à placa e sua detecção é feita pela adição de ADL conjugado com peroxidase. A atividade enzimática residual é estimada pelo desenvolvimento de cor após a adição do substrato cromogênico. A intensidade de cor desenvolvida na reação é medida em espectrofotômetro e a densidade ótica (DO) registrada. O título de anticorpos anti-ADL é calculado pela interpolação da DO de cada amostra na curva de calibração construída utilizando os valores de DO de várias diluições de soro referência contendo anticorpos anti-ADL que acompanha o kit. Os resultados são expressos em unidades arbitrarias/mililitro (UA/mL).

Concentrações séricas de anticorpo anti-ADL superiores a 10UA/mL foram classificadas como positivas.

4.8. Quantificação da concentração sérica de ADL

A quantificação de ADL na forma livre em amostras de soro dos pacientes foi feita pela técnica de ELISA tipo captura seguindo o protocolo do fabricante dos kits (Promonitor® ADL ELISA, Proteomika SLU, Espanha). Os kits são fornecidos com placas de microtitulação previamente sensibilizadas e com todos os reagentes prontos para uso.

Promonitor®-ADL: As placas de microtitulação que acompanham o kit são pré-sensibilizadas com fragmento F(ab')₂ humano anti-ADL. A incubação das amostras de soro dos pacientes resulta na ligação das moléculas livres destes agentes biológicos aos anticorpos específicos imobilizados à placa. O agente biológico sérico que se ligou à placa é detectado pela adição subsequente de anticorpo monoclonal anti-ADL conjugado com peroxidase. A atividade enzimática é estimada pela adição do substrato cromogênico e posterior leitura da intensidade de cor desenvolvida em espectrofotômetro. A concentração de ADL é calculada pela interpolação da leitura da DO das amostras numa curva de calibração (DO *versus* concentração em mcg/mL de ADL).

A concentração sérica de ADL é detectável a partir de 0,024mcg/mL.

4.9. Análise estatística

Foi incluída uma amostra de conveniência de 30 pacientes.

Os pacientes foram posteriormente classificados de acordo com a positividade de anticorpo anti-ADL aos 3 meses para a avaliação de fatores preditivos basais para o desenvolvimento de anticorpo anti-ADL, considerando que este foi o primeiro momento em que foi observado um aumento significativo na frequência de anti-ADL positivo.

Os resultados foram apresentados como número (porcentagem) para variáveis categóricas, e mediana (variação) ou média \pm desvio padrão para variáveis contínuas. Variáveis categóricas foram comparadas pelo teste exato de Fisher, enquanto as variáveis quantitativas pelos testes *t-Student* e *Mann-Whitney*, quando aplicáveis. A análise de medidas repetidas foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste Tukey.

Modelos de regressão logística foram utilizados para a identificação de fatores de risco presentes no momento basal para o desenvolvimento de anticorpo anti-ADL.

No modelo multivariado foram incluídas como variáveis independentes aquelas com nível de significância menor que 5% no modelo univariado. Os resultados foram apresentados como *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95%.

Em todos os testes estatísticos o nível de significância da variável independente foi estabelecido em 5% ($p < 0,05$).

As variáveis independentes estudadas no modelo multivariado foram:

- Sexo feminino
- JADAS-71 ao início da terapia com ADL, posteriormente dividido em três faixas:

JADAS-71 elevado: $>10,5$ para subtipo poliarticular e $>4,2$ para subtipo oligoarticular

JADAS-71 moderado/elevado: $>3,8$ para subtipo poliarticular e $>2,0$ para subtipo oligoarticular, incluindo os pacientes do subgrupo anterior

JADAS-71 baixo: $<3,8$ para subtipo poliarticular e $<2,0$ para subtipo oligoarticular

- VHS $> 30\text{mm}/1^{\text{a}}\text{h}$
- Terapia concomitante com metotrexato à introdução de ADL
- Terapia concomitante com leflunomida à introdução de ADL

O programa utilizado para as análises estatísticas foi Sigma Stat software versão 3.1 (2005, USA) e MedCalc online (https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php).

5. RESULTADOS

5.1. Características clínicas dos pacientes

A média de idade dos pacientes com AIJ ao início da terapia com ADL foi de 14,5 \pm 6,4 anos, 67% dos pacientes eram do sexo feminino e a média de duração da doença à introdução do ADL foi 7,8 \pm 5,5 anos. Considerando a distribuição por subtipo de AIJ, 43% dos pacientes pertenciam ao subtipo poliarticular (FR positivo e negativo), 27% sistêmico, 20% oligoarticular, 7% artrite relacionada a entesite e 3% artrite psoriásica juvenil. Em 20% dos pacientes, a indicação para terapia com ADL foi atividade de uveíte.

Apenas sete dos 30 (23%) pacientes não tinham sido previamente expostos a outros biológicos.

As características clínicas, laboratoriais e de tratamento concomitante à introdução do ADL para cada subtipo de AIJ estão descritas na **Tabela 1**.

Tabela 1 – Dados clínicos e demográficos basais dos pacientes para cada subtipo de artrite idiopática juvenil

Subtipo	Poliarticular	Sistêmico	Oligoarticular	Artrite relacionada a entesite	Artrite psoriásica	Total
Variáveis	n=13	n=8	n=6	n=2	n=1	n=30
Dados demográficos						
Sexo feminino	11 (85)	5 (63)	3 (50)	0	1	20 (67)
Idade ao início de ADL, anos	16,9 (6,8 – 22,3)	12,0 (4,7 – 19,4)	9,6 (7,6 – 25,4)	20,8 (20,3– 21,3)	11,5	14,5 ± 6,4
Duração da doença até o início de ADL, anos	7,9 (1,6 – 22,2)	6,5 (2,7 – 10,6)	4,2 (1,4 – 17,4)	1,5*	1,3	7,8 ± 5,5
Auto-anticorpos						
FAN positivo	7 (54)	1 (13)	4 (67)	1 (50)	0	13 (43)
Fator reumatoide positivo	3 (23)	0	0	0	0	3 (10)
Atividade de doença						
CHAQ/ HAQ	1,1 (0 – 2,8)	0,6 (0,3 – 2,4)	0,4 (0 – 3,0)	2,3*	0	0,9 ± 0,9
JADAS-71	12,3 (0 – 48,3)	15,2 (5,2 – 93,0)	10,5 (0 – 13,6)	1,5 (0 – 3)	8,9	11,5 (0 – 93,0)
DAS28	4,6 (4,2 – 6,1)	4,6*	2,4*	1,1*	-	3,9 ± 1,7
EVA global do médico	4,5 (0 – 8)	5 (1 – 8)	3 (0 – 5)	1*	5,5	4,1 ± 2,4
EVA global do paciente/responsável	3,5 (0 – 10)	2 (0 – 7)	5,5 (0 – 8)	2*	5,5	3,8 ± 2,7
VHS, mm/1 ^h	30 (7 – 74)	43 (22 – 75)	12 (5 – 46)	6 (3 – 9)	24	31,7 ± 20,9
PCR, mg/L	22,5 (0,2 – 59,2)	56,9 (11,5 – 305,9)	0,5 (0,1 – 30,6)	16,1 (0,2 – 30,6)	0,3	27,6 (0,1 – 305,9)
Uveíte ativa	2 (15)	1 (13)	3 (50)	0	1	7 (23)
Tratamento						
AINEs	10 (77)	6 (75)	3 (50)	1 (50)	1	21 (70)
Prednisona	4 (31)	7 (88)	2 (33)	1 (50)	1	15 (50)
Dose mg/dia	10 (5 – 15)	20 (3 – 30)	10 (5 – 15)	40,0	7,5	15,0 ± 10,4
DMARDs	13 (100)	8 (100)	4 (67)	1 (50)	1	27 (90)
Metotrexato	7 (54)	5 (63)	3 (50)	1 (50)	1	17 (57)
Dose mg/semana	22,5 (12,5 – 42,5)	35,0 (12,5 – 50,0)	20,0 (15,0 – 20,0)	5,0	40,0	26,2 ± 13,2
Leflunomida	7 (54)	6 (75)	1 (17)	0	0	14 (47)
Sulfassalazina	0	0	0	1 (50)	0	1 (3)
Ciclosporina	4 (31)	1 (13)	1 (17)	1 (50)	0	7 (23)
Exposição prévia a biológico	12 (92)	7 (88)	2 (33)	1 (50)	1	23 (77)
Anti-TNF						
Etanercepte	10 (77)	7 (88)	2 (33)	1 (50)	1	21 (70)
Infliximabe	9 (69)	7 (88)	1 (17)	1 (50)	1	19 (63)

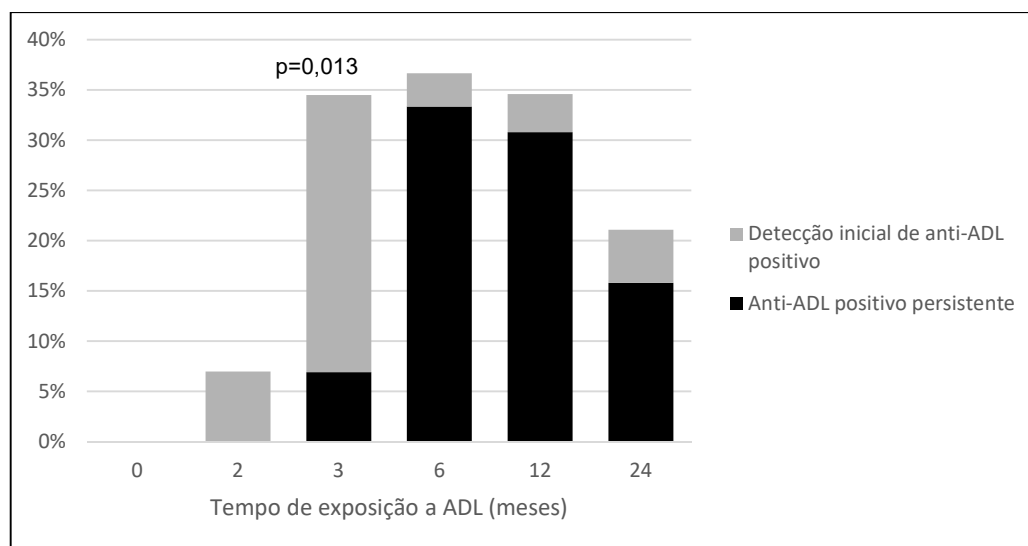
Abatacept	2 (15)	0	1 (17)	0	0	3 (10)
Tocilizumabe	2 (15)	0	0	0	0	2 (7)
	0	1 (13)	0	0	0	1 (3)

Resultados apresentados em n (%), mediana (variação) ou média \pm desvio padrão; ADL= adalimumabe; FAN= fator antinuclear; CHAQ= *childhood health assessment questionnaire*; HAQ= *health assessment questionnaire*; JADAS-71= *juvenile arthritis disease activity score 71-joint counts*; DAS28= *disease activity score 28-joint counts*; EVA= escala visual analógica; VHS= velocidade de hemossedimentação; PCR= proteína C reativa; AINEs= anti-inflamatórios não esteroidais; DMARDs= drogas antirreumáticas modificadoras de doença. *Dados referentes aos pacientes não disponível, dados faltantes foram desconsiderados da presente análise.

5.2. Cinética do anticorpo anti-adalimumabe

Anticorpos anti-ADL estavam ausentes no momento basal, sendo inicialmente detectados 2 meses após a introdução de ADL em 2/30 (7%) pacientes, com aumento significativo aos 3 meses [10/29 (34%), $p=0,013$] e sem mudança significativa aos 6 meses [11/30 (37%)], 12 meses [9/26 (35%)] e 24 meses [4/19 (21%)] ($p>0,05$) (**Figura 1**). Considerando-se o momento em que anticorpos anti-ADL foram inicialmente detectados, 2 pacientes apresentaram anti-ADL positivo aos 2 meses, 8 aos 3 meses, 1 aos 6 meses, 1 aos 12 meses e 1 aos 24 meses.

Figura 1 – Cinética do anticorpo anti-adalimumabe



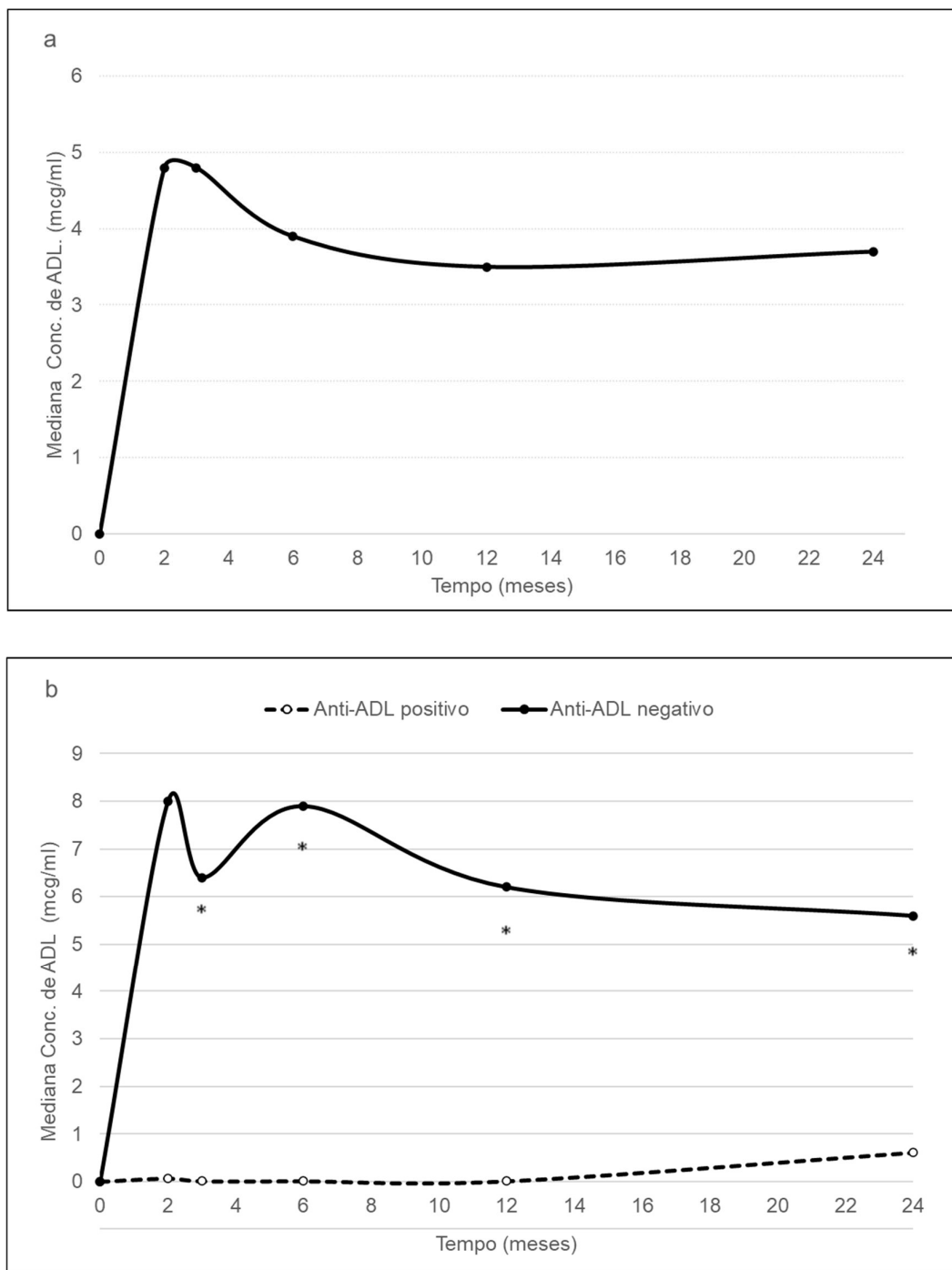
Frequência (%) de anticorpo anti-adalimumabe (anti-ADL) para todos os pacientes ($n = 30$) relacionado ao tempo de exposição à terapia com adalimumabe (ADL). Frequência de anti-ADL identificado pela primeira vez (*coluna cinza*) e frequência de anti-ADL positivo persistente (*coluna preta*).

Com relação ao subtipo de AIJ, entre os pacientes com anticorpos anti-ADL detectados em pelo menos uma medida durante o seguimento de 24 meses, 3 pacientes pertenciam ao subtipo oligoarticular, 8 ao poliarticular e 2 ao sistêmico. Já o grupo de pacientes com anticorpo anti-ADL negativo em todas as medidas incluiu 3

pacientes com AIJ oligoarticular, 5 com AIJ poliarticular, 6 com AIJ sistêmica, 2 com artrite relacionada a entesite e 1 com artrite psoriásica juvenil.

5.3. Cinética da concentração sérica de adalimumabe

As medianas e intervalo observado da concentração sérica de ADL para todos os pacientes foram: zero no momento basal, 4,8 (0 – 13) mcg/mL aos 2 meses, 4,8 (0 – 13) mcg/mL aos 3 meses, 3,9 (0 – 13) mcg/mL aos 6 meses, 3,5 (0 – 13) mcg/mL aos 12 meses e 3,7 (0 – 13) mcg/mL aos 24 meses (**Figura 2a**). Os pacientes foram posteriormente classificados de acordo com a positividade de anticorpo anti-ADL aos 3 meses. A comparação da concentração de ADL de pacientes com anticorpo anti-ADL positivo e negativo evidenciou maiores níveis de concentração de ADL no grupo com anti-ADL negativo ($p < 0,05$) (**Figura 2b**). Ademais, os níveis de anticorpo anti-ADL se correlacionaram negativamente com a concentração sérica de ADL aos 3 meses ($r = -0,781$, $p < 0,0001$), 6 meses ($r = -0,831$, $p < 0,0001$), 12 meses ($r = -0,822$, $p < 0,0001$) e 24 meses ($r = -0,729$, $p = 0,0006$).

Figura 2 – Cinética do adalimumabe

Mediana da concentração sérica de adalimumabe (ADL) (mcg/mL). **a** Mediana da concentração sérica de ADL para todos os pacientes (N=30). **b** Mediana da concentração sérica de ADL em pacientes com anticorpo anti-adalimumabe (anti-ADL) negativo (N=20, *marcadores pretos e linha contínua*) e anti-ADL positivo (N=10, *marcadores brancos e linha tracejada*). * $p < 0,001$ quando comparada a concentração de ADL em pacientes com anti-ADL positivo e negativo.

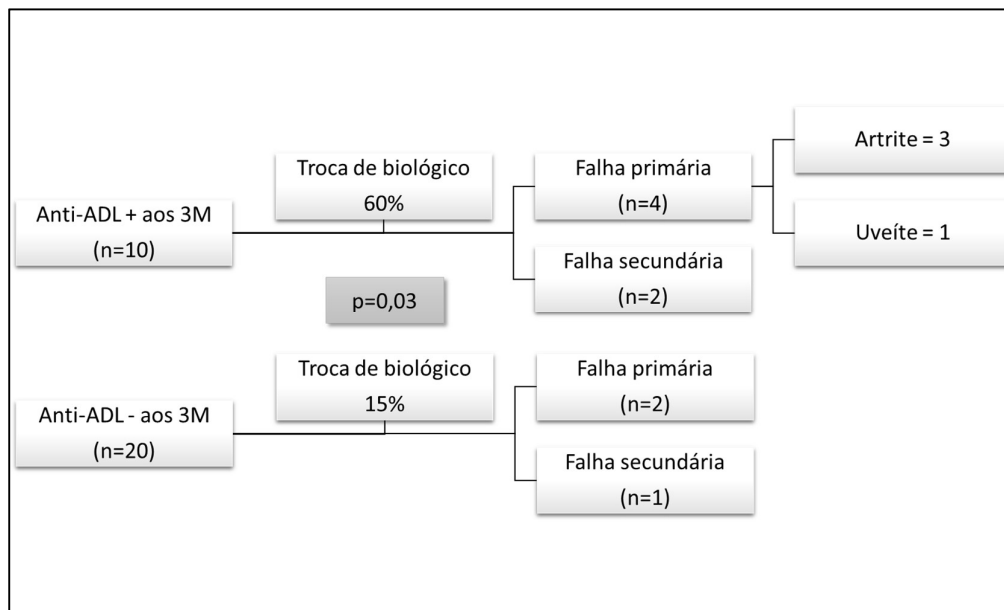
5.4. Anticorpo anti-adalimumabe e atividade de doença

A comparação dos parâmetros clínicos após 3 meses de terapia com ADL demonstrou que os pacientes com anticorpo anti-ADL positivo aos 3 meses apresentavam maiores parâmetros de atividade de doença: EVA avaliado pelo paciente [4,5 (0-7) vs. 1 (0-5), $p=0,043$], EVA avaliado pelo médico [3 (0-6) vs. 0 (0-5), $p=0,035$] e JADAS-71 [9,8 (0-31,8) vs. 2,7 (0-14,9), $p=0,005$]. Considerando-se o total de 30 pacientes, 40% alcançou o ACR PEDi 30 após 3 meses de terapia com ADL, sem diferença significativa entre os grupos com anticorpo anti-ADL positivo e negativo [20% vs. 50%, $p=0,235$].

Após 12 meses de terapia com ADL, 60% dos pacientes com anticorpo anti-ADL positivo aos 3 meses necessitaram de troca de biológico por falha terapêutica, primária em 4 pacientes (3 com atividade articular e 1 com atividade de uveíte) e secundária em 2 pacientes. Por outro lado, no grupo com anticorpo anti-ADL negativo, apenas 15% dos pacientes necessitaram de troca de biológico associada a falha terapêutica, sendo primária em 2 pacientes e secundária em 1 paciente ($p=0,03$) (**Figura 3**).

Nenhum dos pacientes incluídos no presente estudo necessitou de troca do ADL associada a ocorrência de reação adversa.

Figura 3 – Frequência de troca de biológico após 12 meses de terapia com adalimumabe associado a falha terapêutica



Frequência de troca de biológico após 12 meses de terapia com adalimumabe associado a falha terapêutica primária ou secundária. Comparação entre pacientes com anticorpo anti-adalimumabe positivo (anti-ADL +) aos 3 meses (3M) (N=10) e pacientes com anticorpo anti-adalimumabe negativo (anti-ADL -) aos 3 meses (N=20).

5.5. Preditores basais da produção de anticorpo anti-ADL

Os grupos de pacientes com anticorpo anti-ADL positivo e anti-ADL negativo aos 3 meses foram comparados de acordo com suas características de base. Sexo feminino [10 (100%) vs. 10 (50%), $p=0,011$], JADAS-71 mais elevado [20,7 (0 – 93) vs. 9,5 (0 – 19,5), $p=0,022$], VHS mais elevado [44,6 ± 24,5 vs. 25,3 ± 15,9 mm/1^ah, $p=0,014$], e uso concomitante de leflunomida [8 (80%) vs. 6 (30%), $p=0,019$] foram associados à presença de anticorpo anti-ADL aos 3 meses de terapia, enquanto o uso concomitante de metotrexato [2 (20%) vs. 15 (75%), $p=0,007$] foi correlacionado à ausência de anticorpo anti-ADL aos 3 meses (**Tabela 2**).

Tabela 2 – Dados clínicos e demográficos no momento basal de pacientes com artrite idiopática juvenil de acordo com a positividade de anticorpo anti-adalimumabe aos 3 meses

Variáveis	Anti-ADL positivo (n=10)	Anti-ADL negativo (n=20)	P
Dados demográficos			
Sexo feminino	10 (100)	10 (50)	0,011
IMC, kg/m ²	19,3 (14,9 – 22,5)	19,3 (12 – 26,2)	0,540
Idade ao início de ADL, anos	15,0 (5,1– 25,3)	14,2 (4,7– 25,4)	0,775
Duração da doença até o início de ADL, anos	9,3 ± 5,9	6,9 ± 5,2	0,279
Imunoglobulinas			
IgA, mg/dL	261,7 ± 200,6	244,6 ± 121,3	0,803
IgM, mg/dL	224,1 ± 107,0	182,5 ± 115,6	0,404
IgG, mg/dL	1731,6 ± 566,5	1476,5 ± 463,9	0,271
Atividade de doença			
CHAQ/ HAQ	1,0 ± 0,8	0,9 ± 0,9	0,728
JADAS-71	20,7 (0 – 93)	9,5 (0 – 19,5)	0,022
DAS28	5,1 ± 0,9	3,0 ± 1,6	0,108
EVA global do médico	5,1 ± 2,5	3,6 ± 2,3	0,145
EVA global do paciente/responsável	4,4 ± 3,4	3,5 ± 2,4	0,406
VHS, mm/1 ^ª h	44,6 ± 24,5	25,3 ± 15,9	0,014
PCR, mg/L	17,0 (0,2 – 54,4)	29,4 (0,1 – 305,9)	0,403
Uveíte ativa	2 (20)	5 (25)	1,000
Tratamento			
AINEs	9 (90)	12 (60)	0,204
Prednisona	3 (30)	12 (60)	0,245
Dose mg/dia	7,7 ± 4,0	16,9 ± 10,8	0,179
DMARDs	10 (100)	17 (85)	0,532
Metotrexato	2 (20)	15 (75)	0,007
Dose mg/semana	26,2 ± 5,3	26,2 ± 14,1	0,994
Leflunomida	8 (80)	6 (30)	0,019
Sulfassalazina	0	1 (5)	1,000
Ciclosporina	2 (20)	5 (25)	1,000
Exposição prévia a anti-TNF	8 (80)	13 (65)	0,675

Resultados apresentados em n (%), mediana (variação) ou média ± desvio padrão; IMC= índice de massa corporal; ADL= adalimumabe; CHAQ= *childhood health assessment questionnaire*; HAQ= *health assessment questionnaire*; JADAS-71= *juvenile arthritis disease activity score 71-joint counts*; DAS28= *disease activity score 28-joint counts*; EVA= escala visual analógica; VHS= velocidade de hemossedimentação; PCR= proteína C reativa; AINEs= anti-inflamatórios não esteroidais; DMARDs= drogas antirreumáticas modificadoras de doença.

Nenhuma diferença estatística foi observada entre pacientes com anticorpo anti-ADL positivo e negativo considerando-se a exposição prévia a terapia com biológico (90 vs. 70% respectivamente, $p=0,37$). Oito (80%) dos pacientes com anticorpo anti-ADL positivo foram previamente tratados com agentes anti-TNF (etanercepte = 6; infliximabe = 1; infliximabe seguido por etanercepte = 1). Com relação ao grupo com anti-ADL negativo, 13 (65%) dos pacientes estavam em uso de outra terapia anti-TNF antes da introdução de ADL (etanercepte = 12; infliximabe = 1) ($p=0,675$).

A análise de preditores de risco para a produção de anticorpo anti-ADL à introdução de ADL demonstrou um risco significativamente maior de desenvolver anticorpo anti-ADL em pacientes do sexo feminino [OR 21; IC95%, 1,08-406,57, $p=0,044$], VHS $>30\text{mm}/1^{\text{a}}$ hora (OR 5,44; IC95%, 1,04-28,53, $p=0,045$) e uso concomitante de leflunomida (OR 9,33; IC95%, 1,51-57,66, $p=0,016$). Por outro lado, o uso concomitante de metotrexato foi um fator protetor no desenvolvimento de anticorpo anti-ADL (OR 0,08; IC95%, 0,01-0,53, $p=0,009$) (**Tabela 3**).

Tabela 3 – Fatores de risco clínicos, laboratoriais e medicação concomitante no momento basal associados ao desenvolvimento de anticorpo anti-adalimumabe em pacientes com artrite idiopática juvenil

	Anti-ADL positivo n (%)	Anti-ADL negativo n (%)	<i>P</i>	OR	IC 95%	<i>P</i>
CLINICOS						
Sexo feminino	10 (100)	10 (50)	0,011	21,6	1,08 - 406,57	0,044
JADAS-71 elevado*	2 (20)	9 (45)	0,247	3,27	0,55 - 19,45	0,192
JADAS-71 moderado/elevado**	9 (90)	17 (85)	1,000	1,59	0,14 - 17,56	0,706
JADAS-71 baixo***	1 (10)	3 (15)	1,000	0,63	0,06 - 6,96	0,706
LABORATORIAL						
VHS >30 mm/1 ^o h	7 (70)	6 (30)	0,056	5,44	1,04 - 28,53	0,045
TRATAMENTO						
Metotrexato	2 (20)	15 (75)	0,007	0,08	0,01 - 0,53	0,009
Leflunomida	8 (80)	6 (30)	0,019	9,33	1,51 - 57,66	0,016

JADAS-71= *juvenile arthritis disease activity score 71-joint counts*; VHS= velocidade de hemossedimentação.

*JADAS-71 elevado: >10,5 para subtipo poliarticular e >4,2 para subtipo oligoarticular

**JADAS-71 moderado/elevado: >3,8 para subtipo poliarticular e >2,0 para subtipo oligoarticular

*** JADAS-71 baixo: <3,8 para subtipo poliarticular e <2,0 para subtipo oligoarticular

6. DISCUSSÃO

Este foi o primeiro estudo a demonstrar um aumento significativo da produção de anticorpo anti-ADL associado ao tempo de exposição a ADL em pacientes com AIJ. Sexo feminino, VHS elevado e uso concomitante de leflunomida foram identificados como fatores de risco para a produção de anticorpo anti-ADL, enquanto o uso concomitante de metotrexato foi evidenciado como fator de proteção à imunogenicidade ao ADL. Não foi observada nenhuma associação entre a positividade do anticorpo anti-ADL e a ocorrência de reações adversas.

Este estudo confirma e estende observações prévias de que pacientes com anticorpo anti-ADL positivo apresentam maiores parâmetros de atividade de doença (SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015; MARINO et al., 2018). Entretanto, outros estudos não correlacionaram a presença de anticorpo anti-ADL com menores níveis séricos de ADL e falha terapêutica (LOVELL et al., 2008; IMAGAWA et al., 2012; BURGOS-VARGAS et al., 2015). O presente estudo também demonstrou necessidade de troca de biológico mais frequente entre os pacientes com anticorpo anti-ADL positivo.

O desenho prospectivo de longo prazo com intervalos de avaliação padronizados possibilitou a definição da cinética da produção de anticorpo anti-ADL com início após 3 meses de exposição e persistência de anticorpo anti-ADL durante os 24 meses de seguimento do estudo. É importante ressaltar que um padrão semelhante de produção precoce de anticorpo anti-ADL predizendo a resposta à terapia aos 12 meses foi observado em uma população de pacientes com artrite reumatoide (JANI et al., 2015). No entanto, a detecção inicial de anticorpo anti-ADL apenas após 60 meses de exposição foi descrita em dois pacientes com AIJ (IMAGAWA et al., 2012). Dessa forma, os dados observados neste estudo necessitam de confirmação em um número maior de pacientes.

A porcentagem geral de pacientes com AIJ com anticorpo anti-ADL positivo na população estudada (43%) foi maior do que a observada em quatro estudos prévios, de 11 a 26% (LOVELL et al., 2008; SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015; IMAGAWA

et al., 2012; BURGOS-VARGAS et al., 2015) em uma população de AIJ com uso de metotrexato comparável a descrita no presente estudo.

O uso concomitante de metotrexato já foi previamente associado a uma menor frequência de anticorpo anti-ADL positivo em pacientes com AIJ (LOVELL et al., 2008; SKRABL-BAUMGARTNER et al., 2015), além de ter sido descrito como um fator de proteção no desenvolvimento de anticorpo contra agentes biológicos em pacientes adultos com doenças inflamatórias crônicas imunomediadas (EMI AIKAWA et al., 2010). Duas revisões sistemáticas e meta-análises recentes, incluindo pacientes adultos com diferentes doenças em tratamento com diversos anticorpos monoclonais anti-TNF, observaram um efeito protetor do metotrexato na produção de anticorpo anti-ADL, com OR=0,31 (IC95%, 0,18 – 0,54) na revisão de Maneiro et al. (2013) e OR=0,26 (IC95%, 0,21 – 0,32) na revisão de Thomas et al. (2015). O presente estudo fornece a mesma evidência para pacientes com AIJ, também corroborado por Doeleman et al. (2019), que demonstrou um risco relativo (RR) = 0,33 (IC95%, 0,21 – 0,52) em uma revisão sistemática e meta-análise.

O mecanismo pelo qual o metotrexato é capaz de inibir a imunogenicidade ainda é desconhecido. Outros imunomoduladores, como a leflunomida, parecem não oferecer o mesmo efeito protetor. O presente estudo sugere que o uso concomitante de leflunomida no momento basal está relacionado a um maior risco de produção de anticorpo anti-ADL. Dessa forma, o uso de leflunomida na prevenção do desenvolvimento de anticorpos neutralizantes não deve ser recomendado neste momento. Com exceção do metotrexato, o uso concomitante de DMARDs sintéticos, incluindo a leflunomida, parece apresentar um efeito limitado na concentração sérica dos inibidores de TNF, como previamente demonstrado em pacientes adultos com artrite reumatoide.

O metotrexato, por outro lado, possui um efeito benéfico na manutenção da concentração sérica de droga circulantes. Tal efeito pode ser explicado pelo papel do metotrexato na redução da bioatividade do TNF e na diminuição da produção de anticorpos antidroga através de seu efeito imunossupressor na imunidade humoral ao ADL (DUCOURAU et al., 2019; MARTÍNEZ-FEITO et al., 2019; WESSELS et al., 2008). Outro mecanismo pelo qual o metotrexato pode influenciar a concentração sérica de ADL é através da redução do clearance da droga através da maior

expressão do receptor Fc neonatal (FcRn) nos tecidos, como já demonstrado em um modelo animal (DENG et al., 2019). O receptor Fc neonatal está envolvido na homeostase da IgG, impedindo sua degradação intracelular e favorecendo sua reciclagem e retorno ao plasma. Dessa forma, a maior expressão de FcRn promovida pelo metotrexato garante proteção ao ADL, idêntico a IgG em estrutura e função, com inibição de sua degradação intracelular e favorecendo sua recirculação. O uso concomitante de metotrexato pode estar associado ao aumento da meia vida do ADL, contribuindo com uma maior concentração sérica da droga nesse subgrupo de pacientes. O mecanismo pelo qual o metotrexato leva a maior expressão de FcRn ainda não é conhecido. A relação entre o uso de metotrexato e sua influência no metabolismo do ADL requer mais estudos. É importante ressaltar as diferenças entre os regimes de dose de metotrexato e leflunomida. O papel protetor do metotrexato observado pode refletir também uma maior aderência à terapia considerando-se sua administração semanal, em comparação a dose diária recomendada de leflunomida, considerando complexidade do regime de tratamento e a possibilidade de esquecimento da tomada da medicação como fatores previamente associados a pior aderência em pacientes com AIJ (LEN et al., 2014; BUGNI et al., 2012; ADRIANO et al., 2016; FAVIER et al., 2018). Apesar da aderência às medicações concomitantes ter sido questionada em todas as avaliações médicas do presente estudo, as concentrações séricas de metotrexato e leflunomida não foram mensuradas. Também não foi avaliada a frequência de retirada dos medicamentos no centro de dispensação. É necessária a investigação adicional para confirmar a ineficácia da leflunomida na prevenção de produção de anticorpo antidroga.

A associação entre níveis de VHS mais elevados no momento de introdução de ADL e a posterior produção de anticorpos anti-ADL não foi avaliada em estudos prévios envolvendo pacientes com AIJ. Assim, mais estudos são necessários para elucidar o mecanismo pelo qual uma resposta inflamatória mais exacerbada pode predispor a produção de anticorpos anti-ADL nessa população.

O sexo feminino foi identificado como um preditor adicional para a produção de anticorpo antidroga. De forma semelhante, esta observação também foi descrita em uma população de pacientes adultos com artrite inflamatória em terapia com anti-TNF monoclonal (MOK et al., 2013). Tal achado é consistente com o conceito genérico da

influência do sexo feminino no desenvolvimento de autoimunidade (CATTALINI et al., 2017). Entretanto, deve-se considerar que apesar da demonstração da variável sexo feminino como fator de risco para a produção de anticorpo antidroga na presente população, o número de pacientes incluídos no presente estudo é pequeno e o intervalo de confiança observado é bastante amplo (IC95% de 1,1 a 406,6). Dessa forma, mais estudos são necessários para confirmar tal associação.

Este estudo fornece novas evidências sobre a cinética da produção de anticorpo anti-ADL associado ao tempo de exposição a ADL em pacientes com AIJ, demonstrando um aumento significativo após 3 meses de terapia, mantendo-se estável até 24 meses. Sexo feminino, VHS elevado e uso concomitante de leflunomida foram identificados como fatores de risco para o desenvolvimento de anticorpo anti-ADL, enquanto o uso concomitante de metotrexato foi evidenciado como fator de proteção à imunogenicidade ao ADL.

Dessa forma, sugere-se a implementação de investigação de anticorpo anti-ADL na prática clínica de forma sistemática e precoce (após 3 meses do início da terapia), particularmente para os pacientes de apresentam maior risco para imunogenicidade ao ADL, como demonstrado no presente estudo: sexo feminino, VHS >30mm/1ªhora no momento basal ou uso concomitante de leflunomida. Os pacientes com anticorpo anti-ADL positivo após 3 meses de exposição evoluem com maior frequência de falha terapêutica e necessidade de troca de biológico. Dessa forma, a pesquisa de anticorpo anti-ADL deveria ser utilizada como ferramenta para guiar a troca precoce de biológico nesses pacientes, possibilitando uma abordagem terapêutica individualizada a fim de promover melhor controle de atividade de doença, prevenindo assim danos articulares e oculares associados a inflamação crônica e consequente melhora na morbidade e qualidade de vida dos pacientes com AIJ em terapia com ADL.

7. CONCLUSÕES

- Anticorpos anti-ADL foram inicialmente detectados 2 meses após a introdução de ADL, com um aumento significativo em sua frequência após 3 meses de terapia, mantendo-se estável até 24 meses em pacientes com AIJ. Foram evidenciados maiores níveis séricos de ADL no grupo com anti-ADL negativo, com uma correlação negativa significativa entre os níveis de anticorpo anti-ADL e os níveis séricos de ADL aos 3 meses, 6 meses, 12 meses e 24 meses.

- Sexo feminino, VHS elevado e uso concomitante de leflunomida foram identificados como fatores de risco para o desenvolvimento de anticorpo anti-ADL, enquanto o uso concomitante de metotrexato foi evidenciado como fator de proteção à imunogenicidade ao ADL em pacientes com AIJ.

- Não houve associação entre a presença de anticorpo anti-ADL e a ocorrência de reações adversas.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADRIANO, L. S.; FONTELES, M. M.; AZEVEDO, M. F.; BESERRA, M. P.; ROMERO, N. R. Medication adherence in patients with juvenile idiopathic arthritis. Adesão ao tratamento farmacológico em pacientes com artrite idiopática juvenil por meio de questionários. **Revista brasileira de reumatologia**, S0482-5004(16)00045-0, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2015.11.004>. Acesso em 02 mai. 2023.
- ANGELES-HAN, S. T.; RINGOLD, S.; BEUKELMAN, T.; LOVELL, D.; CUELLO, C. A.; BECKER, M. L.; COLBERT, R. A.; FELDMAN, B. M.; HOLLAND, G. N.; FERGUSON, P. J.; GEWANTER, H.; GUZMAN, J.; HORONJEFF, J.; NIGROVIC, P. A.; OMBRELLO, M. J.; PASSO, M. H.; STOLL, M. L.; RABINOVICH, C. E.; SEN, H. N.; SCHNEIDER, R.; HALYABAR O.; HAYS K.; SHAH A.A.; SULLIVAN N.; SZYMANSKI A.M.; TURGUNBAEV M.; TURNER A.; RESTON, J. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Screening, Monitoring, and Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis-Associated Uveitis. **Arthritis care & research**, v. 71, n. 6, p. 703–716, 2019.
- AYAZ, N. A.; KARADAĞ, Ş. G.; ÇAKMAK, F.; ÇAKAN, M.; TANATAR, A.; SÖNMEZ, H. E. Leflunomide treatment in juvenile idiopathic arthritis. **Rheumatology international**, v. 39, n. 9, p. 1615–1619, 2019.
- BEUKELMAN, T.; PATKAR, N.M.; SAAG, K.G.; TOLLESON-RINEHART, S.; CRON, R.Q.; DEWITT, E.M.; ILOWITE, N.T.; KIMURA, Y.; LAXER, R.M.; LOVELL, D.J.; MARTINI, A.; RABINOVICH, C.E.; RUPERTO, N. 2011 American College of Rheumatology recommendations for the treatment of juvenile idiopathic arthritis: initiation and safety monitoring of therapeutic agents for the treatment of arthritis and systemic features. **Arthritis care & research**, v. 63, n.4, p. 465–482, 2011.
- BUGNI, V. M.; OZAKI, L. S.; OKAMOTO, K. Y.; BARBOSA, C. M.; HILÁRIO, M. O.; LEN, C. A.; TERRERI, M. T. Factors associated with adherence to treatment in children and adolescents with chronic rheumatic diseases. **Jornal de pediatria**, v. 88, n. 6, p. 483–488, 2012.
- BURGOS-VARGAS, R.; TSE, S. M.; HORNEFF, G.; PANGAN, A. L.; KALABIC, J.; GOSS, S.; UNNEBRINK, K.; ANDERSON, J. K. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Multicenter Study of Adalimumab in Pediatric Patients With Enthesitis-Related Arthritis. **Arthritis care & research**, v. 67, n. 11, p. 1503–1512, 2015.
- CATTALINI, M.; SOLIANI, M.; CAPARELLO, M. C.; CIMAZ, R. Sex Differences in Pediatric Rheumatology. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 56, n. 3, p. 293–307, 2019.
- CONSOLARO, A.; RUPERTO, N.; PISTORIO, A.; LATTANZI, B.; SOLARI, N.; GALASSO, R.; PEDERZOLI, S.; VARNIER, G. C.; DOLEZALOVA, P.; ALESSIO,

- M.; BURGOS-VARGAS, R.; VESELY, R.; MARTINI, A.; RAVELLI, A.; Paediatric Rheumatology International Trials Organisation. Development and initial validation of composite parent- and child-centered disease assessment indices for juvenile idiopathic arthritis. **Arthritis care & research**, v. 63, n. 9, p. 1262–1270, 2011.
- DENG, Y.; LIU, L.; QIANG, W.; HU, L.; CHENG, Z. Methotrexate reduces the clearance of adalimumab by increasing the concentration of neonatal Fc receptor in tissues. **Pharmaceutical Research**, v. 36, n. 11, p. 157, 2019. DICK, A. D.; FORRESTER, J. V.; LIVERSIDGE, J.; COPE, A. P. The role of tumour necrosis factor (TNF-alpha) in experimental autoimmune uveoretinitis (EAU). **Progress in retinal and eye research**, v. 23, n. 6, p. 617–637, 2004.
- DOELEMAN, M.; VAN MAARSEVEEN, E. M.; SWART, J. F. Immunogenicity of biologic agents in juvenile idiopathic arthritis: a systematic review and meta-analysis. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 58, n. 10, p. 1839–1849, 2019.
- DUCOURAU, E.; RISPENS, T.; SAMAIN, M.; DERNIS, E.; LE GUILCHARD, F.; ANDRAS, L.; PERDRIGER, A.; LESPESSAILLES, E.; MARTIN, A.; CORMIER, G.; ARMINGEAT, T.; DEVAUCHELLE-PENSEC, V.; GERVAIS, E.; LE GOFF, B.; DE VRIES, A.; PIVER, E.; PAINAUD, G.; DESVIGNES, C.; TERNANT, D.; WATIER, H.; GOUPILLE, P.; MULLEMAN, D. Methotrexate effect on immunogenicity and long-term maintenance of adalimumab in axial spondyloarthritis: a multicentric randomised trial. **RMD Open**, v. 6, n. 1, e001047, 2020. DOI: 10.1136/rmdopen-2019-001047. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2019-001047>. Acesso em 02 mai. 2023.
- EBERHARD, B. A.; LAXER, R. M.; ANDERSSON, U.; SILVERMAN, E. D. Local synthesis of both macrophage and T cell cytokines by synovial fluid cells from children with juvenile rheumatoid arthritis. **Clinical and experimental immunology**, v. 96, n. 2, p. 260–266, 1994.
- EMI AIKAWA, N.; DE CARVALHO, J. F.; ARTUR ALMEIDA SILVA, C.; BONFÁ, E. Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases. **Clinical reviews in allergy & immunology**, v. 38, n. 2-3, p. 82–89, 2010.
- FAVIER, L. A.; TAYLOR, J.; LOISELLE RICH, K.; JONES, K. B.; VORA, S. S.; HARRIS, J. G.; GOTTLIEB, B. S.; ROBBINS, L.; LAI, J. T.; LEE, T.; KOHLHEIM, M.; GILL, J.; BOUSLAUGH, L.; YOUNG, A.; GRIFFIN, N.; MORGAN, E. M.; MODI, A. C. Barriers to Adherence in Juvenile Idiopathic Arthritis: A Multicenter Collaborative Experience and Preliminary Results. **The Journal of rheumatology**, v. 45, n. 5, p. 690–696, 2018.
- FERRAZ, M. B.; OLIVEIRA, L. M.; ARAUJO, P. M.; ATRA, E.; TUGWELL, P. Crosscultural reliability of the physical ability dimension of the health assessment questionnaire. **The Journal of rheumatology**, v. 17, n. 6, p. 813–817, 1990.
- GIANNINI, E. H.; RUPERTO, N.; RAVELLI, A.; LOVELL, D. J.; FELSON, D. T.; & MARTINI, A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. **Arthritis and rheumatism**, v. 40, n. 7, p. 1202–1209, 1997.

- GROM, A. A.; MURRAY, K. J.; LUYRINK, L.; EMERY, H.; PASSO, M. H.; GLASS, D. N.; BOWLIN, T.; EDWARDS, C., 3RD. Patterns of expression of tumor necrosis factor alpha, tumor necrosis factor beta, and their receptors in synovia of patients with juvenile rheumatoid arthritis and juvenile spondylarthropathy. **Arthritis and rheumatism**, v. 39, n. 10, p. 1703–1710, 1996.
- GUTIÉRREZ-SUÁREZ, R.; PISTORIO, A.; CESPEDES CRUZ, A.; NORAMBUENA, X.; FLATO, B.; RUMBA, I.; HARJACEK, M.; NIELSEN, S.; SUSIC, G.; MIHAYLOVA, D.; HUEMER, C.; MELO-GOMES, J.; ANDERSSON-GARE, B.; BALOGH, Z.; DE CUNTO, C.; VESELY, R.; PAGAVA, K.; ROMICKA, A. M.; BURGOS-VARGAS, R.; MARTINI, A.; RUPERTO, N.; PEDIATRIC RHEUMATOLOGY INTERNATIONAL TRIALS ORGANISATION (PRINTO). Health-related quality of life of patients with juvenile idiopathic arthritis coming from 3 different geographic areas. The PRINTO multinational quality of life cohort study. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 46, n. 2, p. 314–320, 2007.
- IMAGAWA, T.; TAKEI, S.; UMEBAYASHI, H.; YAMAGUCHI, K.; ITOH, Y.; KAWAI, T.; IWATA, N.; MURATA, T.; OKAFUJI, I.; MIYOSHI, M.; ONOE, Y.; KAWANO, Y.; KINJO, N.; MORI, M.; MOZAFFARIAN, N.; KUPPER, H.; SANTRA, S.; PATEL, G.; KAWAI, S.; YOKOTA, S. Efficacy, pharmacokinetics, and safety of adalimumab in pediatric patients with juvenile idiopathic arthritis in Japan. **Clinical rheumatology**, v. 31, n. 12, p. 1713–1721, 2012.
- JANI, M.; CHINOY, H.; WARREN, R. B.; GRIFFITHS, C. E.; PLANT, D.; MORGAN, A. W.; WILSON, A. G.; HYRICH, K. L.; ISAACS, J.; BARTON, A. Clinical utility of random anti-tumour necrosis factor drug testing and measurement of anti-drug antibodies on long-term treatment response in rheumatoid arthritis. **Lancet (London, England)**, v. 385, Supl. 1, S48, 2015.
- LEN, C. A.; MIOTTO E SILVA, V. B.; TERRERI, M. T. Importance of adherence in the outcome of juvenile idiopathic arthritis. **Current rheumatology reports**, v. 16, n. 4, p. 410, 2014.
- LEINONEN, S. T.; AALTO, K.; KOTANIEMI, K. M.; KIVELÄ, T. T. Anti-adalimumab antibodies in juvenile idiopathic arthritis-related uveitis. **Clinical and experimental rheumatology**, v. 35, n. 6, p. 1043–1046, 2017.
- LOVELL, D. J.; BRUNNER, H. I.; REIFF, A. O.; JUNG, L.; JAROSOVA, K.; NĚMCOVÁ, D.; MOUY, R.; SANDBORG, C.; BOHNSACK, J. F.; ELEWAUT, D.; GABRIEL, C.; HIGGINS, G.; KONE-PAUT, I.; JONES, O. Y.; VARGOVÁ, V.; CHALOM, E.; WOUTERS, C.; LAGUNES, I.; SONG, Y.; MARTINI, A.; RUPERTO, N. Long-term outcomes in patients with polyarticular juvenile idiopathic arthritis receiving adalimumab with or without methotrexate. **RMD open**, v. 6, n. 2, e001208, 2020. DOI: 10.1136/rmdopen-2020-001208. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2020-001208>. Acesso em 15 mai. 2021.
- LOVELL, D. J.; GIANNINI, E. H.; REIFF, A.; CAWKWELL, G. D.; SILVERMAN, E. D.; NOCTON, J. J.; STEIN, L. D.; GEDALIA, A.; ILOWITE, N. T.; WALLACE, C. A.; WHITMORE, J.; FINCK, B. K. Etanercept in children with polyarticular juvenile

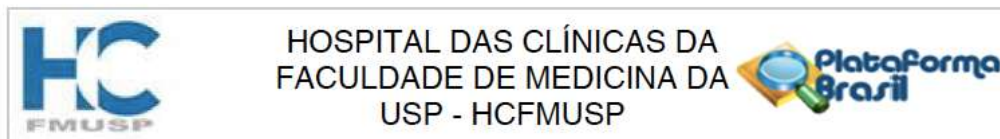
- rheumatoid arthritis. Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. **The New England journal of medicine**, v. 342, n. 11, p. 763–769, 2000.
- LOVELL, D. J.; RUPERTO, N.; GOODMAN, S.; REIFF, A.; JUNG, L.; JAROSOVA, K.; NEMCOVA, D.; MOUY, R.; SANDBORG, C.; BOHNSACK, J.; ELEWAUT, D.; FOELDVARI, I.; GERLONI, V.; ROVENSKY, J.; MINDEN, K.; VEHE, R. K.; WEINER, L. W.; HORNEFF, G.; HUPPERTZ, H. I.; OLSON, N. Y.; MEDICH, J. R.; CARCERERI-DE-PRATI, R.; MCILRAITH, M. J.; GIANNINI, E. H.; MARTINI, A.; PEDIATRIC RHEUMATOLOGY INTERNATIONAL TRIALS ORGANISATION. Adalimumab with or without methotrexate in juvenile rheumatoid arthritis. **The New England journal of medicine**, v. 359, n. 8, p. 810–820, 2008.
- MACHADO, C. S.; RUPERTO, N.; SILVA, C. H.; FERRIANI, V. P.; ROSCOE, I.; CAMPOS, L. M.; OLIVEIRA, S. K.; KISS, M. H.; BICA, B. E.; SZTAJNBOK, F.; LEN, C. A.; MELO-GOMES, J. A.; PAEDIATRIC RHEUMATOLOGY INTERNATIONAL TRIALS ORGANISATION. The Brazilian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). **Clinical and experimental rheumatology**, v. 19, n. 4, Supl. 23, S25–S29, 2001.
- MAHMUD, S. A.; BINSTADT, B. A. Autoantibodies in the Pathogenesis, Diagnosis, and Prognosis of Juvenile Idiopathic Arthritis. **Frontiers in immunology**, v. 9, 3168, 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2018.03168. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03168>. Acesso em 08 set. 2019.
- MANEIRO, J. R.; SALGADO, E.; GOMEZ-REINO, J. J. Immunogenicity of monoclonal antibodies against tumor necrosis factor used in chronic immune-mediated Inflammatory conditions: systematic review and meta-analysis. **JAMA internal medicine**, v. 173, n. 15, p. 1416–1428, 2013.
- MANGGE, H.; KENZIAN, H.; GALLISTL, S.; NEUWIRTH, G.; LIEBMANN, P.; KAULFERSCH, W.; BEAUFORT, F.; MUNTEAN, W.; SCHAUENSTEIN, K. Serum cytokines in juvenile rheumatoid arthritis. Correlation with conventional inflammation parameters and clinical subtypes. **Arthritis and rheumatism**, v. 38, n. 2, p. 211–220, 1995.
- MARINO, A.; REAL-FERNÁNDEZ, F.; ROVERO, P.; GIANI, T.; PAGNINI, I.; CIMAZ, R.; SIMONINI, G. Anti-adalimumab antibodies in a cohort of patients with juvenile idiopathic arthritis: incidence and clinical correlations. **Clinical rheumatology**, v. 37, n. 5, p. 1407–1411, 2018.
- MARTÍNEZ-FEITO, A.; PLASENCIA-RODRÍGUEZ, C.; NAVARRO-COMPÁN, V.; HERNÁNDEZ-BREIJO, B.; GONZÁLEZ, M. Á.; MONJO, I.; NUÑO, L.; NOZAL, P.; PASCUAL-SALCEDO, D.; BALSÁ, A. The effect of methotrexate versus other disease-modifying anti-rheumatic drugs on serum drug levels and clinical response in patients with rheumatoid arthritis treated with tumor necrosis factor inhibitors. **Clinical rheumatology**, v. 38, n. 3, p. 949–954, 2019.

- MOK, C. C.; VAN DER KLEIJ, D.; WOLBINK, G. J. Drug levels, anti-drug antibodies, and clinical efficacy of the anti-TNF α biologics in rheumatic diseases. **Clinical rheumatology**, v. 32, n. 10, p. 1429–1435, 2013.
- ONEL, K.B.; HORTON, D.B.; LOVELL, D.J.; SHENOI, S.; CUELLO, C.A.; ANGELES-HAN, S.T.; BECKER, M.L.; CRON, R.Q.; FELDMAN, B.M.; FERGUSON, P.J.; GEWANTER, H.; GUZMAN, J.; KIMURA, Y.; LEE, T.; MURPHY, K.; NIGROVIC, P.A.; OMBRELLO, M.J.; RABINOVICH, C.E.; TESHAR, M.; TWILT, M.; KLEINGITELMAN, M.; BARBAR-SMILEY, F.; COOPER, A.M.; EDELHEIT, B.; GILLISPIE-TAYLOR, M.; HAYS, K.; MANNION, M.L.; PETERSON, R.; FLANAGAN, E.; SAAD, N.; SULLIVAN, N.; SZYMANSKI, A.M.; TRACHTMAN, R.; TURGUNBAEV, M.; VEIGA, K.; TURNER, A.S.; RESTON, J.T. 2021 American College of Rheumatology Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Oligoarthritis, Temporomandibular Joint Arthritis, and Systemic Juvenile Idiopathic Arthritis. **Arthritis & Rheumatology (Hoboken, N.J.)**, v. 74, n. 4, p. 553–569, 2022.
- PETTY, R. E.; SOUTHWOOD, T. R.; MANNERS, P.; BAUM, J.; GLASS, D. N.; GOLDENBERG, J.; HE, X.; MALDONADO-COCCO, J.; OROZCO-ALCALA, J.; PRIEUR, A. M.; SUAREZ-ALMAZOR, M. E.; WOO, P.; INTERNATIONAL LEAGUE OF ASSOCIATIONS FOR RHEUMATOLOGY. International League of Associations for Rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: second revision, Edmonton, 2001. **The Journal of rheumatology**, v. 31, n. 2, p. 390–392, 2004.
- RAMANAN, A. V.; DICK, A. D.; JONES, A. P.; MCKAY, A.; WILLIAMSON, P. R.; COMPEYROT-LACASSAGNE, S.; HARDWICK, B.; HICKEY, H.; HUGHES, D.; WOO, P.; BENTON, D.; EDELSTEN, C.; BERESFORD, M. W.; SYCAMORE STUDY GROUP. Adalimumab plus Methotrexate for Uveitis in Juvenile Idiopathic Arthritis. **The New England journal of medicine**, v. 376, n. 17, p. 1637–1646, 2017.
- RAVELLI, A.; MARTINI, A. Juvenile idiopathic arthritis. **Lancet (London, England)**, v. 369, p. 767–778, 2007.
- RINGOLD, S.; ANGELES-HAN, S. T.; BEUKELMAN, T.; LOVELL, D.; CUELLO, C. A.; BECKER, M. L.; COLBERT, R. A.; FELDMAN, B. M.; FERGUSON, P. J.; GEWANTER, H.; GUZMAN, J.; HORONJEFF, J.; NIGROVIC, P. A.; OMBRELLO, M. J.; PASSO, M. H.; STOLL, M. L.; RABINOVICH, C. E.; SCHNEIDER, R.; HALYABAR, O.; HAYS, K.; SHAH, A. A.; SULLIVAN, N.; SZYMANSKI, A. M.; TURGUNBAEV, M.; TURNER, A.; RESTON, J. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis. **Arthritis care & research**, v. 71, n. 6, p. 717–734, 2019.
- RINGOLD, S.; WALLACE, C. A.; RIVARA, F. P. Health-related quality of life, physical function, fatigue, and disease activity in children with established polyarticular juvenile idiopathic arthritis. **The Journal of rheumatology**, v. 36, n. 6, p. 1330–1336, 2009.

- SEID, M.; OPIPARI, L.; HUANG, B.; BRUNNER, H. I.; LOVELL, D. J. Disease control and health-related quality of life in juvenile idiopathic arthritis. **Arthritis and rheumatism**, v. 61, n. 3, p. 393–399, 2009.
- SILVERMAN, E.; MOUY, R.; SPIEGEL, L.; JUNG, L. K.; SAURENMANN, R. K.; LAHDENNE, P.; HORNEFF, G.; CALVO, I.; SZER, I. S.; SIMPSON, K.; STEWART, J. A.; STRAND, V.; LEFLUNOMIDE IN JUVENILE RHEUMATOID ARTHRITIS (JRA) INVESTIGATOR GROUP. Leflunomide or methotrexate for juvenile rheumatoid arthritis. **The New England journal of medicine**, v. 352, n. 16, p. 1655–1666, 2005.
- SKRABL-BAUMGARTNER, A.; ERWA, W.; MUNTEAN, W.; JAHNEL, J. Anti-adalimumab antibodies in juvenile idiopathic arthritis: frequent association with loss of response. **Scandinavian journal of rheumatology**, v. 44, n. 5, p. 359–362, 2015.
- STOLL, M. L.; CRON, R. Q. Treatment of juvenile idiopathic arthritis: a revolution in care. **Pediatric rheumatology online journal**, v. 12, n. 13, 2014. DOI: 10.1186/1546-0096-12-13. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1546-0096-12-13>. Acesso em 15 mai. 2021.
- THOMAS, S. S.; BORAZAN, N.; BARROSO, N.; DUAN, L.; TAROUMIAN, S.; KRETZMANN, B.; BARDALES, R.; ELASHOFF, D.; VANGALA, S.; FURST, D. E. Comparative Immunogenicity of TNF Inhibitors: Impact on Clinical Efficacy and Tolerability in the Management of Autoimmune Diseases. A Systematic Review and Meta-Analysis. **BioDrugs: clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy**, v. 29, n. 4, p. 241–258, 2015.
- THORNE, J. E.; WORETA, F.; KEDHAR, S. R.; DUNN, J. P.; JABS, D. A. Juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis: incidence of ocular complications and visual acuity loss. **American journal of ophthalmology**, v. 143, n. 5, p. 840–846, 2007.
- VAN RIEL P. L. The development of the disease activity score (DAS) and the disease activity score using 28 joint counts (DAS28). **Clinical and experimental rheumatology**, v. 32, n. 5, Supl. 85, S65-S74, 2014.
- WESSELS, J. A.; HUIZINGA, T. W.; GUCHELAAR, H. J. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 47, n. 3, p. 249–255, 2008.

9. APÊNDICES

9.1. Parecer de aprovação do projeto no Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA RELEVÂNCIA DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE DROGAS UTILIZADAS EM DOENÇAS AUTOIMUNES REUMATOLÓGICAS NO ACOMPANHAMENTO DA SEGURANÇA/EFICÁCIA DA TERAPIA, ATIVIDADE DE DOENÇA E ADERÊNCIA À TERAPÊUTICA

Pesquisador: ELOISA SILVA DUTRA DE OLIVEIRA BONFA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 39705014.6.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO
Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 940.610

Data da Relatoria: 27/01/2015

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto que será desenvolvido em nosso centro, onde a proposta dos pesquisadores será avaliar a importância dos níveis sanguíneos de drogas usadas em doenças reumáticas autoimunes. É composto por subprojetos de acordo com a medicação que será avaliada. O projeto apresenta relevância na área da saúde e seus resultados serão importantes para a prática clínica e também na implantação de novas técnicas para apoio diagnóstico.

Objetivo da Pesquisa:

Os pesquisadores apresentam como proposta a avaliação da relevância dos níveis sanguíneos de drogas utilizadas em doenças reumáticas autoimunes no que se refere ao acompanhamento da segurança/eficácia do tratamento, atividade de doença e aderência à terapêutica. Serão realizadas avaliações em duas técnicas – cromatografia de alta eficiência (HPLC) e eletroforese capilar. Ainda o estudo será dividido em sete seções com seus respectivos subprojetos, de acordo com a medicação avaliada.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O protocolo clínico não apresenta riscos para o sujeito da pesquisa.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
FACULDADE DE MEDICINA DA
USP - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 940.610

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um projeto com alto custo , mas está sendo financiado por agência de fomento.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O Termos de apresentação obrigatória estão adequados.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c)apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

SAO PAULO, 29 de Janeiro de 2015

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

9.2. Manuscrito

Clinical Rheumatology
https://doi.org/10.1007/s10067-019-04798-6

ORIGINAL ARTICLE



Anti-adalimumab antibodies kinetics: an early guide for juvenile idiopathic arthritis (JIA) switching

Juliana Barbosa Brunelli¹ · Clovis Almeida Silva¹ · Sandra Gofinet Pasoto² · Carla Gonçalves Schahin Saa² · Katia Tomie Kozu¹ · Claudia Goldenstein-Schainberg² · Elaine Pires Leon² · Margarette B. G. Vendramini² · Nicole Fontoura² · Eloisa Bonfa² · Nádia Emi Aikawa^{1,2}

Received: 27 June 2019 / Revised: 16 September 2019 / Accepted: 23 September 2019
© International League of Associations for Rheumatology (ILAR) 2019

Abstract

Objective To assess the longitudinal production of anti-adalimumab antibody (AAA) and baseline risk factors for this antibody development in juvenile idiopathic arthritis (JIA) patients initiating adalimumab (ADA).

Method Thirty consecutive JIA patients under ADA therapy were prospectively followed. JIA clinical/laboratorial/treatment data and sera for ADA and AAA assays (ELISA and bridging ELISA) were obtained at baseline (BL), 2 months (2M), 3 months (3M), 6 months (6M), 12 months (12M), and 24 months (24M). Patients with therapy failure requiring ADA withdrawn had their sera evaluated at their last medical visit prior to biologic switch (blinded to ADA and AAA levels).

Results AAA was absent at BL, first detected at 2M after ADA initiation in 2/30 (7%) patients with a significant increase at 3M (10/29 (34%), $p = 0.013$) and no major change in 6M (11/30 (37%)) and 12M (9/26 (35%)). Of note, at 3M, AAA levels correlated negatively with ADA levels ($r = -0.781$, $p = 0.0001$). Analysis of BL predictors revealed a significantly higher risk of developing AAA in patients with female gender (OR 21; 95% CI 1.08–406.57; $p = 0.044$), ESR > 30 mm/1st hour (OR 5.44; 95% CI 1.04–28.53; $p = 0.045$), and leflunomide use (OR 9.33; 95% CI 1.51–57.66; $p = 0.016$). In contrast, concomitant use of methotrexate was protective for AAA appearance (OR 0.08; 95% CI 0.01–0.53; $p = 0.009$). After 12M of ADA, 60% of AAA-positive patients required drug switch for drug failure compared with 15% in AAA-negative group ($p = 0.03$).

Conclusions This study provides novel evidence of AAA production kinetics demonstrating a timely significant increase starting at 3M and stable throughout 24M. We also identified female gender, increased ESR, and leflunomide use as relevant risk factors for AAA production at BL, whereas methotrexate was protective. Early systematic monitoring of AAA at 3M may, therefore, guide drug switching in these patients.

Key Points

- Anti-adalimumab antibodies (AAA) production kinetics demonstrated a timely significant increase starting at 3M in juvenile idiopathic arthritis (JIA) patients under adalimumab therapy
- Female gender, increased ESR, and leflunomide use were identified as relevant risk factors for AAA production in JIA, whereas methotrexate was protective

Keywords Juvenile idiopathic arthritis · Adalimumab · Anti-adalimumab antibody · Immunogenicity

Eloisa Bonfa and Nádia Emi Aikawa contributed equally with this manuscript

✉ Nádia Emi Aikawa
nadia.aikawa@gmail.com

¹ Pediatric Rheumatology Unit, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

² Division of Rheumatology, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Av. Dr. Arnaldo, 455, 3rd floor, room 3190 – Cerqueira Cesar, São Paulo, SP 05403010, Brazil

Introduction

TNF blockers have revolutionized the treatment and prognosis of juvenile idiopathic arthritis (JIA) [1–3]. Among anti-TNF agents, adalimumab (ADA) immunogenicity has been reported in JIA patients, in spite of its entirely humanized antibody structure [2–6].

There are, however, only few reports regarding anti-adalimumab antibody (AAA) production in JIA. Two studies suggested that AAA production may lead to reduced ADA serum levels through both increased clearance and drug