

ETANERCEPT – BUDOWA, FARMAKOLOGIA, FARMAKOKINETYKA, INTERAKCJE

Eugeniusz Józef Kucharz

Klasyfikacja farmakologiczna etanerceptu

Etanercept jest jedynym przedstawicielem drugiej podklasy leków definiowanych jako blokery TNF- α , antagoniści TNF- α lub inhibitory TNF- α . Wszystkie te nazwy, używane jako synonimy, określają leki, których podanie powoduje zmniejszenie ilości czynnego TNF- α . Pod względem farmakologicznym jednak wymienione wyżej nazwy nie odpowiadają w pełni dokładnemu znaczeniu terminów „inhibitor”, „antagonista” lub „bloker”, ponieważ nie są to substancje inhibitorowe (tj. hamujące aktywność enzymu), antagonistyczne (czyli konkurujące o receptor z innym agonistą) czy blokujące (tj. trwale hamujące enzym). Niezależnie od tych rozważań lingwistycznych powyższe nazwy identyfikują grupę leków podzieloną na trzy podklasy. Pierwszą podklasę antagonistów TNF- α tworzą przeciwciała skierowane przeciwko TNF- α , które są białkami monoklonalnymi, mysio-ludzkimi (inflixymab) albo ludzkimi (adalimumab, golimumab). Drugą podklasę tworzy etanercept będący analogiem rozpuszczalnego receptora dla TNF- α . W trzeciej podklasie znajduje się certolizumab pegol będący fragmentem przeciwciał zachowującym zdolność wiązania antygeny, tj. TNF- α , ale pozbawiony innej części immunoglobuliny i uzyskujący stabilność dzięki połączeniu z glikolem etylenowym.

Leki biologiczne a leki syntetyczne

Leki biologiczne stanowią stosunkowo nową koncepcję terapeutyczną. Najważniejszym ich wyróżnikiem jest białkowa budowa, która warunkuje odmienny mechanizm działania oraz wiąże się z inną niż synteza chemiczną drogą uzyskiwania tych leków. Leki biologiczne są wytwarzane przez żywe komórki, specjalnie dobrane linie komórkowe hodowane *in vitro*. Początkowym i trudnym etapem ich produkcji jest stworzenie koncepcji interferencji leku w procesy biologiczne. Najczęściej jest to oddziaływanie antygeny z przeciwciałem i na tej drodze eliminacja składnika procesu patofizjologicznego, którego występowanie lub nadmiar wywołuje niepożądane działania chorobowe. Możliwe są też inne mechanizmy, np. uzupełnienie brakującego składnika (przy niedoborze hormonów, np. hormonu wzrostu) lub też eliminacja niekorzystnych substancji białkowych poprzez wiązanie ich z tzw. rozpuszczalnym receptorem. Ten ostatni mechanizm stanowi istotę działania etanerceptu.

Następnym etapem jest uzyskanie komórek w genomie, gdzie znajduje się gen kodujący pożądaną białko stanowiące lek. W przypadku przeciwciał uzyskuje się je drogą immunizacji i wyselekcjonowania odpowiednich komórek plazmatycznych. Uzyskanie innych białek wyma-

ga jeszcze bardziej złożonych zabiegów inżynierii genetycznej.

Ostatnim etapem niezbędnym do rozpoczęcia produkcji leku jest „unieśmiertelnienie” linii komórkowej zawierającej w swoim genomie gen kodujący wytworzenie pożądanego białka. Dokonuje się to drogą połączenia komórek z wyselekcjonowanym genotypem z komórkami nowotworowymi, które cechuje nieograniczona liczba podziałów. W większości przypadków niezbędne jest, aby była to linia komórek zwierzęcych, gdyż takie komórki posiadają zdolność posttranslacyjnej modyfikacji produkowanych białek, np. wbudowywania do nich określonych składników węglowodanowych, a nawet zmiany niektórych reszt w już wytworzonym łańcuchu polipeptydowym. To umożliwia uzyskanie odpowiedniej struktury trzeciorzędowej i czwartorzędowej przez wytworzone w ten sposób białka.

Linia komórek nowotworowych powinna być stosunkowo łatwa do hodowli *in vitro* i być odporna na mutacje, tj. pozostać niezmienna genotypowo przez kolejne pokolenia. Warunek taki spełniają m.in. komórki raka jajnika chomika chińskiego, stosowane do produkcji etanerceptu.

Uzyskane komórki linii wytwarzającej lek namnaża się i porcuje, gdyż proces ten się nie powtarza. Można, oczywiście, uzyskać analogiczne linie komórkowe, jednak wytworzone przez nie białka są zbliżone, lecz nie identyczne. Wynika to m.in. z faktu, że przeciwciało wytworzone przeciwko temu samemu białku rozpoznaje różne determinanty antygenowe.

Po namnożeniu komórek wytwarzających lek kolejnym trudnym etapem jest izolacja pożądanego białka z mieszaniny bardzo wielu białek znajdujących się w supernatancie hodowli komórkowej. Wyodrębnienie tego białka musi nastąpić na tyle delikatnie, aby było ono dalej w stanie natywnym i tym samym zachowało

oczekiwaną aktywność biologiczną. Dalsze etapy produkcji to nadanie preparatowi białkowemu właściwej postaci farmaceutycznej.

Budowa etanerceptu

Etanercept jest białkiem zbudowanym z 934 reszt aminokwasowych o masie cząsteczkowej ok. 150 kDa. Składa się on z dimerycznego fragmentu zewnątrzkomórkowego receptora TNFR2 połączonego z fragmentem Fc ludzkiej immunoglobuliny G1, zawierającym domeny CH2 i CH3. Jest tzw. białkiem fuzyjnym, tj. złożonym ze składowych dwóch odrębnych ludzkich białek [1, 2]. Dzięki temu jest istotnie mniej immunogeny niż białka chimerowe, co wyraża się nieznaczną zdolnością pobudzania produkcji przeciwciał [3] (nie są to przeciwciała typu HACA, *human anti-chimeric antibody*), które nie mają właściwości neutralizujących etanercept. Konsekwencją kliniczną jest skuteczność tej samej dawki leku stosowanej przez długi czas leczenia [4–6]. Etanercept jest lekiem biologicznym uzyskanym dzięki inżynierii genetycznej i produkowanym biotechnologicznie jako białko rekombinowane.

Mechanizm działania etanerceptu

TNF- α występuje w postaci wolnej, czyli rozpuszczalnej, i postaci przezbłonowej. Postać przezbłonowa jest prekursorem postaci rozpuszczalnej, która powstaje przez rozszczepienie postaci przezbłonowej przez enzym przekształcający TNF- α (*TNF- α converting enzyme, TACE*). Postać rozpuszczalna wykazuje swoją aktywność biologiczną przez połączenie ze swoistymi receptorami TNF-R1 i TNF-R2. Wy-

Charakterystyka	Etanercept	Inflixymab	Adalimumab	Golimumab	Certolizumab pegol
klasa	białko fuzyjne, analog rozpuszczalnego receptora	przeciwciało monoklonalne chimerowe	przeciwciało monoklonalne	przeciwciało monoklonalne	fragment przeciwciała (część wiążąca antygen) pegylowany
skład	ludzkie	75% ludzkie 25% mysie	ludzkie	ludzkie	ludzkie
neutralizacja rozpuszczalnego TNF- α	tak	tak	tak	tak	tak
neutralizacja przezłonowego TNF- α	tak	tak	tak	tak	?
neutralizacja TNF- β	tak	nie	nie	nie	nie
wiązanie dopełniacza	nie	tak	tak	tak	nie
cytotoksyczność komórkowa	nie	tak	tak	tak	nie

Tabela 1. Porównanie mechanizmów działania inhibitorów TNF- α wg Daudena [2], uzupełniona

kazano również, że postać przezłonowa TNF- α bierze udział w rozwoju zapalenia, nie tylko jako białko prekursorowe. Częsteczką transzłonowego TNF- α ma czynnościowo bipolarny charakter. Może działać jako ligand dla receptorów TNF-R1 i TNF-2, a także sama jest receptorem, tj. przekazuje sygnał do wnętrza komórki po połączeniu z ligandem. Funkcję ligandów pełnią te same natywne receptory. Przezłonowy TNF- α działa jako receptor m.in. w komórkach T, monocytach i limfocytach NK [7].

Etanercept jest strukturalnym analogiem receptora TNF-R2 i dzięki wbudowaniu w część cząsteczkę leku domeny zewnątrzkomórkowej receptora łączy się z TNF- α . Lek łączy się z TNF- α

przezłonowym. Powinowactwo leku do tego białka jest nieco mniejsze niż powinowactwo do rozpuszczalnego TNF- α . Połączenie z przezłonowym TNF- α następuje w stosunku molekularnym 1 : 1 [8].

Opisano wiele efektów wiązania przezłonowego TNF- α z etanerceptem. Wykazano, że przyłączenie etanerceptu nie powoduje śmierci komórek linii A549, ale taki skutek mogą wywoływać przeciwciała monoklonalne [9, 10]. Etanercept słabiej niż przeciwciała monoklonalne wywołuje ekspresję E-selektyny na komórkach HUVEC [8].

Wpływ etanerceptu na cytotoksyczność zależną od dopełniacza jest również mniejszy niż przy wiązaniu przezłonowego TNF- α przez przeciwi-

ciała monoklonalne. Nie dotyczy to fragmentów przeciwciał pozbawionych części Fc. Wytlumaczeniem tych różnic jest też fakt, że etanercept nie posiada części CH1 immunoglobuliny G1. Poza tym etanercept nie ma tzw. regionu zwiastowego (*hinge region*) i tym samym jego cząsteczka jest „sztywniejsza” i nie ulega zmianom konformacyjnym [11]. Natomiast cytotoksyczność zależna od przeciwciał etanerceptu jest zbliżona do działania infliksymabu lub adalimumabu [12]. Tej aktywności nie wykazuje pegylowany fragment przeciwciała. Poza tym etanercept nie wpływa na apoptozę komórek, którą mogą wywoływać przeciwciała monoklonalne.

Działając na rozpuszczalny TNF- α , etanercept wiąże go jako receptor, naśladując fizjologiczny mechanizm regulatorowy działania rozpuszczalnych receptorów.

W tabeli 1 zestawiono właściwości inhibitorów TNF- α [7]. Różnice w oddziaływaniu na przebieg TNF- α etanerceptu i innych inhibitorów TNF- α mogą tłumaczyć jego odmienny wpływ na ziarninę zapalną, a co za tym idzie – słabszy od innych leków wpływ na reaktywację latentnej gruźlicy u leczonych chorych, ale także małą skuteczność w leczeniu chorób ziarniniakowatych (np. choroby Leśniowskiego-Crohna).

Właściwości farmakokinetyczne

Etanercept jest stosowany w postaci wstrzyknięć podskórnych. Podany w ten sposób wchłania się stosunkowo wolno, osiągając największe stężenie w osoczu po mniej więcej 48 godzinach od podania pojedynczej dawki. Biodostępność leku wynosi 60–76%. Lek ulega rozmieszczeniu w ustroju, docierając do kości, śledziony, nerek i wątroby. Jest wolno eliminowany z ustro-

ju, jego średni klirens wynosi 0,066 L/godz. Okres półtrwania to 68–70 godzin. Krótki okres półtrwania umożliwia szybkie przerwanie leczenia w razie potrzeby, ale wymaga podań w odstępach tygodniowych. Eliminacja jest zbliżona u ludzi zdrowych i chorych na reumatoidalne zapalenie stawów, łuszczycowe zapalenie stawów lub łuszczycę. Stężenia w płynie stawowym są zbliżone do stężeń w surowicy. Farmakokinetyka etanerceptu nie zmienia się w czasie leczenia. Nie jest też zależna od wieku chorego. Badając chorych w podeszłym wieku, nie wykazano różnic w klirensie i objętości dystrybucji w porównaniu z osobami młodymi. Nieznaczne różnice farmakokinetyki etanerceptu wykazano pomiędzy kobietami a mężczyznami (klirens 0,117 L/godz. v. 0,138 L/godz.), ale wydaje się, że nie mają one znaczenia praktycznego [1, 13, 14].

Jednorazowe podanie osobom zdrowym etanerceptu w dawce 25 mg prowadzi do maksymalnego stężenia leku w osoczu wynoszącego $1,65 \pm 0,66 \mu\text{g/ml}$, podczas gdy pole powierzchni pod krzywą stężenia leku we krwi wynosi $235,0 \pm 96,6 \mu\text{g godz./ml}$ [15].

Nie wykazano istotnych różnic pola powierzchni pod krzywą stężeń u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów leczonych etanerceptem podawanym dwa razy w tygodniu w dawce 25 mg i raz w tygodniu w dawce 50 mg ($316 \mu\text{g godz./ml}$ v. $297 \mu\text{g godz./ml}$), podobnie jak u chorych na zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa ($474 \mu\text{g godz./ml}$ v. $466 \mu\text{g godz./ml}$). Na tej podstawie zastąpiono początkowo stosowane dawki leku 25 mg dwa razy w tygodniu podaniem jednorazowym 50 mg co tydzień [16].

Interakcje etanerceptu

Nie opisano istotnych interakcji etanerceptu z innymi lekami stosowanymi w reumatologii. Podawanie metotreksatu lub leflunomidu jest nawet rekomendowane u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów.

Nie powinno się stosować etanerceptu z innymi lekami biologicznymi, co jest ogólną zasadą terapii lekami biologicznymi i łączyć się z większym odsetkiem występowania zakażeń. Podobnie nie powinno stosować się etanerceptu z intensywną immunosupresją lekami syntetycznymi, np. cyklofosfamidem. Stosowanie glikokortykosteroidów w umiarkowanych dawkach nie jest przeciwwskazane u chorych leczonych etanerceptem.

Piśmiennictwo

1. Łącki J.K. *Etanercept – budowa, farmakologia, farmakokinetyka, interakcje*, [w:] Szechiński J. (red.) *Enbrel: zastosowanie kliniczne*. Górnicki Wydawnictwo Medyczne, Wrocław 2008, 11–16.
2. Daudén E. *Chemical structure of etanercept, pharmacokinetics, and mechanism of action*. *Acta Dermo-Sifil* 2010; 101 (suppl) 1–4.
3. Aikawa N.E., Freire de Carvalho J., Silva C.A.A., Bonfá E. *Immunogenicity of anti-TNF- α agents in autoimmune diseases*. *Clin Rev Allerg Immunol* 2010; 18: 82–89.
4. Ariza-Ariza R., Navarro-Sarabia F., Hernández-Cruz B. i wsp. *Dose escalation of the anti-TNF- α agents in patients with rheumatoid arthritis*. *Rheumatology* 2007; 46: 529–532.
5. Huang X., Gu N.Y., Fox K.M. i wsp. *Comparison of methods for measuring dose escalation of the subcutaneous TNF antagonists for rheumatoid arthritis patients treated in routine clinical practice*. *Curr Med. Res Opin* 2010; 26: 1637–1645.
6. Moots R.J., Haraoui B., Matucci-Cerinic M. i wsp. *Differences in biologic dose-escalation, non-biologic and steroid intensification among three anti-TNF agents evidence from clinical practice*. *Clin Exp Rheumatol* 2011; 29: 26–34.
7. Horiuchi T., Mitoma H., Harashima S. i wsp. *Transmembrane TNF- α : structure, function and interaction with anti-TNF- α agents*. *Rheumatology* 2010; 49: 1215–1228.
8. Scallon B., Cai A., Solowski N. i wsp. *Binding and functional comparisons of two types of tumor necrosis factor antagonists*. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301: 418–426.
9. Kohno T., Tam L.T., Stevens S.R., Lonie J.S. *Binding characteristics of tumor necrosis factor receptor – Fc fusion proteins vs anti-tumor necrosis factor mAbs*. *J Invest Dermatol Symp Proc* 2007; 12: 5–8.
10. Nesbitt A., Fossati G., Bergin M. i wsp. *Mechanism of action of certolizumab pegol: in vitro comparison with other anti-tumor necrosis factor alpha agents*. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 1323–1332.
11. Kaymakçalan Z., Sakorafas P., Bose S. i wsp. *Comparisons of affinities, avidities and complement activation of adalimumab, infliximab, and etanercept in binding to soluble and membrane tumor necrosis factor*. *Clin Immunol* 2009; 131: 308–316.
12. Mitoma H., Horinchi T., Tsukamoto H. i wsp. *Mechanisms for cytotoxic effects of anti-TNF agents on transmembrane TNF-expressing cells: comparison among infliximab, etanercept and adalimumab*. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 1248–1257.
13. Lee H., Kimko H., Rogge M., Wang D., Nestorov I., Peck C. *Population pharmacokinetics and pharmacodynamic modeling of etanercept using logistic regression analysis*. *Clin Pharmacol Ther*, 2003; 73: 348–365.
14. Zhou H. *Clinical pharmacokinetics of etanercept: a fully humanized soluble recombinant tumor necrosis receptor fusion protein*. *J Clin Pharmacol*, 2005; 45: 490–497.
15. Nestorov I. *Clinical pharmacokinetics of tumor necrosis factor antagonists*. *J Rheumatol* 2005; 32 (suppl): 13–18.
16. Keystone E.C., Schiff M.H., Kremer J.M., Kafka S., Lovy M., DeVries T., Burge D.J. *Once weekly administration of 50 mg etanercept in patients with active rheumatoid arthritis*. *J Clin Pharmacol* 2004; 44: 1235–1243.