

**Alma Mater Studiorum – Università di Bologna**

**DOTTORATO DI RICERCA IN**

**SCIENZE CHIRURGICHE: PROGETTO 3**

**SCIENZE DERMATOLOGICHE E RICOSTRUTTIVE,**

**MAXILLO-FACCIALI E PLASTICHE**

Ciclo XXIV

**Settore/i scientifico-disciplinare/i di afferenza: MED 35**

**POSITIVITA' DEGLI AUTOANTICORPI IN PAZIENTI**

**PSORIASICI TRATTATI**

**CON FARMACI ANTI-TNFALFA**

**Presentata da: Dott.ssa RANIA ABD ALATIF**

Coordinatore Dottorato

Relatore

**Prof. ANDREA STELLA**

**Prof.ssa ANNALISA PATRIZI**

**Esame finale anno 2012**

## INDICE

Introduzione.....	pag. 3
Psoriasi e sua patogenesi.....	pag. 4
Psoriasi e comorbilita'.....	pag. 9
Terapia.....	pag. 10
Farmaci anti TNFalfa.....	pag. 13
La nostra esperienza (materiali e metodi, risultati)..	pag. 19
Discussione.....	pag. 25
Conclusione.....	pag. 29
Bibliografia.....	pag. 30

## Introduzione

La psoriasi è una patologia infiammatoria cronica caratterizzata da un aumento dell'attività dei linfociti T e iperproliferazione dei cheratinociti stimolati da incremento di citochine e chemochine. Tale patologia può coinvolgere anche le articolazioni, determinando una tenosinovite sieronegativa nel 5-40% dei pazienti affetti da psoriasi cutanea. La sempre più accurata conoscenza della sua patogenesi consente di apportare miglioramenti nel controllo terapeutico della psoriasi, in quanto si cerca di impiegare terapie che agiscano su target specifici che consentano di risolvere le malattie. Il TNF-alfa rappresenta in questo scenario, la citochina di primaria importanza, coinvolta nella flogosi, angiogenesi e iperproliferazione dei cheratinociti, per cui le moderne terapie biologiche (agenti anti-TNF-alfa) utilizzate trovano in questa un bersaglio utile nel trattamento della psoriasi e artrite psoriasica. Tuttavia, l'espansione nell'utilizzo di tali agenti biologici nella psoriasi cutanea e artropatica ha fornito l'osservazione di eventi avversi clinici e biologici, incluso lo sviluppo degli autoanticorpi. Il nostro studio ha l'obiettivo di osservare il comportamento degli autoanticorpi durante la terapia con i Farmaci anti TNF-alfa in pazienti affetti da psoriasi cutanea e artropatica, e studiare il rapporto tra ciascun farmaco, e lo sviluppo degli autoanticorpi e il rapporto tra la malattia di base e lo sviluppo degli autoanticorpi, e la correlazione tra lo sviluppo ANA, Anti-DNAs e segni e sintomi di sindromi lupus-like, e se la concomitanza con farmaci immunomodulatori (Metotrexate) può ridurre i valori degli autoanticorpi sviluppati durante la terapia biologica con i farmaci anti-TNF-alfa.

## PSORIASI E SUA PATOGENESI

La psoriasi è una patologia di comune riscontro affliggendo circa il 2-3% della popolazione dei paesi occidentali (1), di cui circa il 25% di grado moderato-severa (2). Tale patologia può coinvolgere anche le articolazioni, determinando una tenosinovite sieronegativa nel 5-40% dei pazienti affetti da psoriasi cutanea (3), con conseguente danneggiamento permanente osteocartilagineo che esita in deformità responsabili di disabilità.

La psoriasi come patologia cutanea può presentarsi con vari aspetti clinici distinti tra loro, che vanno dalla psoriasi in placche, detta anche “volgare”, alla psoriasi guttata e nummulare, spesso riattivate dal contatto con tossine streptococciche, ungueale, figurata o a carta geografica, invertita, pustolosa palmo-plantare o generalizzata ed eritrodermica.

Sebbene non si riesca a individuare una singola causa certa responsabile di tale malattia, i molti studi recenti hanno consentito di far luce in merito alla sua eziopatogenesi. La predisposizione individuale è supportata dal coinvolgimento di specifici loci genici (4), inoltre i fattori ambientali e fattori di rischio, come fumo di sigaretta, obesità, eventi di vita stressanti sono responsabili dell'attivazione della patologia.

Negli ultimi decenni lo studio della patogenesi della psoriasi ha suscitato enormi interessi nell'ambito della ricerca scientifica, consentendo di apportare importanti delucidazioni riguardo i meccanismi in gioco responsabili della psoriasi. Le vecchie teorie che sostenevano cheratinociti come cellula protagonista della psoriasi sono state superate sin dagli anni '90 in cui i moderni supporti tecnici hanno consentito di mettere in luce come in realtà fosse il linfocita T, il responsabile fondamentale di una

serie di eventi che conducono alla costituzione delle lesioni psoriasiche. La teoria immunopatogenetica della psoriasi è sostenuta dalle seguenti osservazioni:

- Linfociti T infiltrano precocemente le lesioni eruttive iniziali;
- Vi è un' aumentata attività delle cellule presentanti l' antigene nella cute lesionale;
- Associazione con alotipi MHC: HLA-B13, -Bw57, -Cw6, -DR7;
- La psoriasi si risolve con terapie mirate ai linfociti T: Ciclosporina A, anti-CD4, alefacept, efalizumab, anti-CD80;
- Casi segnalati dopo trapianto di midollo osseo:
  - guarigione dopo trapianto da donatore sano
  - sviluppo dopo trapianto da donatore psoriasico;
- Comparsa di psoriasi in cute non lesionale trapiantata in topi SCID cui sono stati iniettati linfociti T autologhi.

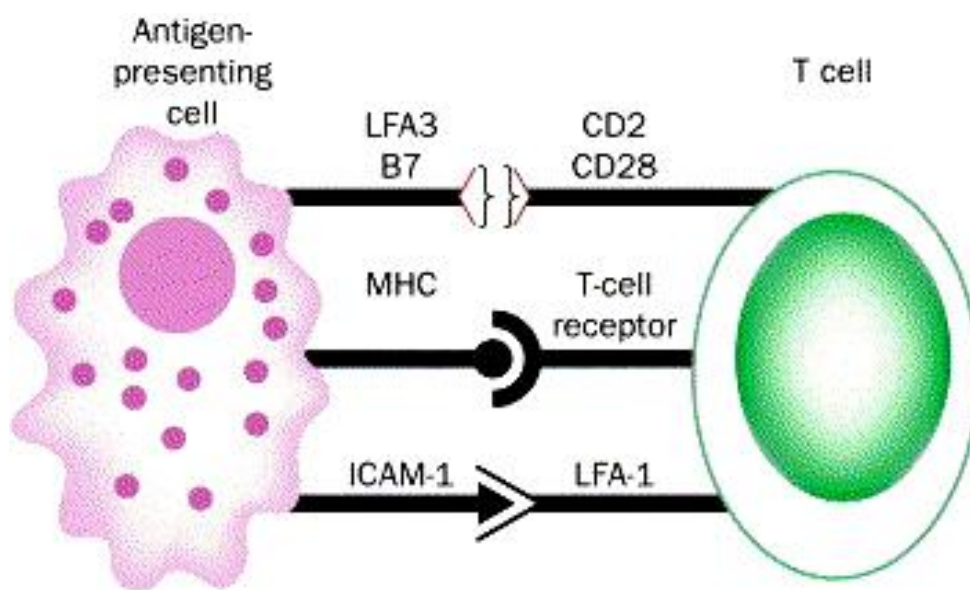
E inoltre le valutazioni immunoistochimiche hanno consentito di evidenziare come nelle placche psoriasiche vi siano presenti linfociti T CD4+, CD8+, monociti, cellule dendritiche, linfociti T attivati CD25+, natural killer.

Si conviene pertanto che la psoriasi abbia una patogenesi multifattoriale, in cui fattori genetici, responsabili di un' abnorme risposta immunitaria di tipo 1 (Th1) verso autoantigeni cutanei (epidermici), e fattori ambientali, quali causativi di un' alterata reazione cutanea (cheratinocitaria) a stimoli infiammatori e fattori di crescita, si intersechino variabilmente fra loro consentendo un' eterogeneità fenotipica della malattia.

Le cellule coinvolte nella psoriasi secondo la teoria immunopatogenetica sono i linfociti T, cheratinociti, cellule di Langherans, monociti, macrofagi, cellule endoteliali, mast cells e cellule neuronali, le quali sarebbero orchestrate da una fitta

rete di citochine, chemochine e fattori di crescita, come IL1, IL2, IL6, IL8, TNF-alfa, INF-gamma, GM-CSF, MCP-1, VEGF, FGF. La teoria moderna della patogenesi della psoriasi distingue pertanto il processo patogenetico in differenti steps.

Lo step 1, detto anche fase silente, corrisponde al momento in cui le cellule di Langerhans presentano l'antigene ai linfociti T cutanei (Fig.1), con conseguente attivazione dei linfociti T e loro migrazione verso i linfonodi.



*Fig. 1. La cellula di Langerhans presenta l'antigene al linfocita T cutaneo.*

Lo step 2, o fase linfonodale, è costituito dalla formazione di linfociti T CD8+ e CD4+ auto reattivi, con conseguente produzione di IL1, INF-gamma, TNF-alfa, IL6, VEGF e chemochine e citotossicità dei linfociti T CD8+. Lo step 3, o fase clinico-istologica, si attua con il reclutamento e richiamo di cellule della flogosi dal sangue al derma (infiltrato), e la liberazione dei fattori mitogeni con proliferazione dei cheratinociti (Fig2) e l'attivazione di cellule endoteliali del derma papillare (angiogenesi)

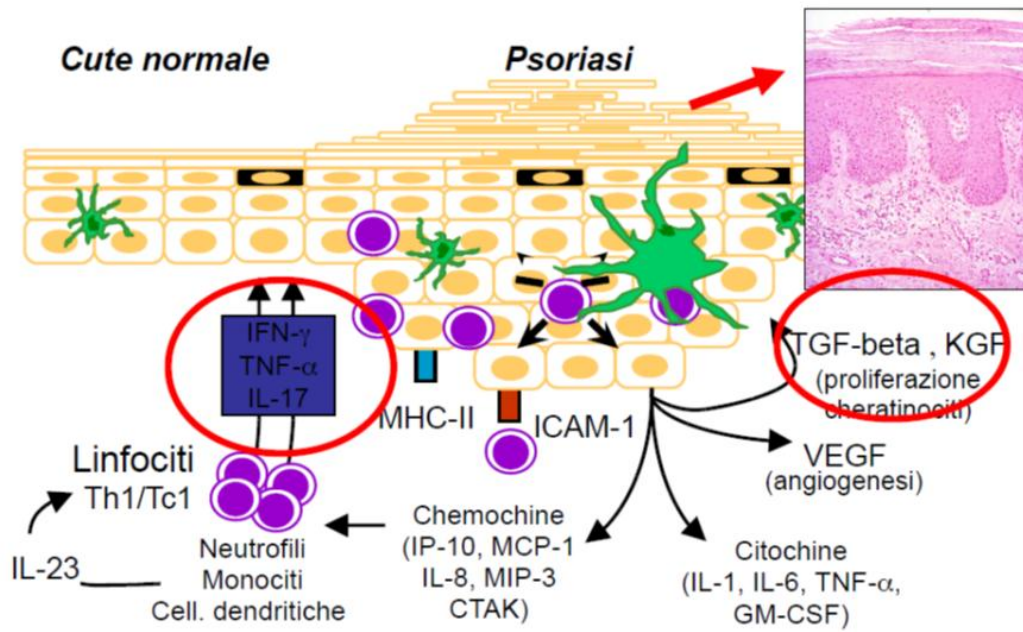


Fig.2. Liberazione di citochine e fattori di crescita.

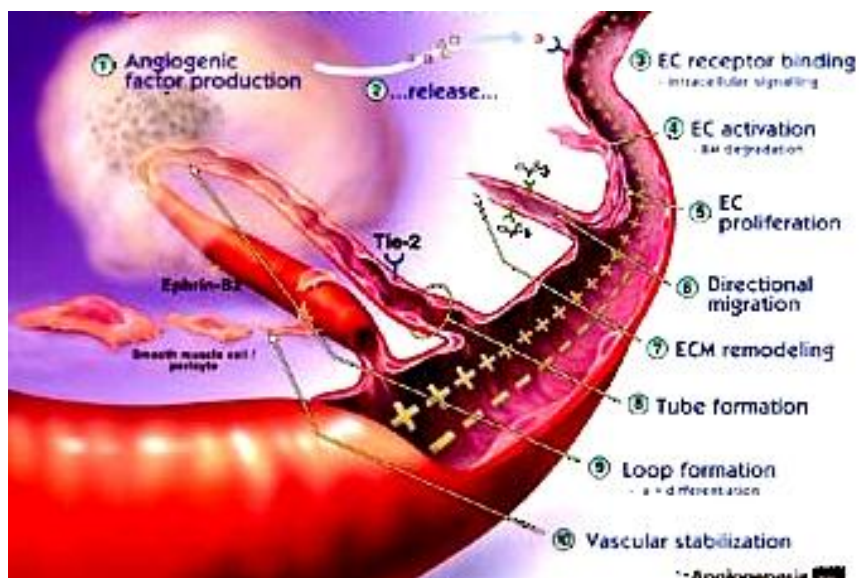


Fig.3. Angiogenesi.

Lo step 4, fase clinica conclamata, corrisponde al momento in cui l'infiammazione dermoepidermica e l'ispessimento dell'epidermide determinano la placca psoriasica(5) (Fig.4).

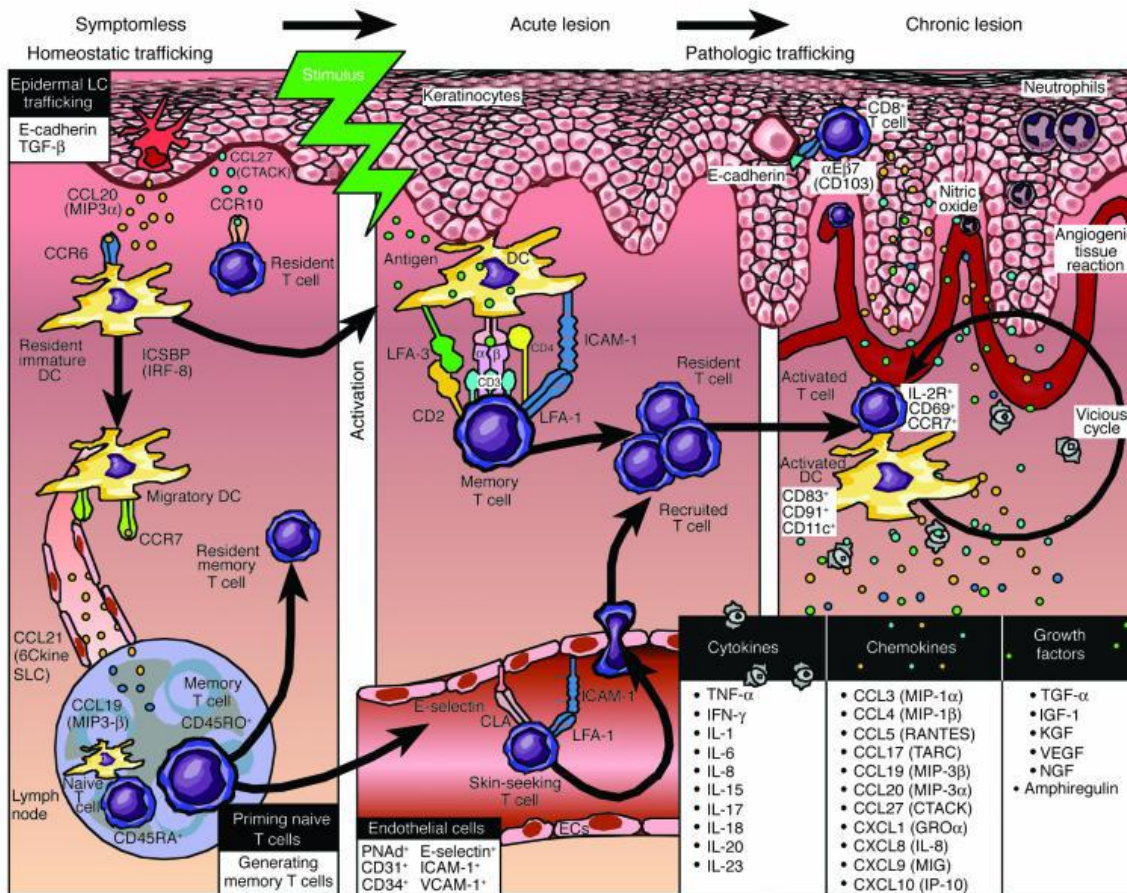


Fig.4. Patogenesi della psoriasi

La sempre più accurata conoscenza di questi processi consente di apportare dei miglioramenti nel controllo terapeutico della psoriasi, in quanto si cerca di impiegare terapie che agiscano su target specifici che consentano di risolvere la patologia cutanea e dove presente impedire il danneggiamento permanente osteo-cartilagineo, e al contempo di ridurre l'incidenza di comorbidità nei pazienti affetti da psoriasi.

Il TNF-alfa rappresenta in questo scenario, la citochina di primaria importanza, coinvolta nella flogosi, angiogenesi e iperproliferazione dei cheratinociti, per cui le



moderne terapie biologiche utilizzate trovano in questa un bersaglio utile nel trattamento della psoriasi cutanea e artrite psoriasica (2,6,7).

La sempre maggiore esperienza in merito all'impiego dei farmaci anti-TNF-alfa affiancata da studi clinici e laboratoristici ha consentito di constatare un loro effetto intrinseco anche su VEGF, con controllo diretto dell'angiogenesi, che sembra essere più precoce rispetto al controllo della flogosi locale, e inoltre direttamente proporzionale alla riduzione dell'indice PASI.

## **PSORIASI E COMORBILITA'**

I dati oggi disponibili derivanti da studi epidemiologici dimostrano un'associazione tra psoriasi e altre condizioni morbose (7) . Tali circostanze prendono pertanto il nome di comorbilità, essendo derivanti da disordini multigenici e multifattoriali che spesso si associano.

Le comorbilità sono state meglio distinte in due categorie(7), di cui la prima comprende le patologie che si associano alla psoriasi di base, quali artrite, morbo di Crohn, sclerosi multipla, mentre la seconda categoria riguarda le condizioni patologiche che conseguono allo stato infiammatorio cronico che la psoriasi stessa determina, quali la sindrome metabolica e le malattie cardiovascolari.

Tali presupposti impongono una valutazione più attenta del paziente psoriasico, al fine di gestire in maniera più ottimale sia la patologia cutanea che le eventuali condizioni morbose associate.

### **Psoriasi ed artrite**

La componente artropatica dell'affezione psoriasica è stata una delle prime patologie di cui si è notata l'associazione. Sin dai primi anni dell'800(8) era infatti frequentemente riportato che pazienti affetti da psoriasi avessero una concomitante infiammazione alle articolazioni. Più tardi si è etichettata come artrite psoriasica(9)

un'entesopatia sieronegativa assiale o periferica, appartenente al gruppo delle spondiloartriti, caratterizzate da negatività del fattore reumatoide e HLA-B27(10) come marker genetico di sovente riscontro.

L'artrite psoriasica è presente approssimativamente nel 5% dei pazienti con psoriasi guttata e 15-30% di quelli con psoriasi a placche. Solitamente la componente articolare segue di circa 10 anni l'insorgenza della patologia cutanea, ma in un numero limitato di casi la può precedere.

L'artrite psoriasica ha un andamento progressivamente invalidante con evoluzione del danno articolare di tipo irreversibile, per cui è una condizione che necessita valutazione precoce e terapia adeguata.

## TERAPIA

Le cure della psoriasi possono essere **locali** e **sistemiche**.

Le **terapie locali** o **topiche**: sono limitate alla superficie cutanea e comprendono creme, unguenti, gel, pomate, lozioni e mousse. Esse si utilizzano direttamente sulla lesione da trattare. Tra i prodotti topici ricordiamo **emollienti** e **idratanti** nonché i veri e propri farmaci come il **cortisone** e i **derivati della vitamina A e D**.

Le **terapie sistemiche**: sono invece utilizzate per via orale o iniettiva; richiedono particolare attenzione, poiché ad alcune di esse sono associabili importanti effetti collaterali. Nell'ambito dei prodotti sistemici esistono le **terapie tradizionali** da un lato, e i **farmaci biologici** di nuova concezione, dall'altro.

Le più comuni **terapie tradizionali** sono gli **analoghi della vitamina A**, le **radiazioni ultraviolette**, il **metotressato**, la **ciclosporina**. Le radiazioni ultraviolette occupano un ruolo di rilievo nella terapia della psoriasi e sono erogate mediante l'uso di lampade specifiche che emettono radiazioni di tipo B (UVB) e di tipo A (UVA).

Queste ultime vengono utilizzate in associazione con gli **psoraleni** che rendono la terapia più efficace.

Tra i **farmaci biologici** di più recente introduzione, ricordiamo invece

**L'Ustekinumab**(anti IL-12/23p40); **l'Etanercept**, **l'Infliximab** e **l'Adalimumab** (anti-TNF-alfa).

I farmaci biologici sono un tipo particolare di terapia sistemica: sono prodotti dagli organismi viventi attraverso la tecnologia del DNA ricombinante.

La scelta tra terapie topiche e sistemiche dipende dall'estensione, dalla gravità e dalle condizioni generali del paziente.

Le terapie topiche sono adatte per i casi meno gravi e possono normalmente essere usate per lunghi periodi. Essendo il loro uso locale, esse non comportano un elevato assorbimento sistemico e gli effetti collaterali sono principalmente a carico della pelle (reazioni allergiche o irritative, assottigliamento, secchezza etc...).

Le terapie sistemiche tradizionali sono invece utilizzate per i casi di psoriasi moderata-grave, i quali sono circa il 25-30% del totale. Esse hanno dimostrato di possedere un'alta efficacia nel controllo a breve termine della psoriasi, ma non sono adatte al trattamento a lungo termine, poiché tutte possiedono una soglia di tossicità che limita il loro uso prolungato. Da ciò deriva la necessità di ruotare, associare, combinare le terapie e/o i regimi di trattamento. Ad ogni modo non esiste un approccio terapeutico standard. Benefici e rischi delle terapie sistemiche devono essere attentamente valutati per ciascun paziente, e il trattamento deve essere personalizzato.

Nella scelta della terapia bisogna non solo tenere in grande considerazione quali siano gli effetti dell'esposizione cronica agli agenti sistemici, ma anche quale sia l'impatto psicofisico delle procedure di monitoraggio associate ad alcuni trattamenti

Mentre nella psoriasi artropatica la terapia è consigliata in base alla storia clinica

del paziente, alla severità del coinvolgimento articolare e alla tollerabilità ai diversi tipi di farmaci. Obiettivi della terapia sono:

- alleviare il dolore
- ridurre il gonfiore
- prevenire il danno articolare

Attualmente una volta formulata la diagnosi, si preferisce fin dall'inizio utilizzare i farmaci di fondo, così chiamati perché agiscono sul gonfiore e sul danno articolare modificando il decorso della malattia (in inglese sono definiti con l'acronimo DMARDs). Quelli più comunemente utilizzati sono Salazopirina, Methotrexate, Arava, Ciclosporina. I DMARDs sono utili per impedire l'instaurarsi di erosioni, controllare l'artrite e il dolore e si è notato che alcuni di essi agiscono favorevolmente anche sulle lesioni cutanee. È bene però precisare che tante volte l'evoluzione naturale della malattia non prevede un andamento parallelo delle lesioni cutanee e di quelle articolari. I farmaci di fondo non agiscono rapidamente e quindi vanno assunti per alcune settimane prima che si manifesti il loro effetto benefico. Durante questa terapia è necessario effettuare periodicamente esami di laboratorio per il controllo di eventuali effetti collaterali.

Nei casi di riacutizzazione della malattia è di solito sufficiente a controllare il dolore e la rigidità articolare il trattamento con i farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS), per brevi periodi. L'uso dei corticosteroidi (cortisone) è limitato alle forme particolarmente aggressive, e viene somministrato per via intra-articolare (iniettando il farmaco all'interno dell'articolazione infiammata) o per via sistemica (per bocca, intra-muscolo o endovena).

Pero tali terapie tradizionali sia nella psoriasi cutanea che nella psoriasi artropatica talvolta non incontrano le aspettative dei pazienti sia per causa degli effetti collaterali degli stessi trattamenti, sia per la mancanza di un'efficacia duratura.

A tale riguardo, la scoperta che la citochina TNF $\alpha$  riveste un ruolo chiave nell'artrite e nella psoriasi ha permesso di introdurre agenti mirati a neutralizzare l'azione biologica di tale citochina.

## Farmaci anti-TNF-alfa

I farmaci anti-TNF-alfa sono *Etanercept* (Enbrel)<sup>®</sup> è una proteina di fusione del recettore umano p75 del fattore TNF-alfa con la frazione Fc dell'immunoglobulina umana IgG1. La proteina funziona da recettore solubile per il TNF-alfa circolante.

*Adalimumab* (Humira)<sup>®</sup> e *Infliximab* (Remicade)<sup>®</sup> sono anticorpi monoclonali, il primo interamente umano ed il secondo chimerico (umano-murino), che si legano con alta specificità e affinità sia alla forma solubile che a quella transmembrana del TNF-alfa, inibendone l'attività.

I farmaci biologici anti-TNF-alfa sembrano rappresentare una terapia sicura e efficace per la psoriasi cutanea e psoriasi artropatica (6,7).

Come abbiamo detto, il meccanismo d'insorgenza della psoriasi prevede quattro step successivi e l'obiettivo del trattamento è andare a regolare il maggior numero possibile di momenti patogenetici.

I farmaci biologici anti-TNF-alfa agiscono bloccando l'azione di una citochina, cioè di un messaggero chimico, che si chiama TNF (fattore di necrosi tumorale). Il TNF esplica la sua azione a livello della placca psoriasica, quindi a livello cutaneo. Il blocco dell'attività di questa citochina, pertanto, consente di controllare limitatamente la formazione della placca, lasciando liberi di agire i linfociti T attivati che continuano ad arrivare.

Adalimumab, Etanercept e Infliximab appartengono alla categoria dei farmaci biologici anti-TNF, i quali agiscono bloccando una molecola importante nella difesa contro i tumori e le infiammazioni, il *tumor necrosis factor*. Hanno, pertanto, un'azione immunosoppressiva, inibendo l'azione del sistema immunitario.

Nella figura(5) sono mostrati i meccanismi d'azione dei farmaci anti-TNFalfa

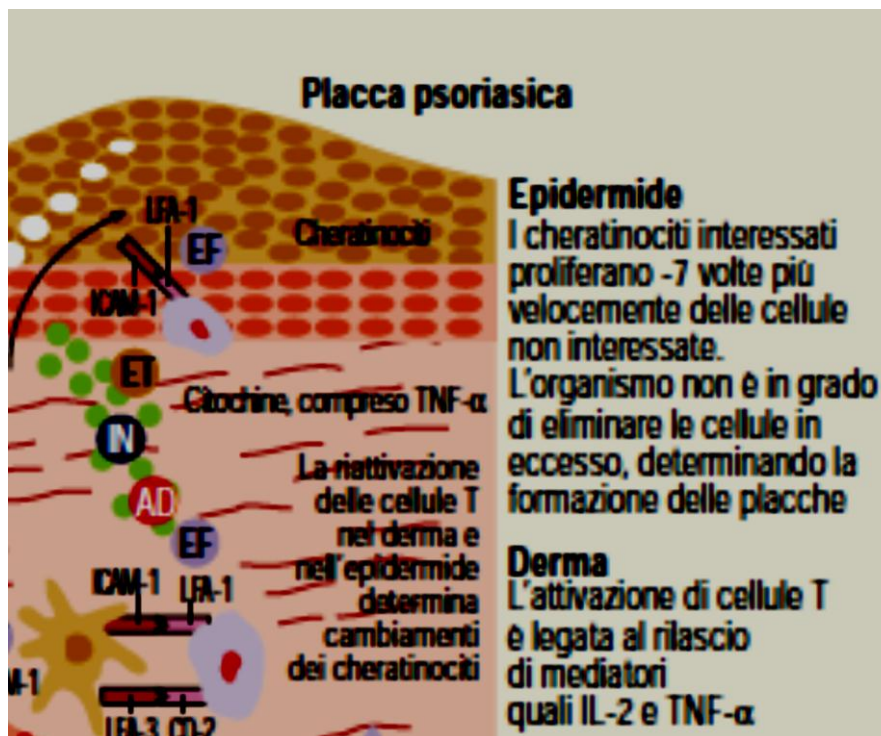


Fig 5 Meccanismo d'azione dei farmaci antiTNFalfa per la psoriasi

## I possibili effetti collaterali- indesiderati dei farmaci biologici

I più comuni effetti collaterali dei farmaci biologici sono le reazioni nel sito d'iniezione: rossore, bruciore e prurito nella sede d'iniezione. Le reazioni ad infusione sono in genere lievi come nausea, vomito; orticaria nel 2%; l'anafilassi è rara; le reazioni cutanee sono possibili anche dopo 15 gg dall'infusione (infliximab).(8,9)

Infliximab può inoltre determinare reazioni allergiche durante l'infusione (flebo): prurito, comparsa di macchie e bolle sulla pelle, alterazioni della pressione arteriosa e affanno. Queste reazioni possono essere prevenute o curate con l'uso di altri farmaci (10,11).

I più importanti effetti collaterali riguardano l'aumentato rischio d'infezioni di ogni tipo, specie batteriche e fungine(14,15,16,17,18). In particolare, i farmaci che bloccano l'attività del TNF-alfa possono determinare la riattivazione di una

tubercolosi sottostante(12,13). Per questa ragione, prima di somministrare un farmaco anti-TNF-alfa tutti i pazienti devono essere sottoposti a dei test in grado di evidenziare il contatto con il bacillo tubercolare (in particolare: lastra del torace, QuantiFERON-TB gold assay) (19).

In caso d'insorgenza d'infezione questi farmaci devono essere interrotti, temporaneamente o in modo definitivo secondo i casi(20). Per quanto riguarda la TBC, questa è stata maggiormente segnalata con infliximab (azione del farmaco sul granuloma)(15,16). È legata nella maggior parte dei casi a riattivazione di forma latente, ha esordio in genere nei primi due mesi di terapia, spesso è extra-polmonare e disseminata e può avere esordio atipico.(21,22).

Con l'uso di anti-TNF-alfa si possono verificare, anche se solo molto raramente, complicanze neurologiche, come malattie demielinizzanti, per questo motivo questi farmaci sono controindicati nei pazienti con malattie demielinizzanti quali ad esempio la sclerosi multipla(14-16).

Tali farmaci possono causare anche sviluppo di "autoimmunità", possono anche causare lo sviluppo di altri problemi autoimmuni (reazioni immunitarie contro il proprio organismo) che possono manifestarsi con il rilievo nel sangue di autoanticorpi diversi da quelli dell'artrite reumatoide o di altre malattie autoimmuni (rare)(14-16,23). In pratica possiamo avere sviluppo di anticorpi contro il farmaco – solo con infliximab – motivo poi di parziale perdita di risposta terapeutica allo stesso; possiamo avere sviluppo di positività degli ANA (anticorpo presente nel LES) in circa il 50-60% dei trattati, di positività del dnDNA (altro autoanticorpo del LES) nel 4 - 10% dei trattati(15). Rarissimo è lo sviluppo di LES da farmaci, comunque reversibile e lieve(23).

Non c'è evidenza attuale che i pazienti che sviluppano tali autoanticorpi siano a rischio aumentato per lupus da farmaci (dalle raccomandazioni italiane per l'utilizzo di tali farmaci 2006).

Poiché i farmaci biologici inibiscono parzialmente l'attività del sistema immunitario, che è importante nel combattere lo sviluppo di tumori, è teoricamente possibile che l'uso di tali farmaci, in particolare per periodi prolungati e ad alte dosi, possa causare un aumento della frequenza di tumori (24,25). Dai dati finora disponibili sembra tuttavia che tale effetto collaterale sia molto raro (24,25).

Sono stati descritti altri effetti collaterali come leucopenia, anemia, pancitopenia (calo della produzione di cellule ematiche), linfadenopatia, cefalea, vertigini, malessere, astenia, ritenzione di liquidi, ecchimosi, epatite ed altri effetti collaterali. Tali effetti collaterali sono rari.(14-16,18).

### **Meccanismi patogenetici responsabili della produzione degli autoanticorpi dopo la terapia conTNFalfa**

I meccanismi patogenetici implicati nell'autoimmunità umorale durante la terapia con farmaci anti-TNF-alfa non sono ancora chiari. Si deve tenere conto del fatto che anche la patogenesi delle malattie di base non è completamente nota.

E' stato riportato che bassi livelli di TNF-alfa possono promuovere l'insorgenza del LES in topi predisposti e che il trattamento dei topi tipo(NZB × NZW) F 1 con TNFalfa migliora la nefrite(26) , inoltre una bassa espressione del TNFalfa può essere implicata anche nel LES umano spontaneo (27) , quindi si ritiene che il blocco del TNF-alfa possa favorire fenomeni di autoimmunità(28).

Come noto l'Infliximab inibisce non solo TNF-alfa solubili, ma anche TNF-alfa transmembrana, infatti il legame con TNF-alfa transmembrana può provocare la morte apoptotica attraverso l'esposizione degli autoantigeni, si ritiene che questo ultimo meccanismo potrebbe innescare lo sviluppo di anticorpi anti-DNA (29) . A differenza Dell'Infliximab che si lega con TNFtransmembrana, l'Etanercept si lega principalmente con TNF-alfa solubile (30) , questo spiega perché sia solo l'Infliximab e non l'Etanercept induce l'apoptosi dei monociti e dei linfociti T nel morbo di Crohn



(31) . Analogamente all'Infliximab, anche l'Adalimumab è stato dimostrato essere in grado di provocare l'apoptosi dei monociti del sangue periferico nel morbo di Crohn (32) . L'esame dei campioni delle biopsie sinoviali in pazienti affetti da artrite reumatoide ha dimostrato che sia l'Infliximab che l'Etanercept inducono l'apoptosi nella popolazione delle monociti / macrofagi sinoviali, ma non delle cellule sinoviali T (33).

Tuttavia i dati della letteratura riguardo gli anti- TNF-alfa bloccanti e l'apoptosi del tessuto sinoviale sono contrastanti (34,35) . Uno studio recente ha dimostrato che tutti i tre farmaci anti- TNF-alfa sono in grado di legarsi con le TNF-alfa transmembrana presentate dalle cellule di Jurkat, una linea delle cellule umane linfoblastoidi, e di indurre citotossicità anticorpo-dipendente cellulo-mediata simile. Invece la tossicità complemento-dipendente è stata più pronunciata con l'uso di anti- TNF-alfa anticorpi monoclonali rispetto all'uso di Etanercept (36), suggerendo che Etanercept possa essere meno efficace sia di Infliximab e Adalimumab per l'eliminazione delle cellule che esprimono TNF *transmembrana*. La diversità parziale tra l'Etanercept e anti- TNF-alfa anticorpi monoclonali nel meccanismo dell'inibizione del TNFalfa potrebbe giustificare i livelli più bassi degli autoanticorpi nei pazienti trattati con Etanercept rispetto a quelli trattati con Infliximab, come potrebbe giustificare pure l'efficacia clinica dell'Infliximab e l'Adalimumab, ma non dell'Etanercept nel trattamento di malattie granulomatosi (come la malattia di Crohn e granulomatosi di Wegener), e questo potrebbe dimostrare anche la propensione più pronunciato dell'Infliximab rispetto all' Etanercept nella riattivazione di tubercolosi latente. Invece rimane da chiarire il ruolo diverso di Infliximab e Adalimumab nell'induzione degli ANA.

La riduzione dei livelli della proteina C-reattiva (CRP) nel siero dopo il trattamento con Infliximab può inoltre favorire la produzione degli autoanticorpi. Questo meccanismo è paragonabile al ruolo della CRP nel promuovere la clearance dei corpi

apoptotici nei topi(38). Tuttavia i livelli sierici del CRP non differiscono tra i pazienti in cui sono presenti autoanticorpi indotti dall'uso dei farmaci anti TNF-alfa e, quelli in cui non sono presenti(39). e inoltre non è stata trovata nessuna correlazione tra i titoli degli ANA dopo il trattamento con Infliximab e i livelli del CRP (40).

Un'altra ipotesi è che la produzione degli autoanticorpi dopo la terapia con anti-TNF-alfa possa essere dovuto al fallimento dell'attività dei linfociti T citotossici, che inibiscono fisiologicamente le cellule B autoreattive (41). Inoltre, è stato suggerito che l'induzione degli autoanticorpi possa essere dovuta ad altri fattori diversi, come l'aumento di IL-10 (42), con conseguente attivazione delle cellule B o la modulazione dell'attività di diversi *subset* delle cellule B come *IgM memory B* cellule (39).

Inoltre il blocco del TNF-alfa può sostenere la secrezione di IFNalfa dalle cellule plasmacitoidi dendritiche, il cui ruolo nella patogenesi del lupus eritematoso sistemico è ben noto. Quindi la neutralizzazione del TNF-alfa endogena potrebbe favorire la produzione degli autoanticorpi e lo sviluppo del lupus -like sindrome attraverso l'aumento del rilascio dell'IFNalfa (43). Tuttavia un recente studio non ha confermato l'implicazione dell'INF di tipo 1 nella produzione di autoanticorpi dopo l'uso di inibitori del TNF-alfa. Questo studio ha esaminato l'impatto dei meccanismi descritti nei modelli sperimentali della LES relativi alla tolleranza di *break B cellule* nell'induzione di autoimmunità umorale nei pazienti affetti da spondiloartriti che hanno ricevuto l'Infliximab o l'Etanercept.

Gli Autori hanno mostrato che la somministrazione dell'Infliximab è stata associata con la produzione di anticorpi anti- nucleosomi di classe IgM che correlata con l'aumento dei livelli sierici dei nucleosomi, questo fenomeno sembra dovuto non a un aumento dell'apoptosi delle cellule, ma a un'inadeguata *clearance* dei detriti cellulari, possibilmente legato a una diminuzione dimostrata dei livelli sierici di C3 e C4. A differenza di queste osservazioni l'Etanercept non ha indotto anti-nucleosomi

anticorpi tipo IgM, anche non ha aumentato i livelli sierici dei nucleosomi e non ha diminuito i livelli del complemento (35).

Per quanto riguarda lo sviluppo degli anti cardiolipina nei pazienti trattati con l'Etanercept in correlazione con infezioni batteriche, è stato ipotizzato che eventi infettivi potrebbero stimolare il sistema immunitario a produrre IL-6 e l'interferone gamma e potrebbero attivare le cellule B, una volta TNFalfa è farmacologicamente inibita (44).

Sulla base di una limitata esperienza, BlyS (B-lymphocyte stimulator) non sembra essere coinvolto nell'autoimmunità umorale dopo TNFalfa blocco (40.)

## **Materiali e metodi**

### **Pazienti**

Lo studio è stato condotto presso l'ambulatorio di Psoriasi Severa della Clinica Dermatologica dell'Università di Bologna, nel periodo compreso tra il 2007e il 2011. Sono stati inseriti nello studio 120 soggetti di età compresa tra 20 e 65 anni affetti da psoriasi cutanea o psoriasi artropatica trattati con farmaci biologici anti-TNF-alfa (Adalimumab, Infliximab, Etanercept). Di questi pazienti, 113 sono stati trovati negativi per gli autoanticorpi prima dell'assunzione dei farmaci anti TNF-alfa, invece 7 sono stati trovati positivi per gli ANA. Nella selezione dei pazienti sono stati esclusi coloro che sono rimasti sotto la nostra osservazione per meno di sei mesi dopo l'inizio della terapia biologica con anti-TNF-alfa, ed i pazienti affetti da malattie autoimmunitarie.

### **Indagini diagnostiche:**

Ogni paziente arruolato nello studio è stato sottoposto a prelievo ematico per la ricerca di anticorpi antinucleo ANA, anticorpi anti DNA a doppia elica e autoanticorpi

anti-antigeni nucleari estraibili. Tale prelievo è stato effettuato all'inizio della terapia e durante la terapia con un regolare monitoraggio (secondo le linee guida italiane che raccomandano il controllo degli autoanticorpi al basale ed a intervalli di 3-6 mesi a titolo precauzionale). Gli anticorpi antinucleo ANA e gli anticorpi anti DNA a doppia elica (DNAds) sono stati rilevati con metodica di immunofluorescenza indiretta (IFI) utilizzando rispettivamente cellule Hep-2 e Crithidia luciliae come substrati. Sono stati considerati valori positivi i titoli > 1:80 (nel caso di ANA) e > 1:10 (nel caso di anti-DNAds). Anticorpi anti antigeni nucleari estraibili ENA sono stati identificati con metodiche di ELISA (enzyme linked immunoassorbent assay), e con tecniche EIA (metodi immunoenzimatici su fase solida da impiegare nella diagnostica delle malattie autoimmuni sistemiche in sostituzione dell'IF). Nei casi di positività, il valore è stato calcolato e classificato come positivo debole o positivo secondo lo standard riconosciuto a livello nazionale.

Il nostro studio è stato condotto con la finalità di osservare il comportamento degli autoanticorpi durante la terapia con i Farmaci anti TNF alfa in pazienti affetti da psoriasi cutanea e psoriasi artropatica. In particolare lo studio ha preso in considerazione:

- 1- il rapporto tra ciascun farmaco anti-TNF-alfa e lo sviluppo degli autoanticorpi.
- 2- il rapporto tra la malattia di base e lo sviluppo degli autoanticorpi.
- 3- La correlazione tra lo sviluppo degli autoanticorpi (ANA, Anti-DNAds) e lo sviluppo di segni e sintomi di sindrome lupus-like.
- 4- L'influenza dell'uso di farmaci immunomodulatori, quale il Metotrexate sui valori degli autoanticorpi sviluppati durante la terapia biologica con i farmaci anti TNFalfa.

## Risultati

### - Rapporto tra ciascun farmaco e sviluppo degli autoanticorpi e rapporto tra la malattia di base e sviluppo degli autoanticorpi.

Su un totale di 113 pazienti trattati con la terapia biologica tutti negativi per gli autoanticorpi al basale, 45 di loro sono stati trattati con Adalimumab(Humira)<sup>®</sup>, 42 con Etanercept(Enbrel)<sup>®</sup>, 26 con Infliximab(Remicade)<sup>®</sup> per una durata di terapia che è oscillata tra 21.2±9.9 mesi. Durante lo studio, tra i pazienti che sono stati trattati con Adalimumab, 25 erano affetti da psoriasi cutanea e 20 erano affetti da psoriasi artropatica, 10 hanno sviluppato autoanticorpi (che corrispondono a 22,2% dei pazienti trattati con Adalimumab), 5 erano affetti da psoriasi cutanea e 5 erano affetti da psoriasi artropatica, 9 pazienti hanno sviluppato ANA (20%) dopo 7,1±8.8 mesi, 3 pazienti hanno sviluppato Anti-DNA (6.6%) dopo 17.3+<sub>-</sub>6.4 mesi, e un paziente ha sviluppato anticorpi anti ENA (2,2%) dopo 10 mesi di terapia del tipo Scl70, quest'ultimo paziente è risultato positivo debole (borderline) solo per una volta durante lo screening.

Tra i 42 pazienti che erano trattati con Etanercept per un periodo di terapia che è oscillato tra 27,4±13,9 mesi, 19 erano affetti da psoriasi cutanea e 23 erano affetti da psoriasi artropatica, 9 pazienti hanno sviluppato autoanticorpi dopo un periodo di terapia che è oscillata tra 13,9+14,6 mesi (Min. 3 mesi, Max 45 mesi), ossia il 21,4% dei pazienti trattati con Etanercept, di questi pazienti diventati positivi agli autoanticorpi 4 erano affetti da psoriasi cutanea e 5 affetti da psoriasi artropatica, 8 pazienti hanno sviluppato ANA (19%), 1 paziente affetto da psoriasi cutanea ha sviluppato ANA e Anti DNA (2,3%), 1 paziente affetto da psoriasi cutanea ha sviluppato anticorpi anti ENA tipo SSa (Ro) dopo 36 mesi di terapia (2,3%), in questo ultimo paziente gli anticorpi (SSa) sono risultati positivi deboli per due controlli durante lo screening, ma dopo 6 mesi si sono negativizzati.

Tra i 26 pazienti trattati con Infliximab per un periodo di terapia che è oscillato tra 28,17+15,8 mesi, 14 erano affetti da psoriasi cutanea e 12 erano affetti da psoriasi artropatica. Di questi 26 pazienti 18 hanno sviluppato ANA dopo un periodo di terapia variabile tra 16,4+14 mesi (69,2%), di cui 11 erano affetti da psoriasi, e 7 erano affetti da psoriasi artropatica. Sempre tra questi pazienti positivi per gli ANA 3 pazienti hanno sviluppato anche Anti DNA dopo un periodo di terapia variabile tra 16,3+8,5 mesi ( 11,5%), due erano affetti da psoriasi artropatica e uno era affetto da psoriasi cutanea. Anche tra i pazienti positivi per gli ANA, 2 pazienti hanno sviluppato anticorpi anti ENA tipo SSa (Ro) dopo 10,5+0,7 mesi (7,6%).

Dai risultati ottenuti si evince che Infliximab è stato associato ad una più alta percentuale di presenza degli autoanticorpi rispetto ad Adalimumab ( $p < 0,0001$ ), ed Etanercept ( $p < 0,0001$ ), mentre non è stata segnalata differenza statisticamente significativa tra Etanercept e Adalimumab ( $p = 0,883$ ).

Per quanto riguarda i sette pazienti che erano positivi al basale sei di loro (85,7%) oltre ad essere rimasti positivi durante la terapia hanno anche aumentato i valori degli autoanticorpi. Tabella(1)

<b>Pazienti</b>	<b>Farmaco</b>	<b>ANA al basale</b>	<b>ANA durante la terapia</b>
AT	Infliximab	1/80	1/160
DC	Infliximab	1/80	1/160
PA	Adalimumab	1/80	1/320
SC	Etanercept	1/80	1/40
MD	Etanercept	1/160	1/5120
RP	Infliximab	1/80	1/320
FS	Etanercept	1/160	1/320

Tabella.1 titoli degli ANA prima e dopo la terapia antiTNF in pazienti positivi al basale

	Pazienti (N)	Psoriasi (N)	Psoriasi artropatica	Durata della terapia(mesi)
Adalimumab	45	25	20	21,2±9,9
Etanercept	42	19	23	27,4±13,9
Infliximab	26	14	12	28,7±15,8
N totale	113	58	55	

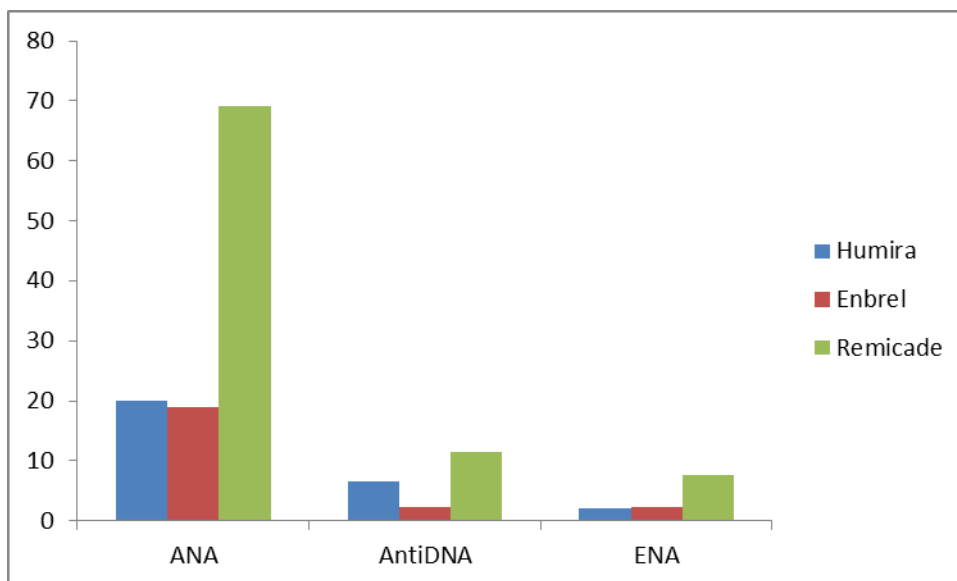
Tabella.2 pazienti affetti da psoriasi cutanea e psoriasi artropatica.

	ANA		AntiDNA		ENA	
	N (%)	Media~dev*	N(%)	<sup>1</sup> media±DEV	N (%)	Media±DEV*
<b>Adalimumab</b>	9 (20)	7,1±8,8	3 (6,6)	17,3±6,4	1 (2,2)	9±1,4
<b>Etanercept</b>	8 (19)	13,9±14,6	1 (2,3)	1	1 (2,3)	36
<b>Infliximab</b>	18 (69,2)	16,4±14	3 (11,5)	16,3±8,5	<sup>2</sup> 2 (7,6)	10,5±0,7

Tabella.3 sviluppo degli autoanticorpi durante la terapia anti-TNF.

<sup>1</sup>tempo medio in mesi per positivizzare gli autoanticorpi

<sup>2</sup> anticorpi anti Sso positivi >128 KUI/L



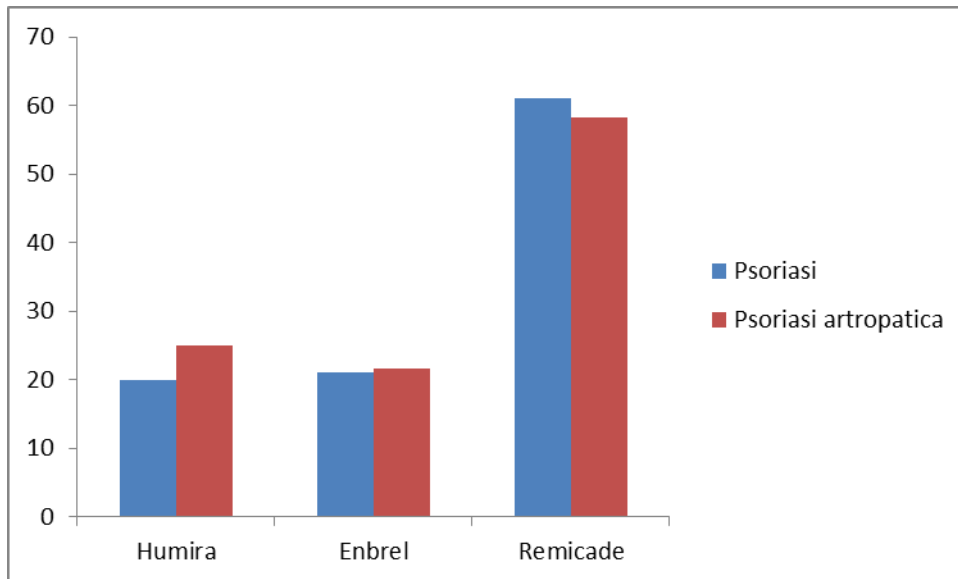
*Grafica.1 Lo sviluppo degli autoanticorpi durante la terapia antiTNF*

*Adalimumab(Humira)<sup>®</sup>,Etanercept(Enbrel)<sup>®</sup>,Infliximab(Humira)<sup>®</sup>.*

	<b>Psoriasi N (%)*</b>	<b>Psoriasi artropatica N (%)*</b>	<b>P</b>
Adalimumab	5 (20)	5 (25)	0.968
Etanercept	4 (21)	5 (21,7)	0.747
Infliximab	11 (61,1)	7 (58,3)	0.798
<b>Totale</b>	<b>20 (34,4)</b>	<b>17 (30,9)</b>	<b>0.867</b>

*Tabella.4 correlazione tra sviluppo degli autoanticorpi e malattie di base durante la terapia anti-TNF-alfa*





*Grafica.2 correlazione tra sviluppo degli autoanticorpi e malattia di base.*

**- correlazione tra sviluppo di autoanticorpi e segni e sintomi di sindrome lupus-like.**

Nessuno dei pazienti positivo per ANA e Anti-DNAs ha sviluppato segni di sindrome lupus-like.

**- L'influenza dell'uso di farmaci immunomodulatori, quale il Metotrexate sui valori degli autoanticorpi sviluppati durante la terapia biologica con i farmaci anti TNFalfa.**

Dal gruppo di pazienti osservati, 37 pazienti hanno sviluppato autoanticorpi durante la terapia biologica con farmaci anti-TNF-alfa. A 10 di loro è stato aggiunto il Metotrexate per un periodo compreso tra 6- 12 mesi al dosaggio di 7,5- 15 mg\settimana. In 8 pazienti i valori degli autoanticorpi sono rimasti immutati, mentre sono diminuiti in 1 pazienti pur rimanendo sempre positivo. Solamente in un paziente si sono negativizzati (10%). Inoltre si sono negativizzati in due pazienti i quali non sono stati sottoposti a MTX (7.4%). Pertanto la percentuale della negativizzazione degli anticorpi antinucleari nei pazienti in trattamento

concomitante con MTX si è mostrata sovrapponibile a quella osservata nei pazienti che non hanno ricevuto questo farmaco ( $p = 0,674$ ).

## **Discussione:**

L'uso dei farmaci biologici anti-TNF-alfa è stato associato allo sviluppo degli autoanticorpi. Gli ANA e gli anti-DNAs sono stati trovati in differenti percentuali di prevalenza nei pazienti trattati con anti-TNF(14,15,16). Mentre gli anticorpi anti ENA sono stati segnalati raramente durante la terapia anti-TNF-alfa(39,40,45,46)

Nel nostro studio l'Infliximab è stato associato con la più alta percentuale di presenza di ANA, anti-DNAs e anticorpi anti ENA con circa 69,2%, 11,5%, 7,6% rispettivamente dei pazienti trattati positivi al test. Invece solo il 20%, 6,6%, 2,2% dei pazienti trattati con l'Adalimumab, e il 19%, 2,3%, 2,3% dei pazienti trattati con Etanercept sono risultati positivi agli ANA, Anti-DNAs, ENA rispettivamente.(tabella 3,grafico 1). I nostri risultati per quanto riguarda la frequenza della positività degli ANA durante la terapia biologica concordano coi dati della letteratura, in particolare è stato pubblicato un articolo nel 2010 su *Practical Dermatology*(47) sugli eventi avversi occorsi durante il trattamento della psoriasi con farmaci biologici, che riporta l'Infliximab essere associato con la più alta percentuale di frequenza di ANA con circa il 50% di positività dei pazienti psoriasici trattati, e solo il 12%dei pazienti trattati con Adalimumab e l'11%dei pazienti trattati con Etanercept sono risultati positivi agli ANA(14,16,47).

Nel nostro studio si riporta che oltre agli ANA, si sono positivizzati anche gli anti-DNAs. I dati della letteratura su questo argomento sono contrastanti, variando il numero della positivizzazione degli anti-DNAs da pochissimi casi (40 ,46,48) a più di due terzi dei pazienti (39, e 45) . Va sottolineato che mentre lo screening degli ANA è di solito eseguito mediante l'immunofluorescenza indiretta su cellule HEp-2, gli

anti-DNAs sono testati con metodi diversi, come l'immunofluorescenza indiretta su *Crithidia luciliae*, il Farr test e la tecnica ELISA, inoltre alcuni autori hanno cercato solo gli anticorpi anti-DNA isotipo IgG, mentre altri hanno cercato sia gli anticorpi di isotipo IgG, che IgM e IgA. In effetti gli anticorpi anti-DNA che compaiono durante la terapia con Infliximab sono di solito di isotipo IgM (39,49) o di isotipi IgM / IgA (39), solo raramente sono anticorpi anti-DNA di isotipo IgG (39). Queste differenze nelle metodologie adottate possono contribuire alla contraddittorietà dei risultati.

Eriksson et al. hanno analizzato gli anticorpi anti-DNAs con tutte le tre tecniche in pazienti affetti da artrite reumatoide, prima e dopo il trattamento con Infliximab. Per quanto riguarda la comparsa di autoanticorpi mediante l'immunofluorescenza indiretta su *Crithidia luciliae*, la percentuale dei soggetti positivi agli IgG e IgM isotipi era passata da 2 % e dal 4% al basale a 45% e al 70% dopo 54 settimane. Utilizzando invece il metodo ELISA e la tecnica di Farr, la percentuale di pazienti affetti da AR positivi per anticorpi anti-DNA aumentata dallo 0% al 5% e al 25% rispettivamente (45).

L'elevata incidenza degli anticorpi anti-DNAs tipo IgG riportata in questo studio non è stata confermata da altri Autori (39, 46, 48,40) .

Nello studio sopra citato da De Rycke et al. La positivizzazione degli anti-DNAs è avvenuta nel 70,6% e nel 15% dei pazienti affetti da spondiloartropatie sieronegative trattati con Infliximab ed Etanercept rispettivamente (39) . Pertanto, oltre alla positività degli ANA, anche la comparsa degli anticorpi anti-DNA differisce significativamente tra Infliximab ed Etanercept . In accordo con questa osservazione altri studi hanno confermato questo dato. Il gruppo di Gonnet-Gracia et al, ha segnalato la comparsa di anticorpi anti-DNAs nel 9,5% e nel 2% dei pazienti affetti da artrite reumatoide e spondilite anchilosante, rispettivamente, dopo il trattamento con Infliximab, mentre nessuna variazione significativa è stata osservata nel gruppo dell'Etanercept (50). Inoltre anche Yazdani-Biuki et al. non

hanno trovato anticorpi anti-DNAs, studiando un gruppo di 12 pazienti affetti da AR trattati con Etanercept per 9 mesi (51) .

Un altro articolo riporta che dopo il trattamento con Adalimumab gli anticorpi anti-DNA sono diventati positivi, spesso a livelli bassi, in un piccolo numero di pazienti affetta da AR (52,53) . In un altro articolo, la comparsa degli anticorpi anti-DNAs è stata descritta anche in 9 su 63 pazienti affetti da malattia di Crohn dopo 10 settimane di trattamento con Infliximab(54).

La percentuale di presenza degli anticorpi anti ENA trovata nel nostro studio è alta rispetto a quella segnalata in letteratura dove gli anticorpi anti ENA compaiono durante la terapia con farmaci anti-TNF-alfa solo raramente 0% (39 ,46,40). Questo risultato potrebbe essere in parte attribuito agli errori laboratoristici. Infatti i valori borderline degli anticorpi anti Scl70 che sono stati misurati nel paziente trattato con Adalimumab, si sono positivizzati solo una volta durante lo screening, poi si sono rivelati negativi in tutte le misurazioni successive. Anche gli anticorpi anti SSa che erano presenti nel paziente trattato con Etanercept sono risultati debolmente positivi per solo due volte durante lo screening poi si sono sempre rilevati negativi. D'altra parte i pazienti trattati con Infliximab che hanno sviluppato anticorpi SSa(>128 KUI/L) sono rimasti positivi per tutta la durata dello screening, pertanto la percentuale di positività degli autoanticorpi del 7,5% riscontrata nei pazienti trattati con l'Infliximab rimane alta rispetto ai dati della letteratura.

Nei pazienti affetti da artrite reumatoide, è stata osservata un'elevata incidenza di autoanticorpi, in quanto la malattia stessa è prona a sviluppare gli autoanticorpi. Anche in pazienti affetti da spondiloartropatie sieronegative e da morbo di Crohn e la malattia di Behcet vi è una elevata incidenza di autoanticorpi(54,55, 39 ,56 , 57,58,59,60,61,62). Questi dati suggeriscono che questo fenomeno potrebbe essere associato alla malattia di base. A tal proposito abbiamo voluto vedere se ci fosse una

differenza significativa nella frequenza degli autoanticorpi durante la terapia con anti-TNF-alfa tra la psoriasi cutanea e la psoriasi artropatica. La differenza trovata tra le due malattie nel nostro studio non è stata statisticamente significativa ( $p=0,867$ ) (tabella 6 Grafico 2).

I risultati che riguardano la positività del titolo degli ANA prima di iniziare la terapia anti-TNF sono simili ai risultati presenti in letteratura (40,46,48,49,50, 39). (tab 3)

Dal nostro studio risulta che con tutti i farmaci anti TNFalfa, l'incidenza degli anticorpi ANA o anti-DNAs non è correlata allo sviluppo di sindrome lupus-like. Tali risultati sono sovrapponibili a quelli della letteratura. Una revisione retrospettiva che è stata condotta per quanto riguarda l'uso di tutti gli inibitori del TNF negli ospedali francesi ha riscontrato un'incidenza di sindrome lupus-like in un gruppo di circa 10.700 pazienti dello 0,19% nei pazienti che assumevano Infliximab e, dello 0,18% nei pazienti che assumevano Etanercept (73). In questi pazienti tutti i sintomi del lupus eritematoso sistemico si sono risolti entro 16 settimane dalla sospensione del farmaco. La correlazione tra lo sviluppo di auto-anticorpi e segni e sintomi del lupus non è stata dimostrata, quindi questi anticorpi non specifici non sono controindicazione alla terapia con inibitori del TNF, né richiedono la sospensione della terapia (19).

Per quanto riguarda le analisi dei pazienti trattati con farmaci anti-TNF-alfa in concomitanza con MTX, rispetto a quelli che non hanno ricevuto questo farmaco, non è stato dimostrato differenza significativa nella negativizzazione degli ANA tra i due gruppi. In letteratura il Metotrexate è stato dimostrato inefficace nel prevenire lo sviluppo degli ANA durante la terapia anti-TNF-alfa (29, 45) e quindi potremmo concludere che il MTX è inefficace sia nel prevenire lo sviluppo degli ANA sia nel ridurre il titolo in caso di positività.

## Conclusione

I risultati del nostro studio dimostrano che l'Infliximab è stato associato alla più alta percentuale di autoanticorpi ANA, anti-DNAs, ENA (anticorpi anti SSa). Inoltre lo sviluppo degli anticorpi anti Ssa(Ro) durante la terapia anti-TNF- $\alpha$  è stata rilevata maggiore di quella osservata in letteratura, soprattutto con l'uso di Infliximab. La differenza nella frequenza degli autoanticorpi tra la psoriasi cutanea e la psoriasi artropatica non è stata statisticamente significativa ( $p=0,867$ ). L'incidenza degli ANA o anti-DNAs non è correlata allo sviluppo di sindromi lupus-like. Anche la terapia concomitante con il MTX e i farmaci anti TNF $\alpha$  si è rivelata inefficace a ridurre i titoli degli ANA sviluppati.

## BIBLIOGRAFIA

1. Printz J. The role of T cells in psoriasis. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17: 257-70.
2. Sterry W, Barker J, Boehncke WH, Bos JD, et al. Biological therapies in the systemic management of psoriasis: international consensus conference. *Br J Dermatol* 2004; 151: 3-17.
3. Goldman D. Psoriatic arthritis. In: Maddison PJ, Isenberg D, Woo P, Glass D, editors. 1988. *Oxford textbook of rheumatology*. Oxford (UK): Oxford University Press. 1071.

4. Capon F, Di Meglio P, Szaub J, Prescott NJ, et al. Sequence variants in the genes for the interleukin-23 receptor (IL23R) and its ligand (IL12B) confer protection against psoriasis. *Hum Genet* 2007; 122(2): 201-6.
5. Nickoloff BJ, Nestle FO. Recent insights into the immunopathogenesis of psoriasis provide new therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 2004; 113(12): 1664-75.
6. Menter A et al. Guidelines of care for the management of psoriasis and psoriasis arthritis Section 1. Overview of psoriasis and Guidelines of care for the treatment with biologics *J Am Acad Dermatology* 2008;58:826-50.
7. Salvarani C et al. Recommendations of the Italian Society for Rheumatology for the use of biologics (TNF $\alpha$  blocking) agents in the treatment of psoriatic arthritis *Clinical and Experimental Rheumatology* 2006;24:70-78.
8. Remicade<sup>®</sup> (infliximab) prescribing information, Centocor, Inc., Malverna, PA
9. Cheifetz A, Mayer L. Monoclonal antibodies, immunogenicity, and associated infusion reactions. *Mt Sinai J Med* 2005; 72: 250-256.
10. Lequerre T, Vittecoq O, Klemmer N, et al. Management of infusion reactions to infliximab in patients with rheumatoid arthritis or spondyloarthritis: experience from an immunotherapy unit of rheumatology. *J Rheumatol* 2006; 33: 1307-13140.
11. Mohan N, Edwards ET, Cupps TR, et al. Leukocytoclastic vasculitis associated with tumor necrosis factor-alpha blocking agents. *J Rheumatol* 2004; 31: 1955-1958.
12. Laffitte E, Janssens J, Roux-Lombard P, et al. Tuberculosis screening in patients with psoriasis before antitumour necrosis factor therapy: comparison of an interferon-gamma release assay vs. tuberculin skin test. *Br J Dermatol Journal of Dermatology* 2009; 161(4): 797-800.2.

13. Mohan AK, Cote TR, Block JA, et al. Tuberculosis following the use of etanercept, a tumor necrosis factor inhibitor. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 295-299.3.
14. Enbrel® (etanercept) prescribing information, Immunex Corporation, Thousand Oaks, CA.
15. Remicade® (infliximab) prescribing information, Centocor, Inc., Malverna, PA.
16. Humira® (adalimumab) prescribing information, Abbott Laboratories, North Chicago, IL.
17. Amevive® (alefacept) prescribing information, Astellas Pharma US, Inc., Deerfield, IL.
18. Simponi® (golimumab) prescribing information, Centocor Ortho Biotech Inc., Horsham, PA.
19. Lebwohl M, Bagel J, Gelfand J, et al. From the Medical Board of the National Psoriasis Foundation: monitoring and vaccinations in patients treated with biologics for psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 2008; 58(1): 94-105.
20. Desai SB, Furst DE. Problems encountered during anti-tumor necrosis factor therapy. *Best Pract Res* 2006; 20: 757-790.
21. Flynn JL, Chan J. Immunology of tuberculosis. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 93-129.
22. Mohan VP, Scanga CA, Yu K, et al. Effects of tumor necrosis factor alpha on host immune response in chronic persistent tuberculosis: possible role for limiting pathology. *Infection and Immunity* 2001; 69: 1847-1855
23. De Bandt M, Sibilia J, Le Loet X, et al. Systemic lupus erythematosus induced by antitumor necrosis factor alpha therapy: a French national survey. *Arthritis Research & Therapy* 2005; 7: R545-R551
24. Patel RV, Clark LN, Lebwohl, et al. Treatments for psoriasis and the risk of malignancy. *J Am Acad Dermatol*. 2009; 60: 1001-1017



25. Information for Healthcare Professionals: Tumor necrosis factor (TNF) blockers (marketed as Remicade<sup>®</sup>, Enbrel<sup>®</sup>, Humira<sup>®</sup>, Cimzia<sup>®</sup>, and Simpori<sup>®</sup>). Available at <http://www.fda.gov/drugs/drugSafetyInformationforPatients/Providers/DrugSafetyInformationforHealthcareProfessionals/ucm174474.htm>.
26. Jacob CO, McDevitt HO. Tumor necrosis factor- $\alpha$  in murine autoimmune lupus' nephritis. *Nature* 1988;331:356e8
27. Mitamura K, Kang H, Tomita J, et al. Impaired tumour necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production and abnormal B cell response to TNF- $\alpha$  in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* 1991;85:385e91.
28. Pisetsky DS. Tumor necrosis factor  $\alpha$  blockers and the induction of anti-DNA antibodies. *Arthritis Rheum* 2000;43:2381e2.
29. Charles PJ, Smeenk RJ, De Jong J, et al. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor  $\alpha$ : findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis Rheum* 2000;43:2383e90
30. Moreland LW, Baumgartner SW, Schiff MH, et al. Treatment of rheumatoid arthritis with a recombinant human tumor necrosis factor receptor (p75)-Fc fusion protein. *N Engl J Med* 1997;337:141e7.
31. Van den Brande JM, Braat H, van den Brink GR, et al. Infliximab but not etanercept induces apoptosis in lamina propria T-lymphocytes from patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2003;124:1774e85.
32. Shen C, Assche GV, Colpaert S, et al. Adalimumab induces apoptosis of

human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept.

*Aliment Pharmacol Ther* 2005;21:251e8.

33. Catrina AI, Trollmo C, af Klint E, et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints: extended report. *Arthritis Rheum* 2005;52:61e72.

34. Smeets TJ, Kraan MC, van Loon ME, et al. Tumor necrosis factor alpha blockade reduces the synovial cell infiltrate early after initiation of treatment, but apparently not by induction of apoptosis in synovial tissue. *Arthritis Rheum* 2003;48:2155e62.

35. Cantaert T, De Rijcke L, Mavragani CP, et al. Exposure to nuclear antigens contributes to the induction of humoral autoimmunity during TNF alpha blockade. *Ann Rheum Dis* 2008 Jul 14 [epub ahead of print].

36. Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H, et al. Mechanisms for cytotoxic effects of anti-tumor necrosis factor agents on transmembrane tumor necrosis factor alpha-expressing cells: comparison among infliximab, etanercept, and adalimumab. *Arthritis Rheum* 2008;58:1248e57.

37. Bickerstaff MC, Botto M, Hutchinson WL, et al. Serum amyloid P component controls chromatin degradation and prevents antinuclear autoimmunity. *Nat Med* 1999;5:694e7.

38. Gershow D, Kim S, Brot N, et al. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* 2000;192:1353e64.

39. De Rycke L, Baeten D, Kruithof E, et al. Infliximab, but not etanercept, induces IgM anti-double-stranded DNA autoantibodies as main antinuclear reactivity: biologic and clinical implications in autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum* 2005;52:2192e201.
40. Caramaschi P, Biasi D, Colombatti M, et al. Anti-TNFalpha therapy in rheumatoid arthritis and autoimmunity. *Rheumatol Int* 2006;26:209e14
41. Via CS, Shustov A, Rus V, et al. In vivo neutralization of TNF-alpha promotes humoral autoimmunity by preventing the induction of CTL. *J Immunol* 2001;167:6821e6.
42. Ioannou Y, Isemberg DA. Current evidence for the induction of autoimmune rheumatic manifestations by cytokine therapy. *Arthritis Rheum* 2000;43:1431e42
43. Palucka AK, Blanck JP, Bennett L, et al. Cross-regulation of TNF and IFN-alpha in autoimmune diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102: 3372e7.
44. Ferraccioli G, Mecchia F, Di Poi E, et al. Anticardiolipin antibodies in rheumatoid patients treated with etanercept or conventional combination therapy: direct and indirect evidence for a possible association with infections. *Ann Rheum Dis* 2002;61:358e61
45. Eriksson C, Enqstrand S, Sundqvist KG, et al. Autoantibody formation in patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF alpha. *Ann Rheum Dis* 2005;64:403e7.
46. Allanore Y, Sellam J, Batteux F, et al. Induction of autoantibodies in refractory rheumatoid arthritis treated by infliximab. *Clin Exp Rheumatol* 2004;22:756e8

47. By Kyle Bauer, BA and Mark Bechtel, MD. Complications of Biologic Therapy for Psoriasis: Part II. January 2010 | Practical Dermatology | 47 .

48. Bobbio-Pallavicini F, Alpini C, Caporali R, et al. Autoantibody profile in rheumatoid arthritis during long-term infliximab treatment. *Arthritis Res Ther* 2004;6:R264e72

49. Charles PJ, Smeenk RJ, De Jong J, et al. Assessment of antibodies to double-stranded DNA induced in rheumatoid arthritis patients following treatment with infliximab, a monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha: findings in open-label and randomized placebo-controlled trials. *Arthritis Rheum* 2000;43:2383e90

50. Gonnet-Gracia C, Barnetche T, Richez C, et al. Anti-nuclear antibodies, anti-DNA and C4 complement evolution in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis treated with TNF-alpha blockers. *Clin Exp Rheumatol* 2008;26:401e8

51. Yazdani-Biuki B, Stadlmaier E, Mulabecirovic A, et al. Blockade of tumour necrosis factor {alpha} significantly alters the serum level of IgG- and IgA-rheumatoid factor in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1224e6.

52. Atzeni F, Sarzi-Puttini C, Dell'Acqua D, et al. Adalimumab clinical efficacy is associated with rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody titre reduction: a one-year prospective study. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R3.

53. Keystone E, Haraoui B. Adalimumab therapy in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin N Am* 2004;30:349e64.

54. Atzeni F, Ardizzone S, Sarzi-Puttini C, et al. Autoantibody profile during short-term infliximab treatment for Crohn's disease: a prospective cohort study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;22:453e61.
55. De Rycke L, Kruithof E, Van Damme N, et al. Antinuclear antibodies following infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis or spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 2003;48:1015e23
56. Ferraro-Peyret C, Coury F, Tebib JG, et al. Infliximab therapy in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis-induced specific antinuclear and antiphospholipid autoantibodies without autoimmune clinical manifestations: a two-year prospective study. *Arthritis Res Ther* 2004;6: R535e43.
57. Sellam J, Allanore Y, Batteux F, et al. Autoantibody induction in patients with refractory spondyloarthropathy treated with infliximab and methotrexate. *Joint Bone Spine* 2005;72:48e52
58. Hoxha A, Ruffatti A, Grypiotis T, et al. Antinuclear, anti-dsDNA and anti-ENA antibodies in patients affected with rheumatoid arthritis or ankylosing spondylitis during treatment with infliximab. *Reumatism* 2006;58:121e6.
59. Bacquet-Deschryver H, Jouen F, Quillard M, et al. Impact of three anti-TNFalpha biologics on existing and emergent autoimmunity in rheumatoid arthritis and spondylarthropathy patients. *J Clin Immunol* 2008;28
60. Garcia-Planella E, Domenech E, Esteve-Comas M, et al. Development of antinuclear antibodies and its clinical impact in patients with Crohn's disease treated with chimeric monoclonal anti-TNFalpha antibodies (infliximab). *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:351e4.

61. Vermeire S, Noman M, Van Assche G, et al. Autoimmunity associated with anti-tumor necrosis factor a treatment in Crohn's disease: a prospective cohort study. *Gastroenterology* 2003;125:32e9:445e55.

62. Elezoglou A, Kafasi N, Kaklamanis PH, et al. Infliximab treatment induced formation of autoantibodies is common in Behc,et's disease. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25(Suppl. 45):S65e9.