

Postępowanie w niepowodzeniu stosowania leków blokujących TNF- α u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów

Treatment options for patients with rheumatoid arthritis after inadequate response to tumour necrosis factor inhibitors

Piotr Wiland

Zakład Balneologii Akademii Medycznej we Wrocławiu, kierownik Zakładu dr hab. med. Piotr Wiland, profesor AM

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, niepowodzenie po lekach blokujących TNF- α , infliksymab, etanercept, adalimumab, abatacept, rytuksymab.

Key words: rheumatoid arthritis, inadequate response to tumor necrosis factor inhibitors, infliximab, etanercept, adalimumab, abatacept, rituximab.

Streszczenie

Stosowanie inhibitorów czynnika martwicy nowotworów poprawiło znacznie przebieg i rokowanie u wielu chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Jednak w pewnej grupie chorych nie uzyskuje się wystarczającej odpowiedzi terapeutycznej lub istnieją przeciwwskazania do stosowania inhibitorów czynnika martwicy nowotworów (*tumour necrosis factor α – TNF- α*). Właściwe postępowanie w opornym na leczenie reumatoidalnym zapaleniu stawów może polegać na optymalizacji jednocześnie podawanych klasycznych leków modyfikujących przebieg choroby, zwiększeniu dawki dotychczas podawanego inhibitora czynnika martwicy nowotworów, skróceniu czasu pomiędzy kolejnym podaniem tego leku, zamianie na inny lek z grupy antagonistów czynnika martwicy nowotworów lub zastąpienie innym lekiem biologicznym dostępnym w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów, np. abataceptem lub rytuksymabem.

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą, układową chorobą o podłożu autoimmunologicznym, charakteryzującą się symetrycznym zajęciem stawów. W ciągu ostatnich 20 lat dokonał się znaczący postęp w jej leczeniu, związany z wprowadzeniem metotreksatu (MTX) oraz rozpoczynaniem leczenia modyfikującego już w momencie wystąpienia pierwszych objawów RZS. Dalszy znaczący postęp w terapii RZS wynikał z zastosowania nowej grupy leków blokujących czynnik martwicy

Summary

Tumour necrosis factor (TNF- α) inhibitors have improved the clinical outcome of many patients with rheumatoid arthritis (RA). However, some patients do not respond well or have contraindications to these agents. The appropriate treatment strategy in refractory RA would be possible by optimizing concomitant conventional disease modifying antirheumatic drugs, increasing the dose of TNF- α inhibitor or shortening the dosing frequency, switching to another TNF- α inhibitor or switching to other new biological agents available for use in patients with RA such as abatacept or rituximab.

nowotworów, które wywołują poprawę w zakresie objawów podmiotowych i przedmiotowych oraz opóźniają radiologiczną progresję choroby. Do tych leków zalicza się etanercept (ETN), infliksymab (INF) i adalimumab (ADA); są one zalecane w terapii chorych z aktywną postacią RZS, oporną na leczenie lekami modyfikującymi zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej.

Pomimo wprowadzenia leków blokujących TNF- α , okazało się, że żaden z tych leków nie jest skuteczny

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Piotr Wiland, Zakład Balneologii Akademii Medycznej we Wrocławiu, ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław

Praca wpłynęła: 31.03.2008 r.

u wszystkich chorych na RZS. W badaniach klinicznych, których wyniki stanowiły podstawę przy rejestrowaniu tych leków w terapii RZS, ok. 25–40% chorych nie osiągało poprawy co najmniej 20-procentowej wg kryteriów *American College of Rheumatology* (ACR 20) [1–4].

Zanim jednak klinicysta – stojąc wobec zjawiska niepowodzenia po podaniu leku blokującego TNF- α – będzie starał się podjąć dalszą decyzję co do właściwego postępowania terapeutycznego, powinien zdefiniować rodzaj braku skuteczności leku. Mogą istnieć cztery warianty niepowodzenia terapii lekami z tej grupy, w większości podobne do sytuacji spotykanych w przypadku klasycznych leków modyfikujących:

- pierwotna nieskuteczność blokera TNF- α ,
- wtórna nieskuteczność blokera TNF- α ,
- pojawienie się objawów niepożądanych zmuszających do odstawienia leku blokującego TNF- α ,
- częściowa nieskuteczność po lekach blokujących TNF- α .

Pierwotna nieskuteczność blokera TNF- α

Pierwotna nieskuteczność występuje wtedy, gdy nie stwierdza się korzystnej reakcji na podanie leku blokującego TNF- α ; definiowane jest to bardzo ściśle wg kryteriów braku odpowiedzi wg EULAR i/lub odpowiedzi mniejszej niż ACR20 i wymaga określonego czasu obserwacji od rozpoczęcia terapii. Kryteria odpowiedzi EULAR opierają się na uzyskanym poziomie wartości DAS 28 oraz jego zmianach i są częściej stosowane w badaniach obserwacyjnych, w których wykorzystuje się rejestry chorych leczonych biologicznie lub w codziennej praktyce klinicznej [5]. O odpowiedzi na leczenie można mówić u tych chorych, którzy uzyskali odpowiedź dobrą lub przynajmniej umiarkowaną, czyli poprawę we wskaźniku DAS 28 o przynajmniej 1,2.

Zwykle należy się spodziewać odpowiedzi klinicznej w ciągu pierwszych 3 mies. od rozpoczęcia terapii; w tym czasie można więc ocenić, czy u chorego wystąpiła pierwotna nieskuteczność. Niekiedy ten okres bywa wydłużony do pierwszych 6 mies., jeśli u chorego w ciągu 3 mies. nastąpiła pewna poprawa, ale niespełniająca jeszcze kryteriów przynajmniej odpowiedzi umiarkowanej.

Wtórna nieskuteczność blokera TNF- α

Innym wariantem nieskuteczności jest tzw. wtórna nieskuteczność (lub tzw. późna, nabyta odporność na leczenie [6]), gdy u chorego z początkową korzystną reakcją na leczenie pojawiło się ponownie zaostrzenie, wyrażające się taką aktywnością choroby, która w porównaniu z aktywnością przed rozpoczęciem leczenia może być zdefiniowana jako brak odpowiedzi (zmniejszenie DAS 28 <0,6). Taka sytuacja może wystąpić wówczas, gdy pojawiają się przeciwciała przeciwko jednemu z blokerów TNF- α [7, 8].

Według van Vollenhovena dotyka to jedynie ok. 4% chorych [9]. Z kolei wg Bucha i wsp. [10] wtórna nieskuteczność dotyczyła w pierwszym roku leczenia prawie połowy ze 174 chorych na RZS, u których rozpoczęto leczenie INF z początkową skutecznością w ciągu pierwszych 12 tyg.

W większości doniesień autorzy nie rozgraniczają chorych, u których przerwano leczenie lekami blokującymi TNF- α z powodu pierwotnej lub wtórnej nieskuteczności.

Objawy niepożądane po lekach blokujących TNF- α

Trzecią możliwością niepowodzenia w leczeniu blokerami TNF- α jest pojawienie się objawów niepożądanych, zmuszających do odstawienia leku blokującego TNF- α przy dobrej odpowiedzi na leczenie. Według bazy danych Brytyjskiego Towarzystwa Reumatologicznego (*British Society for Rheumatology Biologics Register* – BSRBR), rejestrującej chorych, u których rozpoczynano leczenie blokerami TNF- α i którzy ukończyli przynajmniej 6-miesięczną obserwację (łącznie z 6739 chorych, 2826 rozpoczęło leczenie etanerceptem, 3037 infliksymabem, a 841 adalimumabem), u mniej więcej takiej samej liczby chorych przerwano leczenie zarówno z powodu nieskuteczności (n=841, 12%), jak i objawów niepożądanych (n=1023, 15%) [11].

W badaniu opartym na danych z południowej Szwecji (*South Swedish Arthritis Treatment Group* – SSATG) [12] w przypadku skojarzonego leczenia INF z MTX utrzymywanie tego sposobu leczenia w perspektywie 5-letniej (jednorocznej) było znacznie mniejsze i wynosiło 36% (69%) w porównaniu ze stosowaniem ETN z MTX, które wynosiło odpowiednio 65% (89%); podobne zależności występowały także wtedy, gdy INF oraz ETN były podawane w monoterapii, odpowiednio 18% (47%) oraz 53% (74%), jak i w skojarzeniu z innymi lekami modyfikującymi przebieg choroby (LMPCh) – odpowiednio dla INF 27% (58%) i ETN 71% (85%). Ryzyko przedwczesnego zakończenia leczenia INF było w tym badaniu 3-krotnie większe niż w odniesieniu do ETN. Główną tego przyczyną było wystąpienie objawów niepożądanych, a nie samo niepowodzenie skuteczności z powodu utrzymywania się dużej aktywności RZS.

Częściowa nieskuteczność po lekach blokujących TNF- α

Czwartą przyczyną niepowodzenia po zastosowaniu inhibitorów TNF- α , która jest różnie definiowana, może być tzw. częściowa nieskuteczność. Wprowadzeniu do terapii RZS bardzo drogiego leku, jakim jest bloker TNF- α , towarzyszy bowiem przekonanie lekarza, chorego oraz instytucji pokrywającej koszty, iż spowoduje on

u chorego remisję (DAS 28 <2,6) lub co najmniej małą aktywność choroby (DAS 28 <3,2). Jednak u większości chorych nie udaje się osiągnąć tego celu. W szwedzkim rejestrze chorych leczonych biologicznie remisję lub małą aktywność RZS po 6 mies. leczenia którymkolwiek z leków biologicznych stwierdzono u 40% chorych. U kolejnych 20% pacjentów nie stwierdza się odpowiedzi klinicznej wg EULAR, a pozostali wykazują umiarkowaną odpowiedź, która wg van Vollenhovena jest tylko odpowiedzią częściową [9]. Według danych rejestru BSRBR [13] po 6 mies. leczenia 3223 chorych (1413 leczonych ETN i 1810 INF) remisję uzyskano u 8,6%, a dobrą odpowiedź u 18,1% chorych. Zdecydowanie więcej osób (49,7%) wykazywało odpowiedź umiarkowaną, a brak odpowiedzi stwierdzono u 32,2% chorych na RZS. Nie wykazano istotnej różnicy pomiędzy stosowaniem INF i ETN w żadnej z podanych typów odpowiedzi.

Strategia postępowania po niepowodzeniu leku blokującego TNF- α

Jeśli doszło do niepowodzenia lub niemożności kontynuacji wprowadzonego do leczenia pierwszego leku z grupy blokerów TNF- α , można rozważyć następujące działania:

- zwiększenie dawki jednocześnie podawanego konwencjonalnego LMPCh, wprowadzenie kortykosteroidów lub niesteroidowych leków przeciwzapalnych,
- zwiększenie dawki lub częstości podawania inhibitora TNF- α ,
- zamianę na inny inhibitor TNF- α ,
- zamianę na lek biologiczny o innym mechanizmie działania.

Jeśli chory przyjmował lek biologiczny wraz z MTX w średnich dawkach (15–20 mg), można zwiększyć dawkę do 25 mg raz w tygodniu, zamienić postać dostępną na podskórną lub domięśniową albo dodać drugi lek modyfikujący, np. leflunomid, sulfasalazynę, cyklosporynę czy chlorochinę.

Większość chorych biorących leki biologiczne przyjmuje jednocześnie MTX. Istnieją jednak różnice w skuteczności leków biologicznych w odniesieniu do leczenia skojarzonego i związanych z tym odmienności w rejestracji, gdzie INF powinien być podawany z MTX, a ETN i ADA mogą być stosowane w monoterapii. Z tego względu, wg danych zebranych od 6739 chorych na RZS z rejestru Wielkiej Brytanii, MTX był stosowany u 92% chorych biorących INF, natomiast w grupie leczonej ETN u 48% chorych, a ADA u 58% [11]. Obserwowano większą częstość remisji u chorych otrzymujących leczenie skojarzone ETN z MTX (12%) w porównaniu z monoterapią ETN (5%) i stosowaniem ETN w skojarzeniu z innymi LMPCh; natomiast chorzy przyjmujący INF byli znacznie częściej jednocześnie leczeni MTX niż w monoterapii

czy innymi LMPCh, dlatego też różnice nie mogły być aż tak silnie wyrażone, jak w terapii ETN [14].

Kortykosteroidy są jednocześnie podawane u 49–67% chorych rozpoczynających leczenie biologiczne [11, 15]; zwykle w wyniku leczenia inhibitorami TNF- α można próbować zredukować dawkę kortykosteroidów. W materiale autorów hiszpańskich u 1/3 chorych biorących prednizon można było go odstawić całkowicie, a u większości pozostałych badanych (62 z 95) można było jego dawkę zmniejszyć o połowę [15]. Tylko 3% chorych, którzy na początku nie brali kortykosteroidów, wymagała tego sposobu leczenia w trakcie podawania blokerów TNF- α .

Według Hyricha i wsp. u chorych leczonych jednocześnie niesteroidowymi lekami przeciwzapalnymi (NLPZ) występuje lepsza skuteczność inhibitorów TNF- α [13]. Przyczyna tego zjawiska nie jest jasna. Istnieje wprawdzie możliwość, że NLPZ mogą na drodze indukcji enzymatycznej zwiększać skuteczność blokerów TNF- α , ale bardziej prawdopodobne jest to, iż unika się podawania NLPZ u chorych ze współistniejącymi schorzeniami, takimi jak nadciśnienie czy choroby wątroby; obecność tych chorób wpływa z kolei niekorzystnie na skuteczność blokerów TNF- α . Wyniki badania Hyricha nie mogą stanowić więc podstawy, aby zalecać podawanie NLPZ każdemu choremu rozpoczynającemu leczenie biologiczne.

Intensyfikacja podawania inhibitora TNF- α

Zwiększenie dawki lub częstości podawania inhibitora TNF- α jest praktykowane w niektórych krajach, ale często nie jest uwzględniane w analizie porównawczej skuteczności blokerów TNF- α . Ten sposób leczenia zwiększa oczywiście koszty podawania leków z tej grupy. W badaniu porównującym pacjentów biorących blokery TNF- α przez średnio 24 mies. u 33 z 60 chorych biorących INF (55%) zachodziła konieczność zwiększenia dawki do średnio $4,9 \pm 0,3$ mg/kg m.c. na jeden wlew (4–6) i/lub skrócenia czasu podawania do 6 tyg. [15]. Najczęściej była stosowana dawka 5 mg/kg m.c. na 8 tyg., co było praktykowane u 23 chorych (38%). Chorzy ci byli średnio dłużej leczeni bez wystąpienia nieskuteczności (37,7 mies.) w porównaniu z pozostałymi chorymi stosującymi standardową dawkę INF (28 mies.); nie obserwowano różnicy pod względem występowania objawów niepożądanych. W odniesieniu do chorych leczonych ADA nie modyfikowano u nich sposobu podawania (40 mg co 2 tyg.), natomiast w przypadku stosowania ETN u 8 chorych (10%) istniała możliwość zredukowania dawki do 25 mg/tydz., a u 4 chorych (5%) do 25 mg raz na 2 tyg. [15].

W systematycznym przeglądzie, który miał na celu określenie liczby chorych leczonych blokerami anty-TNF- α wymagających zwiększenia dawki, Ariza-Ariza i wsp. [16] poddali analizie 16 prac, które dotyczyły 8510 chorych;

wśród chorych leczonych INF 44% wymagało zwiększenia dawki, a 8,3% skrócenia czasu podawania; wśród chorych leczonych ETN u 17,5% trzeba było zwiększyć dawkę, choć nie wpłynęło to w sposób znaczący na średnią podawaną dawkę u tych chorych.

W innym badaniu, prowadzonym na materiale szwajcarskiego rejestru leków biologicznych, oceniano z kolei intensyfikację stosowania LMPCh, zwiększenie dawki leku blokującego TNF- α i zmiany we wskaźniku DAS 28 u chorych leczonych INF, ETN i ADA [6]. Wykazano, iż konieczność intensyfikacji podawania LMPCh (zwiększenia podawania dawki lub wprowadzenie nowego leku z tej grupy) była większa w przypadku INF (1,73 razy) w porównaniu z ETN i ADA; z powodu nieskuteczności leczenia istniała również konieczność zwiększenia dawki INF o 12% w ciągu roku, a po 2 latach o 18% w stosunku do wyjściowej dawki 3 mg/kg m.c. na wlew. Ten sposób terapii, w którym u niektórych chorych zwiększano dawkę blokera TNF- α lub intensyfikowano podawanie LMPCh, spowodował brak istotnej różnicy w odniesieniu do częstości zaprzestania leczenia tymi trzema lekami blokującymi TNF- α .

Nie jest możliwe sprecyzowanie, czy tzw. oporność na leczenie sformułowana przez Finckha i wsp. wynika z wtórnej nieskuteczności, czy odpowiada zastosowaniu od samego początku suboptymalnej dawki inhibitora TNF- α ; sugeruje się, że może to być związane z obecnością przeciwciał przeciwko blokerowi TNF- α . Według Haraoui i wsp. konieczność zwiększenia dawki INF lub skrócenia czasu pomiędzy kolejnymi wlewami, obserwowana u 32 z 55 chorych (63%) na RZS, występowała częściej u chorych z większym mianem przeciwciał przeciwko INF [17].

Nie jest łatwo dokonać porównania immunogenności trzech leków blokujących TNF- α , ponieważ istnieją różnice pod względem metod oceniających miano przeciwciał, podawania LMPCh oraz samego projektu badania. Częstość występowania przeciwciał przeciwko INF różniła się w zależności od tego, czy chorzy brali mniejsze lub większe dawki INF (od 7 do 21%) oraz stosowania MTX (od 0 do 7%); w przypadku ADA częstość występowania przeciwciał wahała się od 1 do 6%, a w odniesieniu do ETN ok. 2% [18].

Zamiana na inny inhibitor TNF- α po niepowodzeniu podawania leku z tej grupy

Kolejnym zalecanym postępowaniem w przypadku niepowodzenia terapeutycznego po pierwszym inhibitorze TNF- α jest podanie innego leku z tej grupy. Cohen i wsp. analizowali chorych, którzy pobierali po kolei zarówno ETN i INF; zmiana leku była w 29 przypadkach spowodowana nieskutecznością, a w 9 wystąpieniem

objawów niepożądanych [19]. Korzystny efekt po zamianie na drugi lek biologiczny był stwierdzony u 18 z 24 chorych, z których jako drugi lek był stosowany ETN i u 12 z 14 chorych, u których jako drugi lek podano INF. Nie wykazano istotnej różnicy pomiędzy obiema grupami chorych. Gdy przyczyną niepowodzenia w terapii pierwszym lekiem anti-TNF- α było mierne działanie kliniczne, wówczas tylko w 6 z 29 przypadków drugi lek był nieskuteczny. W przypadku objawów niepożądanych tylko u 1 z 9 chorych przerwano leczenie ponownie z tego samego powodu.

Według danych BSRBR [11] 856 chorych (46% tych, którzy przegrali leczenie anti-TNF- α z powodu nieskuteczności lub objawów niepożądanych) rozpoczęło stosowanie drugiego blokera anti-TNF- α . O ile nie było wyraźnych różnic co do przyczyny przerwania stosowania pierwszego inhibitora TNF- α , o tyle decyzja o zastosowaniu drugiego leku z tej grupy była częściej podejmowana u chorych, u których przyczyną zaprzestania podawania częściej była nieskuteczność (60%) niż objawy niepożądane. Bardzo rzadko decydowano się na zastosowanie kolejnego leku blokującego TNF- α wtedy, gdy przyczyną zaprzestania była infekcja; dotyczyło to jedynie 41 z 284 chorych (14%) z objawami niepożądanymi. Po średniej obserwacji przez 6 miesięcy nadal 73% chorych pobierało drugi lek anti-TNF- α . Interpretacja tego zjawiska powinna być jednak bardzo wyważona. Do kwietnia 2005 r., gdy były zbierane dane dla rejestru brytyjskiego, podawanie rytuksymabu czy abataceptu nie było rozpowszechnione. U chorych, którzy wykazują oporną na leczenie postać choroby, lekarze zwykle są mniej skłonni do ponownego odstawienia leku hamującego TNF- α z powodu nieskuteczności, nawet jeśli odpowiedź na leczenie nie jest satysfakcjonująca, gdy nie są dostępne inne opcje terapeutyczne.

Jeśli przyczyną zmiany na drugi lek było wystąpienie objawu niepożądanego po pierwszym leku anti-TNF- α , wtedy ryzyko odstawienia z tej samej przyczyny było 2-krotnie większe, choć tylko u 26% chorych wystąpiły te same objawy niepożądane co przy pierwszym leku biologicznym. Ryzyko wystąpienia nieskuteczności było natomiast takie samo, jak przy pierwszym leku. Z kolei, gdy przyczyną zaprzestania była nieskuteczność, wtedy ryzyko pojawienia się kolejnej nieskuteczności było 3-krotnie większe przy drugim leku anti-TNF- α , ale ryzyko pojawienia się objawu niepożądanego było takie samo, jak przy pierwszym leku blokującym TNF- α .

Czas podawania drugiego leku blokującego TNF- α wg Gomez-Reino i wsp. był dłuższy wówczas, gdy przyczyną odstawienia pierwszego leku z tej grupy było wystąpienie objawu niepożądanego, w porównaniu z innymi przyczynami zaprzestania, jednak czas stosowania drugiego leku blokującego TNF- α był krótszy niż poda-

wania pierwszego; u 488 chorych leczonych więcej niż jednym lekiem z tej grupy INF był częściej wycofywany niż ETN czy ADA [20].

Jeśli uzasadniona może być zmiana jednego bloke-
ra anty-TNF- α na drugi przy słabej odpowiedzi terapeutycznej czy objawów niepożądanych, to niekorzystny efekt leczenia po dwóch lekach biologicznych, w tym ETN oraz INF lub ADA, ma niewielką szansę powodzenia leczniczego, gdy zostanie zastąpiony innym lekiem z grupy przeciwciał przeciwko TNF- α [21].

Dostępność innych sposobów leczenia sprawia, że częściej dochodzi do wycofywania podawanego leku z powodu częściowej nieskuteczności i zastąpienia go innymi lekami z grupy inhibitorów TNF- α lub niedawno zarejestrowanymi takimi lekami, jak rytuksymab lub abatacept.

Rytuksymab

Rytuksymab (RTX, Mabthera) jest chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym ludzko-mysim; wiąże się swoiście z przeźbłonowym antygenem CD20 występującym na limfocytach pre-B i na dojrzałych limfocytach B. Rytuksymab w skojarzeniu z MTX został zarejestrowany do leczenia dorosłych chorych z aktywnym RZS, u których stwierdzono niewystarczającą odpowiedź na leczenie lub nietolerancję innych LMPCh, w tym jednego lub kilku inhibitorów TNF- α [22]. Lek jest przeciwwskazany w przypadku stwierdzonej nadwrażliwości na białko mysie, dlatego podczas kwalifikowania do leczenia należy dokładnie zebrać anamnezę co do możliwych objawów związanych z podawaniem INF.

U pacjentów z aktywnym RZS, u których nie zaobserwowano zadowalającego rezultatu terapii lekami z grupy anty-TNF- α przez co najmniej 3 mies., określano skuteczność i bezpieczeństwo stosowania RTX z MTX (n=311) w porównaniu ze stosowaniem samego MTX (n=209) [23]. Do badania REFLEX mogli być kwalifikowani chorzy zarówno z nieskutecznością (ponad 90%), jak i pojawieniem się nietolerancji po podaniu jednego z trzech blokerów TNF- α (ok. 10%); w dalszej analizie nie oceniano jednak podgrupy chorych, u których wystąpiły objawy niepożądane w postaci nietolerancji. Rytuksymab był podawany w dwóch wlewach w odstępie 14 dni w jednorazowej dawce 1000 mg, jego zastosowanie było poprzedzone dożylnym podaniem 100 mg metyloprednizolonu. Zdecydowanie więcej chorych leczonych RTX wykazywało po 24 tyg. dobrą lub umiarkowaną odpowiedź wg EULAR w porównaniu z chorymi otrzymującymi jedynie MTX (65 vs 22%, wskaźnik DAS 28 uległ zmniejszeniu odpowiednio o 1,9 vs 0,4, a remisję u 9% chorych stwierdzono wyłącznie po leczeniu RTX).

U 8 chorych leczonych RTX (3%) istniała konieczność

przerwania badania z powodu objawów niepożądanych, w tym u 5 chorych z powodu reakcji okołoinfuzyjnej (reakcji anafilaktycznej, pokrzywki, obrzęku krtani, kaszlu i chrypki), a u chorych leczonych wyłącznie MTX istniała konieczność zakończenia badania u 2 chorych, ale z innych przyczyn niż nietolerancja na infuzję. Objawy niepożądane w ciągu 24 godz. od pierwszej infuzji były częstsze u chorych, u których podawano RTX w porównaniu z *placebo* (23 vs 18%) przy pierwszej infuzji; przy drugiej infuzji były one już rzadsze i częściej pojawiały się w grupie, w której podawano *placebo* (8 vs 11%). Można wiązać to z praktyką, iż przy drugim wlewie zaleca się dodatkowe podanie paracetamolu i pozajelitowe podanie leku antyhistaminowego oraz z mniejszą liczbą obwodowych limfocytów B przy następnym podaniu RTX. U osób, które doświadczały reakcji okołoinfuzyjnej, wlew był przerywany i stosowano leczenie objawowe. Po ustąpieniu objawów wlew mógł być kontynuowany, ale o 2-krotnie wolniejszym przepływie. Analiza zbiorcza kilku badań klinicznych potwierdziła tę tendencję; wśród 1039 chorych, którzy otrzymali przynajmniej jeden wlew RTX, częstość reakcji związanych z infuzją obniżyła się z 26% przy pierwszym wlewie do 10–15% przy kolejnych infuzjach [24].

Przedłużone działanie na limfocyty B może sprzyjać infekcjom; poważne zakażenia obserwowano częściej u chorych leczonych RTX (5,2 na 100 pacjentolat) w porównaniu z osobami, którym podawano *placebo* (3,7 na 100 pacjentolat). W badaniu REFLEX w ciągu 24 tyg. nie wykazano u nikogo z chorych wystąpienia gruźlicy czy zakażeń oportunistycznych [23].

Finkh i wsp. poddali analizie dane pochodzące ze *Swiss Clinical Quality Management RA*, dotyczące wszystkich chorych, u których wykazano niedostateczną odpowiedź na co najmniej jeden inhibitor TNF- α . Otrzymywali oni albo cykl leczenia RTX (n=50) lub inhibitor TNF- α (n=66) [25]. Po 6 mies. od rozpoczęcia terapii średnie zmniejszenie DAS 28 było większe u chorych biorących RTX niż inhibitor TNF- α (-1,61 vs -0,98), przy zbliżonej częstości objawów niepożądanych [25].

W obserwacyjnym badaniu analizowano 50 chorych, wśród których 30 miało niedostateczną odpowiedź po leczeniu anty-TNF- α , a u 20 chorych stwierdzono istotne przeciwwskazania. Były to nawracające zakażenia lub gruźlica w anamnezie, stwardnienie rozsiane w anamnezie chorego lub skłonność rodzinna, niewydolność krążenia, chłoniaki lub zapalenie naczyń w anamnezie [26]. W ciągu 6 mies. brak odpowiedzi wg EULAR stwierdzono u 18% chorych, umiarkowaną odpowiedź u 46%, a dobrą odpowiedź u 36% (w tym u 12% nastąpiła remisja). Średni czas do podania kolejnej dawki RTX wynosił 9 mies. Odnotowano jedną reakcję związaną z infuzją, natomiast u 2 chorych infekcje płucne.

W innym badaniu 46 chorych z niepowodzeniem po zastosowaniu inhibitorów TNF- α , po 3 mies. od podania RTX odpowiedź EULAR wykazano u 73% badanych [27].

Najdłuższe doświadczenie w podawaniu RTX u 37 chorych na RZS obejmuje 7 lat (180 pacjentolat), z których 51% pozostało w programie leczenia (do 5 cykli) [28]. U 22 chorych, którzy byli obserwowani dłużej niż 5 lat, średni czas małej aktywności RZS trwał 15 mies., odstęp między kolejnymi wlewami wynosił 20 mies. U 5 chorych, którzy jednocześnie z RTX mieli początkowo podawany cyklofosfamid, wystąpiły nowotwory (w tym rak piersi u 3 kobiet); jeden przypadek nowotworu stwierdzono u chorego przyjmującego jedynie RTX.

Przy podejmowaniu decyzji odnośnie do wyboru abataceptu (ABA) czy RTX nie ma jednoznacznych opinii czy porównawczych danych klinicznych, na których można byłoby się oprzeć. Rytuksymab był podawany u znacznie większej liczby chorych niż ABA (ponad 700 tys. osób), ponieważ był już uprzednio zarejestrowany do leczenia chłoniaków nieziarniczych. Pozostaje nierozstrzygnięta kwestia długotrwałego utrzymywania się upośledzenia odporności humoralnej. Jeśli odpowiedź na leczenie trwa znacznie dłużej niż 12 mies., to układ immunologiczny odzyskuje pełną sprawność i taka forma leczenia wydaje się bardzo atrakcyjna. U chorych, którzy poprzednio byli leczeni inhibitorami TNF- α , przerwa pomiędzy podaniem kolejnego wlewu RTX była krótsza w porównaniu z chorymi, którzy nigdy poprzednio nie brali inhibitorów TNF- α (32–33 mies. vs 45–48 tyg.) [24].

Istotny problem stanowią chorzy, u których nawrót następuje wtedy, gdy jeszcze nie doszło do znaczącego zwiększenia liczby limfocytów B. Powrót limfocytów B do krążenia (>1% limfocytów) był obserwowany od 6. mies. u 37%, a po 12 mies. u 86% chorych [27]. Nie wykazano jednak korelacji pomiędzy ponownym rzutem RZS a normalizacją liczby limfocytów B. Stałe utrzymywanie się śladowej liczby limfocytów B, czego wykładnikiem może być małe stężenie immunoglobulin, przede wszystkim IgM, może sprzyjać u takich chorych tendencji do zwiększonej skłonności do zakażeń. Jeśli nie ma dostępnego innego sposobu leczenia, kolejne podawanie RTX może być usprawiedliwione, choć należy takich chorych ściśle monitorować lub rozważać inne rodzaje terapii.

Jak dotąd, w analizie przeglądu piśmiennictwa dotyczącego 12 prób z randomizacją (3 z RTX, 5 z ABA i 4 z zastosowaniem anakinry) wykazano zwiększone ryzyko poważnych zakażeń w porównaniu z *placebo* jedynie w odniesieniu do dużych dawek anakinry [29]. Przegląd ten dotyczył chorych leczonych RTX (745), ABA (1960), anakinrą (2062) i przyjmujących *placebo* (2112). Z kolei występowanie zmniejszonych stężeń IgM i IgG nasila się wraz z kolejnym wlewem, ale nie stwierdzo-

no istotnej różnicy w występowaniu poważnych zakażeń u tych chorych w porównaniu z chorymi, u których zanotowano prawidłowe wartości immunoglobulin (5,6, 4,8 oraz 4,7 incydentów na 100 pacjentolat w grupie z obniżonym stężeniem IgM, IgG i prawidłowymi wartościami obu immunoglobulin) [24].

Innym zagadnieniem jest skuteczność RTX u chorych z nieobecny w surowicy czynnikiem reumatoidalnym. W badaniu REFLEX wykazano znaczącą różnicę w skuteczności leczenia RTX chorych z nieobecny w surowicy czynnikiem reumatoidalnym w porównaniu z *placebo*, choć lepszy rezultat uzyskano u chorych z obecnym czynnikiem reumatoidalnym leczonych RTX [23]. W badaniu DANCER nie wykazano natomiast istotnej różnicy pod względem odpowiedzi ACR 20 u chorych seronegatywnych przyjmujących *placebo* lub RTX (52 vs 48% w grupie leczonej RTX) [30].

Dotychczas niewiele wiadomo o skutkach ponownego leczenia inhibitorami TNF- α u chorych, u których nie wykazano odpowiedzi po RTX. U 46 chorych z powodu nieskuteczności po inhibitorach TNF- α podano pierwszy cykl leczenia RTX; gdy wskaźnik DAS 28 nie uległ po 3 mies. zmniejszeniu o co najmniej 1,2, zdecydowano, aby u 8 chorych ponownie rozpocząć terapię poprzednio nieskutecznym inhibitorem TNF- α [27]. Odpowiedź kliniczną zaobserwowano u 75% chorych. Pod względem bezpieczeństwa nie wykazano znacząco większej częstości poważnych zakażeń u 78 chorych pobierających inhibitory TNF- α i poprzednio leczonych RTX; była ona zbliżona do częstości w okresie przed zastosowaniem inhibitorów TNF- α (7,62 vs 5,23 na 100 pacjentolat) [31].

Zastosowanie RTX można rozważać w niektórych sytuacjach klinicznych, w których istnieją przeciwwskazania do podawania inhibitorów TNF- α . Odnosi się to przede wszystkim do chorych na RZS, u których w wywiadzie stwierdzono chłoniaka komórek B, ponieważ w tej chorobie RTX jest już zarejestrowany. Można spodziewać się również korzystnych rezultatów leczenia przy współistnieniu zapalenia naczyń czy innej choroby tkanki łącznej. Istnieją również zachęcające pojedyncze doniesienia sugerujące skuteczność RTX w chorobach demielinizacyjnych [32]. Obecnie nie ma też danych sugerujących zwiększone ryzyko zakażeń oportunistycznych zarówno w populacji chorych z chłoniakami, jak i z RZS.

Abatacept

Abatacept (ABA) jest lekiem z grupy selektywnych modulatorów kostymulacji limfocytów T. Składa się z zewnątrzkomórkowej domeny ludzkiej cząsteczki CTLA4 i zmodyfikowanego fragmentu Fc ludzkiej immunoglobuliny G1 (IgG1) w celu zapobieżenia wiązaniu do-

pełniacza. Lek swoiście hamuje aktywację limfocytów T; hamuje więc pośrednio kaskadę odpowiedzi immunologicznej. Jest podawany co 4 tyg. w 30-minutowej infuzji; nie ma konieczności uprzedniej premedykacji bądź, w odróżnieniu od rytuksymabu, dożylnego podawania kortykosteroidów [33].

W Europie lek jest zarejestrowany w skojarzonym leczeniu z MTX, jeśli wystąpiła niewystarczająca odpowiedź lub nietolerancja innych leków modyfikujących, w tym co najmniej jednego inhibitora TNF- α u chorych na RZS; w Stanach Zjednoczonych nie jest konieczne wykazanie niewystarczającej odpowiedzi na inhibitory TNF- α , jest także możliwość podawania ABA w monoterapii lub z innymi lekami modyfikującymi.

Należy pamiętać, aby jednocześnie nie podawać ABA z inhibitorami TNF- α , ponieważ zwiększa to 4-krotnie ryzyko zakażeń.

W trwającym 6 mies. badaniu ATTAIN randomizacji i leczeniu poddano chorych z aktywnym RZS, u których wykazano nieskuteczność co najmniej 3-miesięcznego leczenia INF lub ETN i taka była główna przyczyna zaprzestania podawania tych leków [34]. Chorzy, którzy mieli odstawiane leczenie ETN na co najmniej 28 dni, stanowili od 32 do 40% osób stosujących *placebo* lub ABA; w przypadku INF, który musiał być odstawiony co najmniej 60 dni przed randomizacją, był on podawany u 68 i 60% odpowiednio w grupie *placebo* i ABA. Chorzy otrzymywali ABA w dawce 10 mg/kg m.c. we wlewie co 4 tyg.

Badanie po 24 tyg. ukończyło 322 z 391 chorych, w tym 86,4% w grupie leczonej ABA i 74,4% biorących *placebo* i LMPCh; brak skuteczności był głównym powodem zaprzestania leczenia w obu grupach (odpowiednio 5,4 oraz 20,3%). Badanie, w aspekcie odpowiedzi ACR 20 i poprawie sprawności fizycznej (o 0,3 we wskaźniku HAQ), wyraźnie udowodniło istotne statystycznie różnice w grupie biorącej ABA w porównaniu z *placebo*. Istotnie większa była również częstość remisji (DAS 28 <2,6; odpowiednio 10 vs 0,8%) i małej aktywności choroby (DAS 28 <3,2; 17,1 vs 3,1%). Pod względem bezpieczeństwa częstość ostrych reakcji po infuzji była większa w grupie leczonej ABA niż w grupie przyjmującej *placebo* (5 vs 3%); miały one charakter łagodny lub umiarkowany, najczęściej w postaci zawrotów i bólów głowy. Częstość poważnych infekcji była podobna w obu grupach i nie odnotowano żadnych zakażeń oportunistycznych. W przedłużonej 2-letniej obserwacji efekt leczenia ABA był jeszcze silniej wyrażony, ponieważ liczba chorych, którzy osiągnęli remisję lub małą aktywność choroby, uległa zwiększeniu do 20,3 oraz 32% [35].

W badaniu 652 chorych (u 433 podawano ABA z MTX, natomiast u 219 tylko MTX) więcej ostrych reakcji w czasie infuzji stwierdzano przy stosowaniu ABA niż *placebo* (8,8 vs 4,1%) [36]. Podobna tendencja występowa-

ła w przypadku zdarzeń okołoinfuzyjnych (24,5 vs 16,9%), a u 2 chorych zaprzestano dalszego leczenia ABA z uwagi na reakcję nadwrażliwości po drugim wlewie oraz znacznej hipotensji po czwartym wlewie.

W innej próbie klinicznej brało udział 431 chorych na RZS, uprzednio leczonych bez poprawy MTX. Byli on randomizowani do trzech grup – otrzymujących dodatkowo ABA, INF w stałej dawce 3 mg/kg m.c. co 8 tyg. lub *placebo* [37]. Monoterapia MTX w grupie *placebo* trwała 6 mies., później chorym podawano ABA. Po 6 mies. obserwowano większą poprawę ($p < 0,001$) we wskaźniku DAS 28 i poprawie ACR po podaniu ABA lub INF niż *placebo*; wyniki w grupach stosujących ABA i INF były podobne. Dalszą poprawę obserwowano po 12 mies. stosowania ABA. Częstość ostrych objawów w trakcie infuzji była większa w grupie leczonej INF niż ABA (24,8 vs 7,1%). Skuteczność obu badanych leków była mniej więcej taka sama po 6 mies., natomiast w ciągu kolejnych 6 mies. skuteczność ABA ulegała zwiększeniu, natomiast INF pozostawała niezmienną. Roczna obserwacja w tym badaniu sugerowała, iż ABA miał korzystniejszy profil korzyść/ryzyko w porównaniu z INF. Nie odnotowano również żadnych oportunistycznych zakażeń w grupie leczonej ABA w porównaniu z wystąpieniem 5 zakażeń (w tym 2 gruźliczych) w grupie leczonej INF.

W mysim modelu przewlekłej infekcji *Mycobacterium tuberculosis* ABA nie miał niekorzystnego wpływu na zaburzenie odporności, w przeciwieństwie do INF, który znacznie pogarszał śmiertelność wśród zakażonych myszy [38]. W dotychczas przeprowadzonych kontrolowanych badaniach klinicznych nie stwierdzono zwiększenia częstości występowania gruźlicy w trakcie stosowania ABA w porównaniu z *placebo*.

Piśmiennictwo

1. Keystone EC, Schiff MH, Kremer JM, et al. Once-weekly administration of 50 mg etanercept in patients with active rheumatoid arthritis: results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 353-363.
2. Weinblatt ME, Kremer JM, Bankhurst AD, et al. A trial of etanercept, a recombinant tumour necrosis factor receptor: Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J Med* 1999; 340: 253-259.
3. Lipsky PE, van der Heijde DM, St. Clair EW, et al. Infliximab and methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. Anti-Tumor Necrosis Factor Trial in Rheumatoid Arthritis with Concomitant Therapy Study Group. *N Engl J Med* 2000; 343: 1594-1602.
4. Weinblatt ME, Keystone EC, Furst DE, et al. Adalimumab, a fully human anti-tumor necrosis factor alpha monoclonal antibody, for the treatment of rheumatoid arthritis in patients taking concomitant methotrexate: the ARMADA trial. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 35-45.
5. van Gestel AM, Prevoo ML, van 't Hof MA, et al. Development and validation of the European League Against Rheumatism

- response criteria for rheumatoid arthritis. Comparison with the preliminary American College of Rheumatology and the World Health Organization/International League Against Rheumatism Criteria. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 34-40.
6. Finckh A, Simard JF, Gabay C, Guerne PA, SCQM physicians. Evidence for differential acquired drug resistance to anti-tumour necrosis factor agents in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 746-752.
 7. Wolbink GJ, Vis M, Lems W, et al. Development of anti-infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 711-715.
 8. Bartelds GM, Wijbrandts CA, Nurmohamed MT, et al. Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 921-926.
 9. van Vollenhoven RF. Switching between anti-tumour necrosis factors: trying to get handle on a complex issue. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 849-851.
 10. Buch MH, Bingham SJ, Bryer D, Emery P. Long-term infliximab treatment in rheumatoid arthritis: subsequent outcome of initial responders. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1153-1156.
 11. Hyrich KL, Lunt M, Watson KD, et al. Outcomes after switching from one anti-tumor necrosis factor alpha agent to a second anti-tumor necrosis factor alpha agent in patients with rheumatoid arthritis: results from a large UK national cohort study. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 13-20.
 12. Kristensen LE, Saxne T, Nilsson JA, Geborek P. Impact of concomitant DMARD therapy on adherence to treatment with etanercept and infliximab in rheumatoid arthritis. Results from six-year observational study in southern Sweden. *Arthritis Res Therapy* 2006, 8: R174.
 13. Hyrich KL, Watson KD, Silman AJ, et al. Predictors of response to anti-TNF-alpha therapy among patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Rheumatology* 2006; 45: 1558-1565.
 14. Hyrich KL, Symmons DP, Watson KD, Silman AJ; British Society for Rheumatology Biologics Register. Comparison of the response to infliximab or etanercept monotherapy with the response to cotherapy with methotrexate or another disease-modifying antirheumatic drug in patients with rheumatoid arthritis: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1786-1794.
 15. Fernández-Nebro A, Irigoyen MV, Ureña I, et al. Effectiveness, predictive response factors, and safety of anti-tumour necrosis factor (TNF) therapies in anti-TNF na? ve rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2007; 34: 2234-2242.
 16. Ariza-Ariza R, Navarro-Sarabia F, Hernández-Cruz B, et al. Dose escalation of the anti-TNF-alpha agents in patients with rheumatoid arthritis. A systematic review. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 529-532.
 17. Haraoui B, Cameron L, Ouellet M, White B. Anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis who require higher doses of infliximab to achieve or maintain a clinical response. *J Rheumatol* 2006; 33: 31-36.
 18. Sidiropoulos PI, Boumpas DT. Differential drug resistance to anti-tumour necrosis factor agents in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 701-703
 19. Cohen G, Courvoisier N, Cohen JD, et al. The efficiency of switching from infliximab to etanercept and vice-versa in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 795-800.
 20. Gomez-Reino JJ, Carmona L and the BIOBADASER Group. Switching TNF antagonists in patients with chronic arthritis: an observational study of 448 patients over a four-year period. *Arthritis Res Therapy* 2006, 8: R29.
 21. Solau-Gervais E, Laxenaire N, Cortet B, et al. Lack of efficacy of a third tumour necrosis factor alpha antagonist after failure of a soluble receptor and a monoclonal antibody. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 1121-1124.
 22. Wiland P. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych przeciw limfocytom B w terapii reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2006; 44: 162-168.
 23. Cohen SB, Emery P, Greenwald MW, et al. Rituximab for rheumatoid arthritis refractory to anti-tumor necrosis factor therapy: Results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial evaluating primary efficacy and safety at twenty-four weeks. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2793-2806.
 24. Keystone E, Fleischmann R, Emery P, et al. Safety and efficacy of additional courses of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis: an open-label extension analysis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 3896-3908.
 25. Finckh A, Ciurea A, Brulhart L, et al. B cell depletion may be more effective than switching to an alternative anti-tumour necrosis factor agent In rheumatoid arthritis patients with inadequate response to anti-tumour necrosis factor agents. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 1417-1423.
 26. Assou N, Gossec L, Dieudé P, et al. Rituximab therapy in rheumatoid arthritis in daily practice. *J Rheumatol* 2008; 35: 31-34.
 27. Bokarewa M, Lindholm C, Zendjanchi K, et al. Efficacy of anti-CD20 treatment In patients with rheumatoid arthritis resistant to a combination of methotrexate/anti-TNF therapy. *Scand J Immunol* 2007; 66: 476-483.
 28. Popa C, Leandro MJ, Cambridge G, Edwards JC. Repeated B lymphocyte depletion with rituximab in rheumatoid arthritis over 7 yrs. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 626-630.
 29. Salliot C, Dougados M, Gosser L. Risk of serious infections during rituximab, abatacept and anakinra therapies for rheumatoid arthritis: meta-analyses of randomized placebo-controlled trials. *Ann Rheum Dis* 2008; Jan 18 (Epub ahead of print).
 30. Emery P, Fleischmann R, Filipowicz-Sosnowska A, et al. The efficacy and safety of rituximab in patients with active rheumatoid arthritis despite methotrexate treatment: results of a phase IIB randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 1390-1400.
 31. Breedveld FC, Kim D, Agarwal S, et al. Safety of TNF inhibitors in rheumatoid arthritis patients previously treated with rituximab [abstract] *Ann Rheum Dis* 2006; 65 [Suppl 1]: THU0206
 32. Stuve O, Cepak S, Elias B, et al. Clinical stabilization and effective B-lymphocyte depletion in the cerebrospinal fluid and peripheral blood of a patient with fulminant relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2005; 62: 1620-1623.
 33. Wiland P, Kowalewska B, Roszkowska E, Szechiński J. Rola abataceptu w leczeniu reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2007; 45: 205-214.

34. Genovese MC, Becker JC, Schiff M, et al. Abatacept for rheumatoid arthritis refractory to tumor necrosis factor? inhibition. *N Engl J Med* 2005; 353: 1114-1123.
35. Genovese MC, Schiff M, Luggen M, et al. Efficacy and safety of the selective co-stimulation modulator abatacept following 2 years of treatment in patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to anti-TNF therapy. *Ann Rheum Dis* online 18 Oct 2007; doi:10.1136/ard.2007.074773
36. Kremer JM, Genant HK, Moreland LW, et al. Effects of abatacept in patients with methotrexate-resistant active rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006; 144: 865-876.
37. Schiff M, Keiserman M, Codding C, et al. Efficacy and safety of abatacept or infliximab versus *placebo* in ATTEST: a phase III, multicenter, randomized, double-blind, *placebo*-controlled study in patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to methotrexate. *Ann Rheum Dis* online 29 Nov 07; doi:10.1136/ard.2007.080002
38. Haggerty HG, Bigbee C, Gonchoroff DG, et al. Abatacept treatment does not exacerbate chronic *Mycobacterium tuberculosis* infection in mice. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2557-2565.