



UNIVERSIDAD DE MURCIA

**DEPARTAMENTO: OFTALMOLOGÍA, OPTOMETRÍA,
OTORRINOLARINGOLOGÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA**

**Caracterización de las Bases Genético-Moleculares y
Ambientales Relacionadas con la Variabilidad
Interindividual en la Respuesta a ANTI-TNF en
Pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal**

D. Diana Lacruz Guzmán
2012



D. VICENTE VICENTE ORTEGA, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD DEL ÁREA DE OFTALMOLOGIA EN EL DEPARTAMENTO DE OFTALMOLOGIA, OPTOMETRÍA, OTORRINOLARINGOLOGÍA Y ANATOMIA PATOLÓGICA,

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Caracterización de las bases genético-moleculares y ambientales relacionadas con la variabilidad interindividual en la respuesta a anti-TNF en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal", realizada por D. Diana Lacruz Guzmán, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 3 de septiembre de 2012

Fdo. VICENTE VICENTE ORTEGA

D. PABLO CONESA ZAMORA, DOCTOR EN FARMACIA, ESPECIALISTA EN ANÁLISIS CLÍNICOS Y RESPONSABLE DEL GRUPO DE PATOLOGÍA MOLECULAR Y FARMACOGENÉTICA DEL COMPLEJO HOSPITALARIO DE CARTAGENA,

AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada “Caracterización de las bases genético-moleculares y ambientales relacionadas con la variabilidad interindividual en la respuesta a anti-TNF en pacientes con Enfermedad Inflamatoria Intestinal”, que ha sido realizada por D. Diana Lacruz Guzmán, bajo mi inmediata dirección y supervisión, en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital General Universitario Santa Lucía, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Cartagena, 3 de septiembre de 2012

Fdo. Pablo Conesa Zamora

A mi familia...

Por aguantar mis cambios de humor durante todo el periodo del doctorado, sobre todo,

A mis padres por apoyarme en todas mis decisiones,

A mi hermano porque aunque no nos veamos mucho, sé que siempre está ahí y puedo contar con él para lo que sea,

A mis abuelos porque sé que siempre piensan en su nieta que está lejos y rezan por mí para que todo me vaya bien,

A mi ahijada porque aunque ahora sea muy pequeñita la quiero muchísimo,

A todos vosotros... Espero que estéis orgullosos de mí.

INDICE

INDICE

1. INTRODUCCION
 - 1.1 DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL
 - 1.2 EPIDEMIOLOGIA
 - 1.2.1 ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 1.3 DIAGNÓSTICO
 - 1.3.1 ENFERMEDAD DE CROHN
 - 1.3.2 COLITIS ULCEROSA
 - 1.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS
 - 1.4.1 ENFERMEDAD DE CROHN
 - 1.4.2 COLITIS ULCEROSA
 - 1.4.3 MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL
 - 1.5 INDICES PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD
 - 1.5.1 ENFERMEDAD DE CROHN
 - 1.5.2 COLITIS ULCEROSA
 - 1.6 ETIOPATOGENIA
 - 1.7 SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA
 - 1.8 TRATAMIENTO
 - 1.8.1 AMINOSALICILATOS Y DERIVADOS
 - 1.8.2 GLUCOCORTICOIDES
 - 1.8.3 ANTIBIÓTICOS
 - 1.8.4 INMUNOSUPRESORES
 - 1.8.5 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO
 - 1.8.6 TERAPIAS BIOLÓGICAS Y FÁRMACOS ANTI TNF
 - 1.9 ATENCION FARMACÉUTICA Y SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO
 - 1.10 FARMACOGENÉTICA
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS
3. MATERIAL Y MÉTODOS
 - 3.1 POBLACIÓN A ESTUDIO
 - 3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO
 - 3.3 ATENCIÓN FARMACÉUTICA
 - 3.3.1 SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO DE PACIENTES CON ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL
 - 3.3.2 EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE VIDA
 - 3.3.3 EVALUACIÓN DE LA ADHERENCIA AL TRATAMIENTO
 - 3.3.4 EVALUACIÓN DE LA SATISFACCIÓN CON LA MEDICACIÓN

- 3.4 EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB
- 3.5 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE DISTINTAS INTERLEUQUINAS Y DEL TNF α EN SUERO
- 3.6 ESTUDIOS GENÉTICOS DE SUSCEPTIBILIDAD Y DE RESPUESTA AL TRATAMIENTO
 - 3.6.1 MUESTRAS
 - 3.6.2 EXTRACCIÓN DE ADN Y CUANTIFICACIÓN
 - 3.6.3 GENOTIPADO
 - 3.6.3.1 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA POR RFLP
 - 3.6.3.2 DISCRIMINACIÓN ALÉLICA POR SONDAS FLUORESCENTES KASPAR
 - 3.6.3.3 SECUENCIACIÓN
- 3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO
- 4 RESULTADOS
 - 4.1 ATENCIÓN FARMACÉUTICA
 - 4.2 CONCENTRACIÓN DE INTERLEUQUINAS Y DE TNF α EN SUERO
 - 4.2.1 DIFERENCIAS EN LA CONCENTRACIÓN DE CITOCINAS EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 4.2.2 ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE IL1B EN SUERO Y EL GENOTIPO IL1B
 - 4.2.3 ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE TNF α EN SUERO Y LOS GENOTIPOS DEL TNF
 - 4.3 ESTUDIO GENÉTICO DE SUSCEPTIBILIDAD
 - 4.3.1 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs 396991 EN EL GEN FcGIIIA EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 4.3.2 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs1143634 EN EL GEN IL1B EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 4.3.3 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs767455 EN EL GEN TNFR1A EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 4.3.4 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs20575 EN EL GEN TRAILR1 EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA
 - 4.4 ESTUDIO FARMACOGENETICO
 - 4.4.1 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUQUINAS EN SUERO Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB
 - 4.4.2 INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS GENOTIPOS Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB
 - 4.4.2.1 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO V158F FcGRIIIA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB
 - 4.4.2.2 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs1143634 EN EL GEN DE LA IL1B EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

4.4.2.3 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs767455 EN EL GEN DEL TNFR1A EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

4.4.2.4 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs20575 EN EL GEN DE TRAILR1 EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

4.4.2.5 INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS POLIMORFISMOS DEL PROMOTOR DEL GEN TNF EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

5 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

5.1 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

5.2 CONCLUSIONES

ABREVIATURAS

EII: enfermedad inflamatoria intestinal

CU: colitis ulcerosa

EC: enfermedad de crohn

VSG: velocidad de sedimentación globular

PCR: proteína C reactiva

pANCA: anticuerpo citoplásmico perinuclear antineutrófilo

pASCA: anticuerpo anti *Saccharomyces cerevisiae*

SII: síndrome del intestino irritable

CDAI: Crohn Disease Activity Index

IBDQ: Inflammatory Bowel disease Questionnaire

PRR: Receptores de reconocimiento patrón

NF- κ B: factor nuclear κ B

TNF α : factor de necrosis tumoral α

NK: natural killer

IFN γ : interferon γ

TL1A: tumor necrosis factor –like ligand

TNFR: receptor del factor de necrosis tumoral

PAF: factor activador de plaquetas

sTNF: TNF soluble

tmTNF: TNF transmembrana

TRAIL: ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral

TLR: principal receptor para los lipopolisacáridos

5-ASA: ácido 5-amino salicílico

SNPs: polimorfismos de un solo nucleótido

SFT: seguimiento farmacoterapéutico

SMAQ: simplified medication adherence questionnaire

TSQM: cuestionario de satisfacción con la medicación

CCVEII-9: cuestionario de calidad de vida en EII de 9 ítems

RCP: reacción en cadena de la polimerasa

FRET: fluorescence resonance energy transfer

SNP: polimorfismo de un solo nucleótido

AR: artritis reumatoide

TRAILR: receptor del ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral.

MCP-1: proteína 1 quimioatrayente de monocitos.

Ig: inmunoglobulina

IL: interleuquina

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

La Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) es una inflamación idiopática y crónica del intestino. Sus dos tipos principales son la Colitis Ulcerosa (CU) y la Enfermedad de Crohn (EC)(1).

COLITIS ULCEROSA

La CU es una enfermedad inflamatoria del colon y del recto, caracterizada por inflamación y ulceración de la parte interior del colon. Presenta un carácter crónico y se puede mantener en remisión por largos períodos, es decir, la enfermedad puede cursar con períodos de actividad (brotes) e inactividad (2).

ENFERMEDAD DE CROHN

La EC es una enfermedad crónica de origen desconocido que parece tener un componente autoinmune. Frecuentemente la parte afectada es el íleon o parte final del intestino aunque pueden afectarse otras zonas del tracto digestivo (2).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

1.2.1 ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

La incidencia de la EII varía entre las diferentes zonas geográficas. En Estados Unidos la incidencia de CU y de EC es de 11 por 100.000 y 7 por 100.000 respectivamente (1). La incidencia en España es de 7 por 100.000 para CU y 5,5 por 100.000 en el caso de EC (3).

Tabla 1. Epidemiología de enfermedad inflamatoria intestinal		
	Colitis ulcerosa	Enfermedad de crohn
Incidencia/España	8/100.000	5.5/100.000
Prevalencia	70-150/100.000	60-120/100.000
Distribución geográfica	Mayor incidencia en países desarrollados e industrializados y en áreas urbanas	
Edad de comienzo	15-30 años y 50-70 años	
Genética	Gemelos monocigotos: 20% concordancia Gemelos dicigotos: 0% de concordancia	Gemelos monocigotos: 67% de concordancia Gemelos dicigotos: 8% de concordancia
Proporción hombre:mujer	1:1	1,1 -1.8:1
Tabaquismo	Puede prevenir	Puede causar
Consumo de anticonceptivos	No aumenta el riesgo	Riesgo relativo 1,9
Apendicectomía	Protectora	No protege

La edad más frecuente para el comienzo de la enfermedad está situada entre los 15 y 30 años pero se produce un segundo pico entre los 60 y 80 años. La proporción entre varones y

mujeres es de 1:1 para CU y de 1,1 a 1,8:1 para EC. Las zonas urbanas tienen una prevalencia de la enfermedad más alta que las rurales.

El tabaquismo también está relacionado con la EII, se asocia con un incremento del riesgo del doble para la EC.

También hay una relación genética en la incidencia de la EII. Si un paciente la padece, el riesgo a lo largo de la vida que tienen los familiares de primer grado de verse afectados es del 10%. Si los padres padecen una EII cada hijo tiene una probabilidad de 36 % de padecerla también. En el caso de los gemelos el 67% de los monocigotos eran concordantes para EC y un 20% para CU, mientras que en los dicigotos el 20% lo eran para EC y ninguno para CU. También hay concordancia entre las localizaciones anatómicas y los tipos clínicos de EC entre los miembros de una misma familia.

Hay otras pruebas de predisposición genética a padecer una EII, ya que existe una relación con ciertos síndromes genéticos; EC y CU se asocian con el Síndrome de Turner y otras inmunodeficiencias como la hipogammaglobulinemia, el déficit selectivo de IgA y el angioedema hereditario muestran también relación con la EII (1).

1.3 DIAGNÓSTICO

1.3.1 ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

En CU las pruebas diagnósticas de mayor interés son examen de heces (ausencia de bacterias, huevos y toxinas de *Clostridium difficile*), hemograma con trombocitosis y anemia, aumento de velocidad de sedimentación globular (VSG) y de la proteína C reactiva (PCR). La sigmoidoscopia o colonoscopia con biopsia de mucosa es una de las pruebas diagnósticas de elección.

En el caso de EC como datos analíticos más relevantes podemos encontrar aumento de VSG y PCR y en los casos más graves leucocitosis, anemia (de inflamación crónica o macrocítica por malabsorción de vitamina B12) e hipoalbuminemia. La prueba diagnóstica de elección es el tránsito intestinal ya que la mayoría de los pacientes presentan afectación del intestino delgado. La endoscopia no es de tanta utilidad como en CU ya que en ocasiones la mucosa presenta un aspecto normal y no hay buena correlación clínico-endoscópica.

Otra prueba diagnóstica interesante sería la determinación serológica ya que en los pacientes con EII se pueden detectar dos anticuerpos: el anticuerpo citoplásmico perinuclear antineutrófilo (pANCA) y los anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Del 60 al 70 % de los pacientes con CU son pANCA positivos, frente al 5-10 % de los pacientes con EC. Los anticuerpos ASCA los presentan mayoritariamente los pacientes con EC (60-70 %). La determinación combinada de pANCA y ASCA podría ser una estrategia diagnóstica útil en la EII, aunque su uso se reserva actualmente para la investigación. (1,3)

En ausencia de una prueba diagnóstica definitiva es necesario combinar los datos clínicos, de laboratorio, histopatológicos, radiológicos y terapéuticos. (tabla 2)

Tabla 2. Características diferenciales clínicas, endoscópicas y radiológicas		
	COLITIS ULCEROSA	ENFERMEDAD DE CROHN
CLINICAS		
Sangre macroscópica en heces	si	ocasional
moco	si	ocasional
Síntomas generales	ocasionales	frecuentes
dolor	ocasional	frecuente
Masa abdominal	rara	si
Dolor perineal importante	no	frecuente
fístulas	no	si
Obstrucción del intestino delgado	no	frecuente
Obstrucción del colon	rara	frecuente
Respuesta a los antibióticos	no	si
Recaída después de la cirugía	no	si
ANCA positivos	frecuentes	raros
ASCA positivos	frecuentes	raros
ENDOSCÓPICAS		
Recto respetado	raramente	frecuente
Enfermedad continua	si	ocasional
Patrón "empedrado"	no	si
Granulomas en la biopsia	no	ocasionales
RADIOLÓGICAS		
Intestino delgado claramente anormal	no	si
Ileon terminal anormal	ocasionalmente	si
Colitis segmentaria	no	si
Colitis asimétrica	no	si
Estenosis	ocasional	frecuente

Las dos enfermedades (CU y EC) tienen características similares a otras muchas por ello es de mucha utilidad el diagnóstico diferencial. Éste incluye todas las causas de diarrea, rectorragia, dolor abdominal, dispepsia, fiebre de origen desconocido y pérdida de peso como es el caso del Síndrome de intestino irritable (SII), hemorroides internas e infecciones y parasitosis intestinales.

Actualmente se acepta la clasificación de Montreal para la EII, propuesta por la organización mundial de gastroenterología y que clasifica a los pacientes en función de la edad de comienzo, localización de la enfermedad y comportamiento de esta (4).

TABLA 3. Clasificación de “Montreal” de la COLITIS ULCEROSA
Extensión (E)
E1) Proctitis ulcerosa: afección limitada al recto (el límite superior de la inflamación no supera la unión rectosigmoidea)
E2) Colitis izquierda (o colitis distal): afección limitada al colon izquierdo (el límite superior de la inflamación no supera el ángulo esplénico)
E3) Colitis extensa (pancolitis): afección que se extiende más allá del ángulo esplénico.
Gravedad (S)
S0) Colitis en remisión (Colitis silente): no hay síntomas de la enfermedad.
S1) Colitis leve: cuatro o menos deposiciones al día con sangre, sin fiebre, leucocitosis, taquicardia, anemia ni aumento de la VSG (ver Índice de Truelove-Witts, Tabla II).
S2) Colitis moderada: criterios intermedios entre leve y grave, siempre con signos de afección sistémica leves (ver Índice de Truelove-Witts, Tabla II).
S3) Colitis grave: seis o más deposiciones diarias con sangre, fiebre, leucocitosis, taquicardia, anemia y aumento de la VSG, a menudo con signos de afección (“toxicidad”) sistémica grave.

TABLA 4. Clasificación de Montreal de la ENFERMEDAD DE CROHN	
Edad de diagnóstico (A)	
A1	16 años o menos
A2	17-40 años
A3	>40 años
Localización (L)	
L1	Ileon terminal
L2	Colon
L3	ileocólica
L4	Tracto digestivo alto
Patrón clínico (B)	
B1	No estenosante, no fistulizante, o inflamatorio
B2	Estenosante
B3	fistulizante
p	Se añade p a B1-B3 cuando existe enfermedad perianal asociada

Entre el 10-15% de los casos de enfermedad inflamatoria intestinal es imposible distinguir entre CU y EC, en estos casos se clasifica como colitis indeterminada. (1,3)

1.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

1.4.1 ENFERMEDAD DE CROHN

La EC frecuentemente se presenta como una inflamación aguda o crónica del intestino. La evolución del proceso inflamatorio y la localización de la enfermedad influyen en las manifestaciones clínicas.

Localización ileocólica: dolor en el cuadrante inferior derecho que puede parecer una apendicitis aguda. Se puede palpar en ocasiones una masa inflamatoria en el cuadrante inferior derecho del abdomen. La inflamación grave de la región ileocecal puede provocar un adelgazamiento localizado de la pared con microperforaciones y formación de fistulas con asa adyacentes, piel o la vejiga urinaria. Las fistulas intervesicales cursan con disuria o infecciones vesicales recurrentes. La obstrucción intestinal puede desencadenar una estenosis fibrótica que hace que disminuya la diarrea llegando a producir una obstrucción intestinal crónica y estreñimiento.

Localización ileoyeyunal: relacionada con pérdida de la superficie digestiva y absorbente que provoca malabsorción y esteatorrea. En la enfermedad activa es característica la diarrea.

Localización en colon y región perianal: suelen presentar febrícula, malestar general, dolor abdominal cólico y algunas veces hematoquezia. También se pueden producir estenosis fibróticas con síntomas de obstrucción intestinal. La enfermedad perianal se manifiesta por incontenencia, hemorroides grandes, estenosis anales, fistulas anorrectales y abscesos perirectales.

Localización gastroduodenal: los pacientes suelen presentar síntomas de gastritis negativa para *Helicobacter pylori* (1,3).

1.4.2 COLITIS ULCEROSA

Los principales síntomas de la enfermedad son diarrea, rectorragia, tenesmo, secreción de moco y dolor abdominal de tipo cólico. La intensidad de los síntomas depende de la extensión de la enfermedad.

Los pacientes con proctitis o enfermedad distal suelen arrojar sangre roja no modificada o moco sanguinolento, tenesmo y tránsito intestinal enlentecido lo que puede justificar el estreñimiento que se produce en este tipo de pacientes. Cuando la enfermedad se extiende más allá del recto puede producirse una diarrea sanguinolenta y la motilidad del colon suele estar alterada por la inflamación con tránsito rápido. Los retortijones y el dolor abdominal intenso se pueden asociar con crisis agudas de la enfermedad.

Otros síntomas de la enfermedad son anorexia, náuseas, vómitos, fiebre y pérdida de peso. (1)

La clasificación de la actividad de la enfermedad se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Colitis ulcerosa: presentación de la enfermedad

	Leve	Moderada	Grave
Deposiciones	<4/día	4-6/día	>6/día
Sangre en heces	Escasa	Moderada	Intensa
Fiebre	No	Media <37.5°C	Media >37.5°C
Taquicardia	No	<90 de pulso medio	>90 de pulso medio
Anemia	Leve	>75%	≤75%
Velocidad de sedimentación	<30 mm		>30 mm
Aspecto endoscópico	Eritema, disminución del patrón vascular, granulación fina	Eritema intenso, granulación gruesa, ausencia de marcas vasculares, hemorragia de contacto, ausencia de ulceraciones	Hemorragias espontáneas, ulceraciones

1.4.3 MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES

La mayoría de los pacientes con EII presentan al menos una de estas manifestaciones. Pueden ser:

- Dermatológicas: eritema nodoso, pioderma gangrenosa, psoriasis
- Reumatológicas: artritis, espondilitis anquilosante, sacroileitis
- Oculares: conjuntivitis, uveítis-iritis anterior y epiescleritis
- Hepatobiliares: esteatosis hepática, colangitis
- Urológicas: cálculos, obstrucción uretral y fístulas (1)

1.5 INDICES PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD

1.5.1 Enfermedad de crohn

El índice de actividad de EC más utilizado es el Crohn Disease Activity Index (CDAI).

La puntuación tiene un rango aproximado entre 0-600. Se considera remisión un CDAI <150 y enfermedad severa >450 (5).

Figura 1. Cálculo de la puntuación CDAI

CALCULO DEL CDAI	Días / Semana	Suma	Factor	Subtotal
Número de deposiciones líquidas o blandas			x 2	
Dolor abdominal (0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado; 3 = severo)			x 5	
Bienestar general (0 = en general bueno; 1 = leve compromiso; 2 = malo; 3 = muy malo; 4 = muy terrible)			x 7	
Contar entre las 6 categorías listadas, las presentes actualmente				
• Artritis / Artralgias				
• Iritis / Uveítis				
• Eritema nodoso, pioderma gangrenoso, estomatitis aftosa				
• Fisura, fistula o absceso anal				
• Otra fistula				
• Fiebre > de 37,8° C durante la semana previa			x 20	
Necesidad de lomotil u opiáceos por diarrea (0 = no; 1 = si)			x 30	
Masa abdominal (0 = no; 2 = cuestionable; 5 = definida)			x 10	
Hematocrito (Hto)				
*Hombres = 47- Hto				
*Mujeres = 42- Hto			x 6	
Sumar o restar el porcentaje de peso ganado / perdido respectivamente, en relación a peso estándar			x 1	
<i>Adaptado de Best WR, Becketl JM, Singleton JW, Kern F Jr. 1976 (1)</i>			CDAI	

El índice CDAI tiene algunas limitaciones como es el caso de pacientes con enfermedad primariamente fistulizante (muestran una puntuación relativamente baja), o que algunas variables consideradas son muy subjetivas.

Otro índice utilizado es el índice de Harvey Bradshaw en el que únicamente se tienen en cuenta los síntomas comunicados por el paciente.

Entre los índices de laboratorio que muestran correlación con la enfermedad se encuentran la α -1 glicoproteína, PCR, albumina y velocidad de sedimentación globular, entre otros.

El índice de calidad de vida más ampliamente utilizado en la evaluación de EC es el IBDQ (Inflammatory Bowel disease Questionnaire) que consiste en un cuestionario de 32 preguntas con siete opciones cada una, dividido en cuatro secciones (función intestinal, estado emocional, síntomas sistémicos y función social) siendo la calidad de vida directamente proporcional al puntaje. La mayoría de los autores recomiendan utilizar el índice de calidad de vida como una medida adicional a las clínicas y bioquímicas (6). También se utilizan versiones reducidas de este cuestionario como el CCVEII-9, que consta únicamente de nueve ítems y hace más fácil su manejo (7).

1.5.2 Colitis ulcerosa

El índice de valoración de la actividad de la enfermedad más ampliamente utilizado en el caso de CU es el índice elaborado por Truelove y Witts en 1995.

Tabla 6. Índice de actividad de Truelove y Witts			
Puntuación	1	2	3
Número de deposiciones	<4	4-6	>6
Sangre en heces	No	Escasa	Abundante
Temperatura axilar	<37	37-37,5	>37.5
Frecuencia cardíaca	<80	80-90	>90
Hemoglobina g/dl			
- Varones	>14	10-14	<10
- Mujeres	>12	9-12	<9
Velocidad de sedimentación globular	<20	20-30	>30
Enfermedad inactiva: 6 puntos; enfermedad leve 7-10			
Enfermedad moderada: 11-14; enfermedad grave >14 puntos			

Este índice divide a la enfermedad en enfermedad inactiva, leve, moderada y grave (8).

También se utilizan los mismos índices de laboratorio y de calidad de vida que los utilizados en EC.

1.6 ETIOPATOGENIA DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

En la actualidad se desconoce la etiología exacta de la EII, aunque se piensa que se puede desarrollar por la interacción de factores ambientales desconocidos en individuos predispuestos. Una respuesta inflamatoria destructiva hacia antígenos propios como los presentes en la mucina, células globulares, colonocitos y otras células se ha propuesto como la base del desarrollo de EII particularmente de CU (9).

Además existen dos hipótesis relacionadas; el “concepto genético” y el “concepto microbiológico” (10). La participación genética comenzó a ser reconocida después de la localización del gen NOD2 en el cromosoma 16 y su asociación con la EC. NOD2/CARD15 pertenece a la familia de los receptores de reconocimiento patrón (PRR) que tras reconocer al peptidoglicano muramildipeptido presente en las bacterias Gram positivas y Gram negativas, activan el factor nuclear κ B (NF- κ B) induciendo la transcripción del factor de necrosis tumoral α (TNF α). CU parece tener menos participación genética que EC y parece estar más relacionada con variaciones genéticas en el cromosoma 12 (11). También se han encontrado evidencias significativas de asociación con la región del cromosoma 6p tanto para EC como para CU. Esta región contiene el complejo mayor de histocompatibilidad que incluye los genes HLA y otros genes como el del TNF α (12, 13). Debido a las variaciones genéticas presentes en el complejo mayor de histocompatibilidad y al papel central de estos genes en la respuesta inmunitaria, se ha estudiado la asociación del gen HLA-DR con EC y con CU. La mayoría de los estudios muestran una asociación positiva de HLA DR2 y CU, concretamente con el genotipo DRB1*15. En cuanto a EC el subtipo HLA DR2 está asociado negativamente con la enfermedad mientras

que los subtipos DR7, DRB3*0301 y DQ4 están relacionados positivamente con enfermedad (14).

Las células NK son uno de los componentes principales del sistema inmunitario innato y juegan un papel importante en la inflamación tisular asociada con enfermedades autoinmunitarias como la EII. Además, son las únicas marcadas con receptores tanto estimuladores como inhibidores específicos para las moléculas MHC de clase I, y sus funciones son reguladas por una serie de señales inhibitoras o activadoras. Las células NK intestinales tienen funciones importantes como la promoción de una respuesta antipatógena y el mantenimiento de la homeostasis del epitelio intestinal. Además algunas citocinas proinflamatorias (IL15, IL21 y IL23) pueden inducir la activación de las células NK para la secreción de altos niveles de otras citocinas proinflamatorias como IFN γ y TNF α y promover las actividades citolíticas contra las células diana (15).

Las citocinas son mediadores locales de un gran número de procesos biológicos incluyendo el crecimiento y diferenciación celular así como respuesta inflamatoria e inmunológica. Los linfocitos CD4 $^{+}$ son clasificados como células tipo Th1 o células tipo Th2 según su perfil de secreción de citocinas. Las células tipo Th1 son estimuladas por IL12 y producen IL2, interferon gamma (IFN- γ) y TNF α . Las células tipo Th2 secretan IL4, IL5, IL10 Y IL13. En general, las células Th1 son inductores efectivos de la respuesta celular inmunitaria y las células Th2 soportan la respuesta inmunitaria humoral (9).

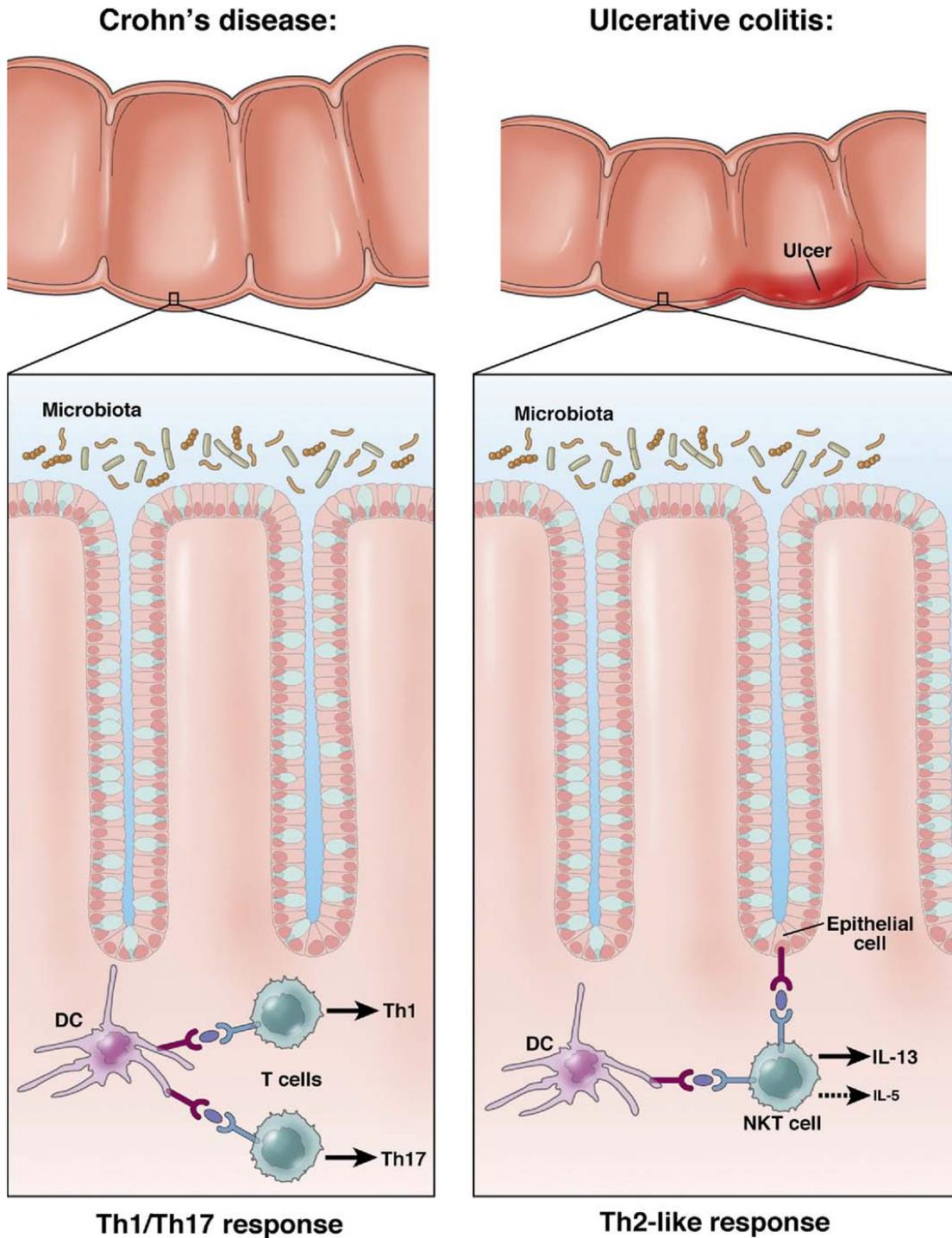


Figura 2. Función básica de las citocinas en la EII (18).

Numerosos estudios (16, 17, 18, 19) han sugerido que la EC se caracteriza por ser una enfermedad mediada por citocinas Th1 con una producción aumentada de interferon γ (IFN γ), IL12, IL15 y IL18. Otros estudios muestran que la EC es debida a una respuesta de las células Th1/th17 en las que las citocinas IL12 y IL23 juegan el papel principal, siendo la respuesta Th1 la fuerza conductora de la inflamación (20).

Por otro lado parece ser que las células Th2 juegan un papel importante en la CU con una producción aumentada de IL5 (19). Además en el intestino de los pacientes con CU se encuentran grandes cantidades de IgG y células plasmáticas secretoras de IgG, pero no se

encuentra aumentada la producción de IL4, citocina representativa de la respuesta Th2 (16, 19).

TNF α , IL1 β e IL6 son mediadores importantes de la inflamación tanto en EC como en CU (20). Estas citocinas están relacionadas tanto con la respuesta Th1 como con la respuesta Th2 como resultado de la estimulación de las células de la inmunidad innata (macrófagos, células epiteliales, entre otras) que se encuentran presentes en el medio inflamatorio. IL6 y posiblemente IL1 β son responsables de la inducción inicial de la respuesta Th17. TNF α aumenta la producción de IL12, función que lo relaciona con la respuesta Th1, por lo que actúa como un mediador central y potente de la patogénesis de EC (21). Recientemente se han descubierto otras citocinas que contribuyen con la inflamación intestinal, como el TL1A (tumor necrosis factor –like ligand) que contribuye a la diferenciación de las células T promoviendo la respuesta Th1 y aumentando la producción de IFN- γ en CU y EC (22).

La concentración de TNF en la mucosa intestinal de los pacientes con EC y CU parece encontrarse relativamente elevada con respecto a los pacientes sanos (23). Los miembros de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF) y del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR) están altamente involucrados en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune. Algunos de estos miembros pueden ejercer efectos dañinos en el huésped como sepsis, síndromes febriles, caquexia y el desarrollo de enfermedades autoinmunes (24). TNF α desencadena una cascada de reacciones proinflamatorias estimulando la producción de numerosas citocinas y es importante tanto en la inducción del proceso inflamatorio como en su mantenimiento. A nivel molecular activa el NF- κ B responsable del control de la transcripción de los genes de las citocinas proinflamatorias. A nivel tisular estimula la producción de moléculas de adhesión celular por las células endoteliales permitiendo una penetración aumentada de los linfocitos, macrófagos y neutrófilos de la circulación a los tejidos inflamados, la angiogenesis y la proliferación de fibroblastos. Además estimula la producción del factor activador de plaquetas (PAF) por las células endoteliales. La producción de IL1 y IL6 influye en el desarrollo de la reacción de fase aguda con la liberación de PCR y con síntomas como fiebre, anemia, trombocitopenia, leucocitosis y pérdida de peso (25). La potente actividad biológica del TNF explica el peligro del daño tisular cuando su acción no está controlada. En EC está involucrado en la proliferación de células T y la formación de granulomas (23).

En la figura 3 se muestra alguna de las actividades del TNF comunes a varias enfermedades inflamatorias como EC, artritis reumatoide y psoriasis.

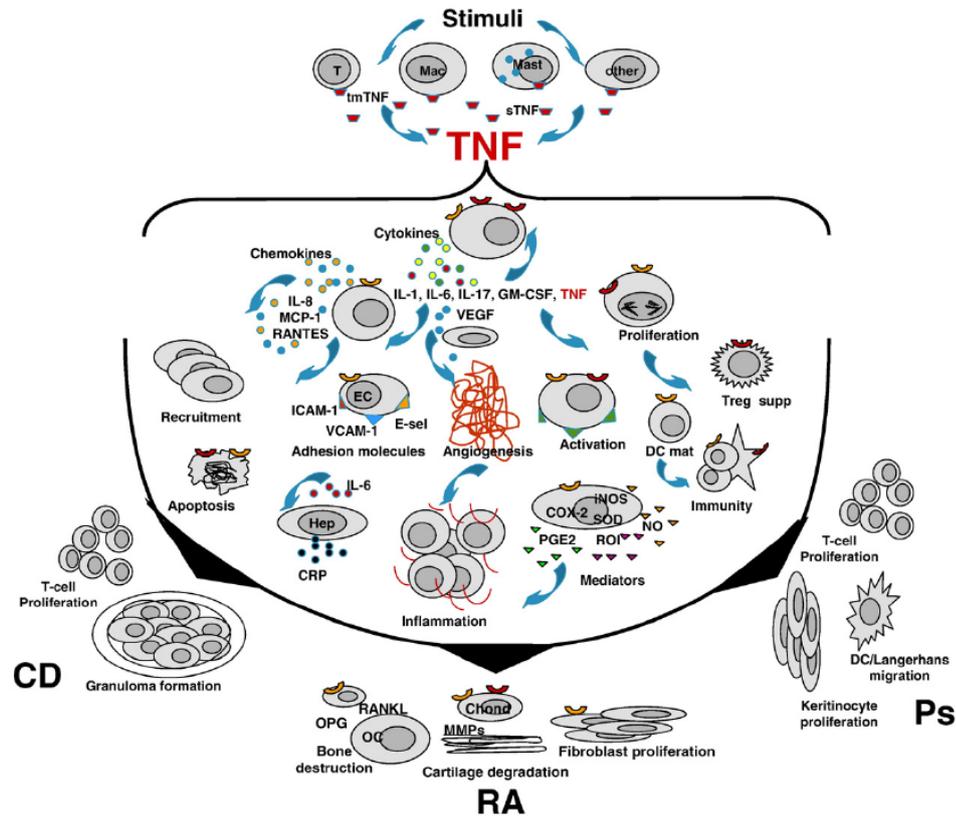


Figura 3. En la patofisiología de AR, EC y psoriasis, TNF es producido en altas concentraciones por una variedad de células tipo, probablemente inducida por estímulos endógenos o microbianos. En el área cerrada se representa la cascada de respuestas celulares comunes a las 3 enfermedades (23).

Existen 2 tipos de receptores para TNF α : TNFR1 y TNFR2 que difieren en el grado de glicosilación y afinidad hacia TNF α , transmitiendo diferentes señales a las células (25). sTNF se une preferiblemente a TNFR1, mientras que tmTNF se une preferiblemente a TNFR2 (23). En la figura 4 se muestra la biología de la producción, interacción con receptores y señalización del TNF.

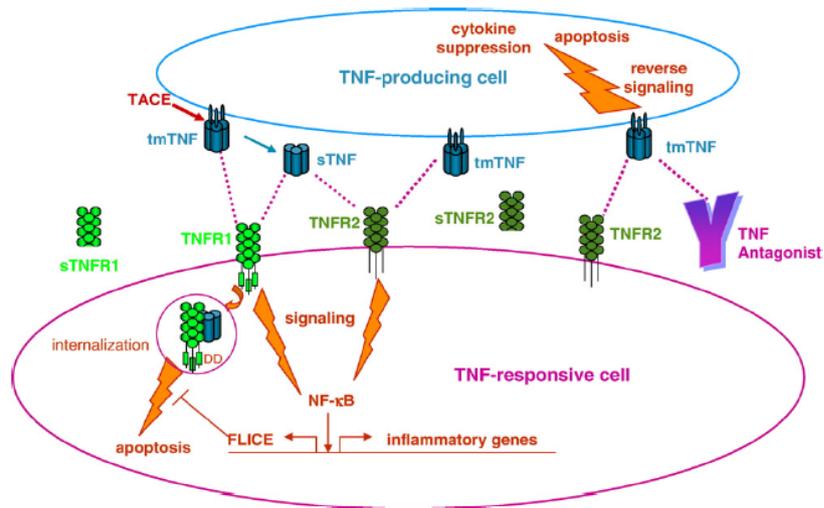


Figura 4. Biología de la producción, interacción con receptores y señalización del TNF. La estimulación de la producción celular del TNF resulta en la expresión en la superficie celular de tmTNF y la liberación de sTNF. Tanto tmTNF y sTNF se pueden unir a los receptores TNFR1 y TNFR2 de la superficie celular iniciando las vías de señalización que inducen la apoptosis, la activación de NFκβ y de los genes inflamatorios. La unión de tmTNF a TNFR1 induce la internalización del complejo formado dando lugar a la apoptosis celular. La señalización reversa puede ser iniciada por TNFR2 o anti TNF uniéndose a tmTNF, resultando en apoptosis o supresión de citoquinas (23)

El ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral (TRAIL) es un miembro de la familia de citocinas del factor de necrosis tumoral (TNF) que juega un papel importante en la homeostasis de la mucosa gastrointestinal, es decir en el recambio de las células epiteliales de la mucosa gastrointestinal (26). Una apoptosis descontrolada contribuye a la carcinogénesis y está relacionada con el daño inflamatorio en las enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis crónica y la EII. La unión de TRAIL a TRAIL R1 (27) y TRAIL R2 (28) a través de su dominio de muerte inducen la apoptosis. En las fases tempranas de la EII hay una sobreexpresión de TRAIL en los linfocitos y en las células epiteliales de la superficie del epitelio que producen una apoptosis aumentada y alteran su función de barrera. En cambio la expresión reducida de TRAIL y TRAILR1 en las últimas fases de la CU puede ser el resultado de una selección negativa de TRAIL y de las células positivas para TRAILR1. La sobreexpresión de TRAIL se ha descrito en las células mononucleares de los pacientes con EII concretamente en las células T y parece estar relacionada con el estado inflamatorio (29).

Algunos factores ambientales están asociados con la EII. El más ampliamente estudiado es la exposición al tabaco. El uso de tabaco es protector frente al desarrollo de CU pero con una duración limitada, mientras que es un factor de riesgo para la EC (30).

1.7 SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

La predisposición familiar a padecer EII sugiere la relación con determinados factores genéticos. El primer gen identificado como susceptible de la enfermedad inflamatoria intestinal fue CARD15 (previamente llamado NOD2) (31).

Diversos estudios han mostrado que existen diferentes genes que confieren un riesgo aumentado para desarrollar EC o CU o susceptibilidad de desarrollar EII en general. Los genes más estudiados han sido IL23R, ATG16L1, CARD15 (NOD2) y 2 marcadores localizados en IBD5, mostrando asociación significativa con EII (32, 33, 34, 35, 36). Incluso en algunos estudios, se ha identificado al receptor de IL23 como un nuevo objetivo terapéutico en EII (37) Las mutaciones en el gen NOD2 causan pérdida de función de NOD2/CARD15 (32), pero a pesar de ello, esta mutación parece ser responsable de una pequeña proporción de casos (38, 39).

Los polimorfismos en otros genes involucrados en la inmunidad innata como los que codifican el TLR-4 (principal receptor para los lipopolisacáridos) parecen estar asociados con un aumento de la susceptibilidad a EII (40). La pérdida de función de NOD2 está asociada con EC por un efecto estimulante en TLR-2. Polimorfismos en los genes que codifican este receptor están asociados con el fenotipo pancolitis de la EC pero no con susceptibilidad (41).

El factor de necrosis tumoral alfa es la molécula efectora final de la cascada inmunológica de los receptores de reconocimiento patrón. Variaciones genéticas en la región promotora del TNF α están asociadas con una expresión aumentada de su mRNA y algunos estudios muestran su asociación con EII (12,13), aunque se han obtenido resultados contradictorios (39, 42). Algunos estudios en población japonesa sugieren que el gen promotor del TNF es uno de los genes responsables de la CU (43). La respuesta de TNF α está mediada por la unión a sus receptores TNFR1 (TNFSF1A) y TNFR2 (TNFRSF1B), los cuales están involucrados en la sobreexpresión de otras citocinas y de moléculas inmunoreguladoras a través de la activación de NF- κ B, concretamente la activación de TNFR1 (21,24). Algunos estudios muestran que polimorfismos en el gen TNFRSF1A y sobre todo del TNFRSF1B contribuyen al riesgo aumentado de padecer la EC y al comportamiento de la enfermedad (43, 44).

También se han estudiado polimorfismos en el gen de la IL1, incluyendo polimorfismos de un solo nucleótido en la posición IL1B 511 y IL1B 31, y su asociación con EII ya que son citocinas proinflamatorias; pero, al igual que en el caso de TNF α , también se han encontrado resultados contradictorios (45, 46). En un estudio en población italiana se ha encontrado relación entre el polimorfismo IL1B 511 y el carácter más agresivo de la EC. Por otro lado el alelo*2 de IL-1RN se ha asociado con un alto riesgo de EII en el norte de Europa (47).

Los receptores Fc II y III juegan un papel importante en la regulación de la respuesta inmunitaria (48). Los genotipos 519GG en el gen FCGR2A y 559CC en FCGR3A se han relacionado con la aparición de enfermedades autoinmunes (49). Concretamente algunos estudios muestran que Fc γ R2a A519G está asociado con EII mientras que el genotipo Fc γ R2a GG confiere carácter protector frente a EII. En cambio, Fc γ 3aA559C no se ha visto asociado con EII (50).

El gen IL23R del cromosoma 1p31 que codifica una subunidad del receptor de la citocina proinflamatoria IL23 parece presentar una asociación altamente significativa con la EC (32).

Algunos estudios muestran que ciertos polimorfismos en determinados genes de riesgo (CARD15 y IL23R) presentan un efecto acumulativo en cuanto a la susceptibilidad de padecer EC (33).

También están relacionados con la susceptibilidad a EII algunos polimorfismos en el gen resistente a fármacos 1 (MDR1). Este gen codifica el transportador glicoproteína p170 que participa en la regulación de las interacciones bacteria-huésped y en la patogénesis de EII (51).

1.8 TRATAMIENTO

Las opciones de tratamiento de EII se muestran en la tabla 7. En la figura 5 se muestran los procesos implicados en la regulación de la expresión del TNF α y a qué nivel pueden interferir los tratamientos frente a la EII.

Tabla 7. Tratamiento médico de la enfermedad inflamatoria intestinal				
Colitis ulcerosa: fase activa				
	Leve	Moderada	Grave	Fulminante
Distal	5-ASA por vía oral, enema o ambos	5-ASA por vía oral, enema o ambos Corticoides en Enema Corticoides V.O.	5-ASA por vía oral, enema o ambos Corticoides en Enema Corticoides V.O. o I.V.	Corticoides I.V. o Ciclosporina A I.V.
Extensa	Extensa 5-ASA por vía oral, enema o ambos	5-ASA por vía oral, enema o ambos Corticoides en Enema Corticoides V.O.	5-ASA por vía oral, enema o ambos Corticoides en Enema Corticoides V.O. o I.V.	Corticoides I.V. o Ciclosporina A I.V.
Colitis ulcerosa: tratamiento de mantenimiento				
Distal	5-ASA por vía oral, enema o ambos 6-MP o Azatioprina			
Extensa	5-ASA por vía oral, enema o ambos 6-MP o Azatioprina			
Enfermedad de Crohn: enfermedad activa				
Leve a moderada	Grave		Enfermedad perianal o fistulizante	
5-ASA por vía oral, enema o ambos	5-ASA por vía oral, enema o ambos		Metronidazol, Ciprofloxacino o ambos	

Metronidazol, Ciprofloxacino o ambos	Metronidazol, Ciprofloxacino o ambos	6-MP o Azatioprina Infliximab	
Corticoides V.O. (prednisona, prednisolona o budesonida)	Corticoides V.O. (prednisona, prednisolona o budesonida)	Ciclosporina I.V.	
Infliximab	Infliximab		
Enfermedad de Crohn: tratamiento de mantenimiento			
Inflamatoria	Enfermedad perianal o fistulizante		
5-ASA por vía oral, enema o ambos 6-MP o Azatioprina Infliximab	Metronidazol, 6-MP Infliximab	Ciprofloxacino o o	ambos Azatioprina

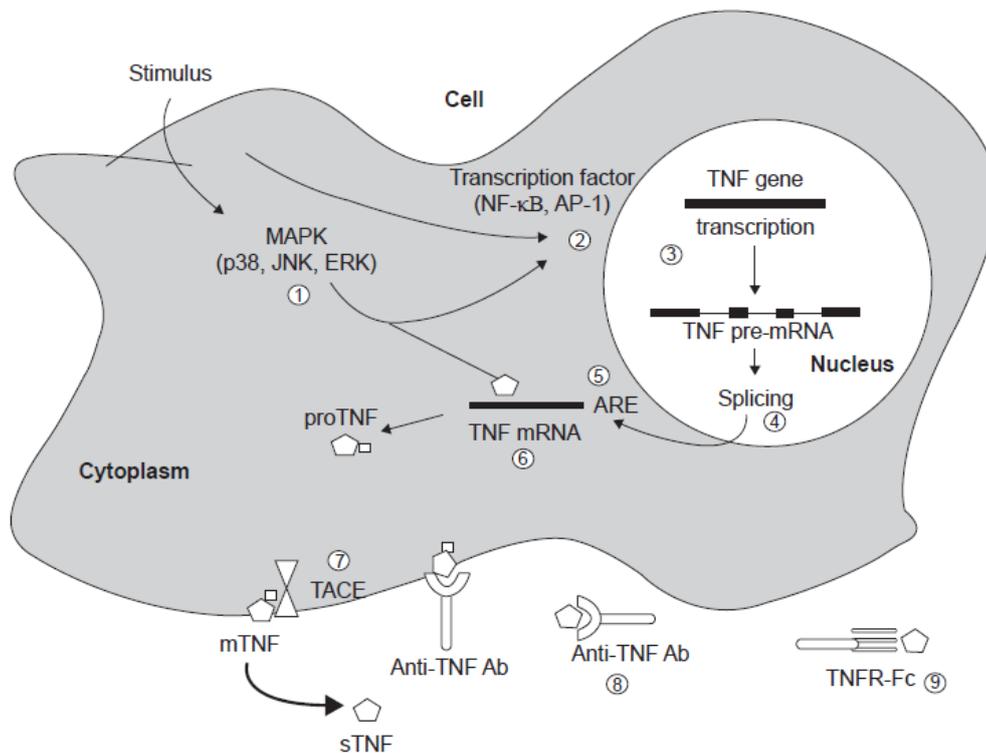


Figura 5. Modelo de activación de la producción de TNF y lugares de antagonismo potencial del TNF. Cada modo de activación puede variar dependiendo del tipo de célula. Los números redondeados muestran cada paso en la producción y secreción del TNF, los cuales pueden ser objetivos potenciales para la manipulación terapéutica usando inhibidores específicos. Oxipentifilina y otros inhibidores de la fosfodiesterasa tipo IV interfieren con la expresión génica en el paso 1. Mesalazina inhibe los efectos mediados por el TNF en la proliferación de las células epiteliales intestinales en los pasos 1 y 2. Talidomida aumenta la degradación del ARNm del TNF en el paso 6. Los anticuerpos monoclonales infliximab y etanercept directamente antagonizan al TNF uniéndose a sus receptores de membrana en los pasos 8 y 9. (56)

1.8.1 AMINOSALICILATOS Y DERIVADOS

El tratamiento de elección de la colitis en EC o en CU leve a moderada es la sulfasalazina y los demás fármacos derivados del ácido 5-aminosalicílico (5-ASA).

La sulfasalazina fue desarrollada originariamente como tratamiento antibacteriano y antiinflamatorio de la mucosa del colon. Su estructura molecular proporciona un adecuado acceso al colon permitiendo que la molécula intacta pase al intestino delgado después de sufrir una absorción parcial y que sea escindida en el colon por las azoreductasas bacterianas que rompen el puente azo que une las porciones sulfapiridina y 5-ASA. El 5-ASA es el componente activo que ejerce su acción antiinflamatoria una vez liberado en el intestino. La sulfapiridina tiene un efecto antiinflamatorio sobre las articulaciones (1,3) y es eficaz en la inducción y mantenimiento de la remisión en la colitis e ileocolitis leve a moderada de la EC y CU, aunque su elevada tasa de efectos secundarios, horario de administración y coste limita su empleo (52). Además, puede alterar la absorción del folato, por lo que es necesario administrar suplementos de ácido fólico durante el tratamiento.

Los preparados de aminosalicilato sin sulfamidas aportan mayores cantidades del componente farmacológicamente activo de la sulfasalazina (5-ASA) al lugar de actividad de la enfermedad intestinal limitando su toxicidad. El 5-ASA podría actuar inhibiendo la actividad del NF- κ B. Entre los preparados de aminosalicilato sin sulfamidas se incluyen los transportadores alternativos unidos a azo, los dímeros de 5-ASA, los comprimidos dependientes del pH y las preparaciones de liberación continua. Los agentes 5-ASA pueden ser eficaces en la profilaxis postoperatoria de la EC.

Los enemas de mesalazina tópicos son eficaces en EC y CU distal leve o moderada mientras que los supositorios de mesalazina son eficaces en la proctitis (1).

1.8.2 CORTICOESTEROIDES

Los corticoesteroides son potentes agentes antiinflamatorios para el tratamiento de los brotes moderados o graves de la EII que no se controlan con otros fármacos. No son útiles como terapia de mantenimiento (3). Actúan inhibiendo las principales vías de la inflamación: suprimiendo la transcripción de interleuquinas, por inducción del complejo NF κ B, supresión del metabolismo del ácido araquidónico y estimulación de la apoptosis de los linfocitos en la lámina propia del intestino (53)

La mayoría de los pacientes con CU moderada o grave se benefician de la administración de glucocorticoides por vía oral o parenteral. Los glucocorticoides de aplicación tópica también son útiles para la colitis distal y pueden servir como tratamiento coadyuvante en los pacientes con afección rectal además de enfermedad más proximal. La combinación de corticoesteroides orales y rectales parece ser más eficaz que su uso por separado (1,52).

Los corticoesteroides también son eficaces en el tratamiento de EC moderada o grave; pero no son eficaces en el tratamiento de mantenimiento de EC ni de CU. Una vez se ha inducido la remisión clínica se deben retirar de forma gradual. Los efectos secundarios son numerosos pero la mayoría de estos efectos están relacionados con la dosis y con la duración del tratamiento (1).

1.8.3 ANTIBIOTICOS

Los antibióticos juegan un papel importante en el tratamiento de las complicaciones secundarias de EII como abscesos o sobrecrecimiento bacteriano (49). Son útiles en el tratamiento de CU activa o quiescente. La inflamación de la bolsa ileal suele responder al tratamiento con metronidazol o levofloxacino (1), aunque no existe una evidencia clara para el uso de estos antibióticos como terapia modificadora de la enfermedad en CU (52).

Tanto el metronidazol como el ciprofloxacino son eficaces en EC activa inflamatoria, fistulosa y perianal y puede evitar las recaídas tras la resección ileal. Deben utilizarse como fármacos de 2ª línea en EC activa después de los fármacos 5-ASA y como primera línea en EC perianal y fistulosa (1).

1.8.4 INMUNOSUPRESORES

Tiopurinas

La azatioprina y la 6-mercaptopurina son análogos de purinas utilizados comúnmente en el tratamiento de EII dependiente de glucocorticoides. Actúan inhibiendo la síntesis de ribonucleótidos de purina y por tanto la proliferación celular. También inhiben la respuesta inmunitaria. Estos fármacos han mostrado eficacia en el tratamiento de mantenimiento de EC y de CU, en la enfermedad perianal activa y en las fístulas de EC. Además también pueden ser eficaces en la profilaxis postoperatoria de EC. (1, 52)

Metotrexato

El metotrexato inhibe la hidrofolato reductasa lo que provoca una alteración en la síntesis del DNA. Otra de sus propiedades antiinflamatorias puede estar relacionada con la disminución de la producción de IL-1. Puede ser eficaz en la inducción y mantenimiento de la remisión en EC y puede inducir la cicatrización de la mucosa (1, 52).

Inhibidores de la calcineurina

La ciclosporina es un inhibidor de la calcineurina que altera la respuesta inmunitaria actuando como un potente inhibidor de las respuestas mediadas por las células T. Su principal mecanismo de acción es disminuir la producción de IL2 por parte de los linfocitos T colaboradores pero también disminuye el reclutamiento de las células T citotóxicas y bloquea la acción de otras citocinas como IL3, IL4, INF γ y TNF. La ciclosporina administrada vía IV puede ser eficaz en CU grave resistente a glucocorticoides. Su uso está limitado por su toxicidad y su pérdida de eficacia a largo plazo (1,52).

El tacrolimus es otro inhibidor de la calcineurina que presenta un mecanismo de acción similar a la ciclosporina. Es eficaz en niños con EII resistente y en adultos con afección extensa del intestino delgado (1,3).

El micofenolato de mofetilo es otro inmunomodulador que puede ser eficaz en individuos con EC resistente a 6-MP/azatioprina o que no la toleran (1,3).

La talidomida inhibe la producción de TNF por los monocitos y otras células y parece ser eficaz en EC refractaria a glucocorticoides pero se necesitan más estudios (1).

1.8.5 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Más del 30% de los pacientes con CU crónica extensa deberán de ser sometidos a cirugía durante los 10 primeros años de enfermedad. La cirugía en los pacientes con CU está indicada en los casos en los que la enfermedad no responda a la terapia médica intensiva, presencia de displasia o carcinoma, enfermedad incontrolada y episodios agudos o crónicos recurrentes de la enfermedad (52).

La mayoría de los pacientes con EC precisan al menos de una intervención quirúrgica durante su vida. La necesidad de la cirugía está relacionada con la duración de la enfermedad y el lugar afectado. Los pacientes con mayor necesidad de cirugía son aquellos que presentan enfermedad del intestino delgado (1).

1.8.6 TERAPIAS BIOLÓGICAS Y FÁRMACOS ANTI TNF

En la figura 6 se muestran los posibles objetivos terapéuticos de las terapias biológicas en la enfermedad inflamatoria intestinal.

Actualmente los agentes biológicos autorizados para el tratamiento de la EII son infliximab y adalimumab (25, 52)

Infliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico de ser humano y ratón contra el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) de tipo IgG que es extremadamente eficaz en la EC inflamatoria y fistulizante. Su mecanismo de acción consiste principalmente en bloquear el TNF en suero (parte soluble (s)) y en la superficie de las células (porción transmembrana (tm)) (25,53, 54). Los macrófagos activados por TNF_{tm} y la activación de la endotoxina – LPS de los monocitos a través de TLR4 aumentan la producción de citocinas inflamatorias (TNF, IL1 β , IL-10 y IL12) en el lugar de la inflamación por lo que su bloqueo disminuye esa producción (25). Además infliximab disminuye los niveles de PCR regulada mayoritariamente por IL6 y parece neutralizar TNF_{tm} y así inducir la apoptosis de los macrófagos y las células T que lo producen mediante fijación de complemento y citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo.

El infliximab se ha mostrado eficaz en pacientes con EC activa resistente a glucocorticoides, 6-MP o 5-ASA y pacientes con fistulas perianales o enterocutáneas refractarias. También parece ser eficaz en CU principalmente en enfermedad refractaria a esteroides y colitis crónica activa a pesar de tratamiento inmunosupresor. La aparición de anticuerpos frente a infliximab se acompaña de un mayor riesgo de reacciones a la administración y una menor respuesta al tratamiento (1, 25, 52, 55, 56). La posología en EC activa o fistulizante y en CU es de 5 mg/kg administrados en perfusión intravenosa seguida de perfusiones adicionales de 5 mg/kg a las 2 y 6 semanas siguientes a la primera perfusión y posteriormente cada 8 semanas (53).

Adalimumab es un anticuerpo anti TNF humanizado que se administra únicamente vía subcutánea. Está autorizado en aquellos pacientes con EC que no responden a la terapia inmunosupresora convencional. Ha demostrado eficacia en la EC activa moderada o grave tanto en aquellos pacientes sin tratamiento biológico previo como en los que no responden a infliximab. Su mecanismo de acción es similar a infliximab (25, 52, 56).

El anticuerpo monoclonal humanizado específico de la integrina α 4, natalizumab, evita la migración de los leucocitos al interior del parénquima y bloquea su activación en los sitios de inflamación. Parece ser eficaz en la EC pero se necesitan más estudios (1,3).

Certolizumab pegol es un fragmento humanizado del anticuerpo monoclonal del TNF asociado a polietilenglicol que se administra vía subcutánea. No produce altos niveles de apoptosis lo que sugiere que este mecanismo no es esencial para la eficacia de los agentes anti TNF- α (57). Ha demostrado cierta eficacia en pacientes con pérdida de respuesta o intolerantes a infliximab.

Etanercept ha mostrado eficacia en artritis reumatoide pero no en pacientes con EC (56).

Todos los antiTNF excepto etanercept modulan la producción, por parte de monocitos, de IL1 β inducido por lipopolisacáridos. Este mecanismo parece ser necesario para la eficacia de los agentes anti TNF en EII (57).

Los anti TNF presentan como componente una porción constante (Fc) de la IgG que se pueden unir a diferentes receptores Fc, como el FcγIIIa que es expresado por monocitos, macrófagos células NK y células T. Su unión puede afectar a su función celular como fagocitosis, liberación de citocinas y citotoxicidad dependiente de anticuerpo, entre otras, contribuyendo en la respuesta de los anti-TNF (48).

Otros tratamientos biológicos como los inhibidores de los receptores de citocinas proinflamatorias, anticuerpos de los receptores de IL2 (daclizumab, basiliximab) y anticuerpos anti IFNγ (fontolizumab) han sido estudiados en EII sin llegar a mostrar una eficacia significativa por lo que se necesitan más estudios con estas nuevas terapias biológicas (56, 58, 59, 60, 61).

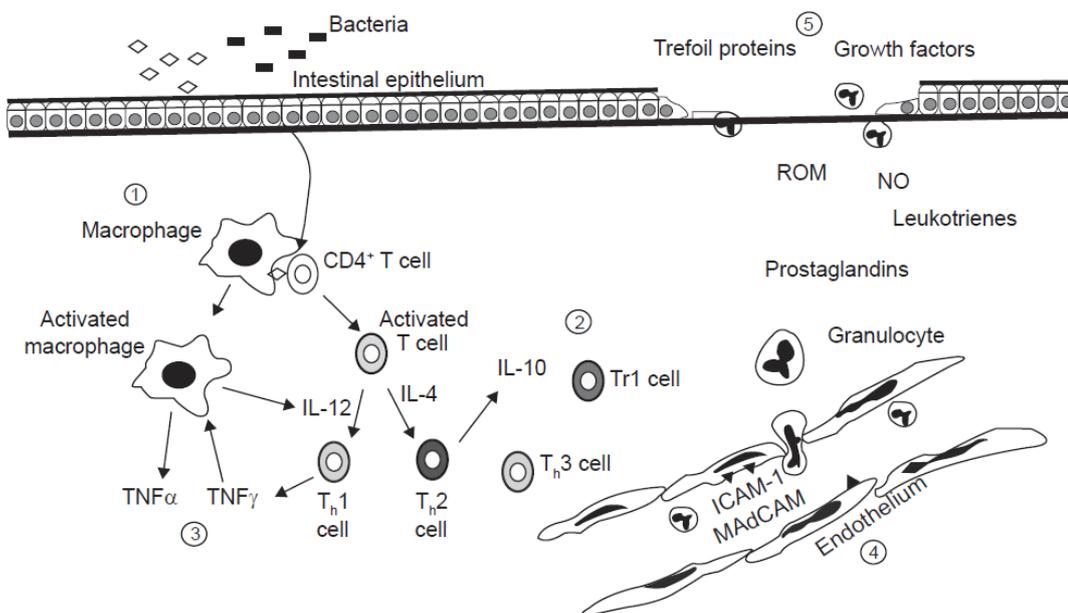


Figura 6. Objetivos terapéuticos de los agentes biológicos en la enfermedad inflamatoria intestinal. Se divide en las siguientes áreas: 1) presentación antígeno-antígeno” activación de las células T efectoras 3) amplificación de la respuesta mediada por citocinas 4) adhesión y reclutamiento 5) daño y reparación (21).

1.9 ATENCIÓN FARMACÉUTICA Y SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO

La atención farmacéutica es el modelo de actuación profesional responsable que integra las actividades tradicionales y clínicas del farmacéutico, junto con las normas deontológicas, con el fin de contribuir a mejorar la salud y calidad de vida de los pacientes, mediante el uso seguro y eficiente de los medicamentos. (62)

El seguimiento farmacoterapéutico se define como la práctica profesional en la que el farmacéutico se responsabiliza de las necesidades del paciente relacionadas con los medicamentos mediante la detección, prevención y resolución de los problemas relacionados con los medicamentos (PRM), de forma continuada, sistematizada y documentada, en colaboración con el propio paciente y con los demás profesionales del sistema de salud, con el fin de alcanzar resultados concretos que mejoren la calidad de vida del paciente(63). En este

sentido el grupo de investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada ha desarrollado el Método Dader para el seguimiento farmacoterapéutico que se estructura en 7 pasos y por el que se desarrolla el proceso de intervención farmacéutica para resolver los posibles PRM que pueda tener el paciente (64).

1.10 FARMACOGENÉTICA

Entre los fármacos usados para el tratamiento de distintas enfermedades existe una amplia variabilidad interindividual tanto en eficacia como en toxicidad. Hay muchos factores que influyen la respuesta a la farmacoterapia incluyendo la severidad de la enfermedad y sus complicaciones, factores ambientales como el tabaco y factores genéticos. La variabilidad en la respuesta al tratamiento es mayor entre la población que en el mismo paciente o en gemelos homocigotos, por lo que parte de estas diferencias es atribuida a factores genéticos. Se estima que los polimorfismos genéticos pueden dar lugar entre el 20-95% de la variabilidad en los efectos de los fármacos (65). El área científica que estudia la relación entre la variabilidad genética y la variabilidad en la respuesta a los fármacos y la toxicidad se denomina farmacogenética. Los principales genes candidatos a estudio son aquellos que codifican para receptores, enzimas metabolizadoras y transportadores de los fármacos. Aunque la selección de la terapia óptima puede involucrar además aquellos genes de susceptibilidad de la enfermedad que afecten a la respuesta a los fármacos. El uso de la farmacogenética en la toma de decisiones terapéuticas podría potenciarse si los análisis farmacogenéticos estuvieran incluidos en los ensayos clínicos de los fármacos. La farmacogenética se ha utilizado en campos de investigación pero su uso en la práctica clínica diaria todavía no está muy extendido. Con una aplicación más sistemática de los estudios farmacogenéticos se podrá en un futuro adaptar la terapia de cada paciente según su perfil genético siendo los fármacos más eficaces y seguros (66).

De algunos fármacos utilizados para el tratamiento de la EII se han estudiado polimorfismos en genes que influyen en su toxicidad (Azatioprina, 6-mercaptopurina, sulfasalazina, mesalazina y metotrexate) y en su respuesta (glucocorticoides e infliximab).

El estudio de los polimorfismos genéticos en el gen que codifica al enzima tiopurina-S-metiltransferasa (TPMT) y su influencia en el tratamiento con Azatioprina y 6-mercaptopurina puede ayudar a optimizar la terapia de los pacientes con EII. Algunos investigadores sugieren que los pacientes con una baja actividad del enzima tiopurina S-metiltransferasa deberían recibir concentraciones muy bajas de estos fármacos. Aquellos pacientes sin actividad de TPMT no deberían recibir estos fármacos debido a su toxicidad hematológica (67, 68).

La toxicidad de sulfasalazina está influenciada por la acetilación del fármaco por las N-acetiltransferasas. Se ha descrito relación entre efectos adversos como leucopenia y un síndrome similar a mononucleosis infecciosa y uno de los genotipos de acetiladores lentos en pacientes con EII tratados con sulfasalazina (69, 70).

En el caso de metotrexate polimorfismos en el gen que codifica el enzima metilentetrahidrofolato reductasa parece estar relacionado con la severidad de su toxicidad (67).

La investigación de variables genéticas que influyen la respuesta a un fármaco específico es más complicada que encontrar factores que influyen en la toxicidad ya que la puntuación de eficacia está peor definida, se utilizan diferentes puntuaciones para valorar la actividad de la enfermedad y normalmente se encuentran definidos utilizando una combinación de parámetros clínicos, de laboratorio y endoscópicos. Además la respuesta al tratamiento de EII está influenciada por muchos factores de confusión como la duración, comportamiento y severidad de la enfermedad (67).

La eficacia del tratamiento con glucocorticoides de los pacientes con EII parece estar relacionada con la expresión del gen MDR1 (gen de resistencia a fármacos) que codifica la glicoproteína-P (bomba que expulsa el fármaco al exterior de la célula). Además su expresión parece estar aumentada en pacientes con EC y CU. Se han correlacionado algunos polimorfismos en el gen MDR1 con su sobreexpresión y la subsiguiente resistencia a la terapia con glucocorticoides (71).

Se ha estudiado la relación entre la eficacia al tratamiento con infliximab en pacientes con EC y CU y diferentes SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) en el promotor del gen TNF y en los receptores del TNF (TNFR 1 y TNFR2) sin encontrar asociaciones significativas. (72, 73, 74). También se ha estudiado la asociación entre polimorfismos en el gen que codifica FcγRIIIa (receptor expresado en la superficie de macrófagos y células NK e involucrado en la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos) y la respuesta al tratamiento con infliximab en pacientes con EC, mostrándose una mejor respuesta en pacientes con el genotipo VV (74, 75). Polimorfismos en CARD15 están asociados con la susceptibilidad de padecer EII pero no con la respuesta al tratamiento (74, 76). Por otro lado los polimorfismos en la región 5q31 relacionados con la susceptibilidad de padecer EC pueden ser considerados como buenos marcadores de respuesta a infliximab, en concreto pacientes con el mutante homocigoto de los polimorfismos IGR2060 y IGR3081 muestran una peor respuesta (77).

Por otro lado, un trabajo previo en una pequeña cohorte de pacientes con EC sugiere una asociación entre polimorfismos en el gen de la linfotoxina A (adyacente a la región del TNF) y respuesta a infliximab (78). Otro estudio en población japonesa mostró que los pacientes con polimorfismos en el gen de la linfotoxina A y el polimorfismo -857T del TNF (rs1799724) presentaban una mayor inducción del TNF α que se traducían en una peor respuesta a infliximab (79).

Todos estos estudios farmacogenéticos han ayudado a entender mejor el mecanismo de acción de estos fármacos en EII (67).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El desarrollo de la biología molecular de las últimas décadas ha permitido avanzar en el conocimiento de la patología de la EI y ha supuesto un gran cambio en el desarrollo de nuevas terapias. Pero no todos los pacientes responden de igual forma a estos agentes, por lo tanto ya que la EI es una enfermedad crónica, en la que la mayoría de los pacientes necesitarán de estas terapias de por vida, el uso de la farmacogenómica para predecir la respuesta puede evitar resultados negativos de la farmacoterapia con las consiguientes pérdidas de calidad de vida de los pacientes y de recursos económicos de los sistemas nacionales de salud.

Los polimorfismos en genes que codifican TNF α , los receptores del TNF α , otras citocinas, o la región del complejo de histocompatibilidad, y su capacidad de predecir respuesta a las terapias anti-TNF- α , han sido el foco de recientes estudios. Los resultados de estos estudios son contradictorios, alguno sugiere que la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en estos genes está significativamente relacionada con la inefectividad de los tratamientos, mientras que otros concluyen que no existe relación significativa. Tal controversia podría ser debida a una alta variedad de factores tales como grado de cumplimiento de las terapias o el mal uso de los medicamentos, entre otros, los cuales no habían sido suficientemente valorados en dichos estudios y que podrían ser esclarecidos adjuntando la metodología Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico (SFT) a estudios farmacogenómicos.

2.1 Objetivo principal

Evaluar la influencia de los polimorfismos en el promotor del gen TNF, FcGIIIa, TNFR1A, TRAILR1 y IL1 en la respuesta al tratamiento con infliximab en pacientes con EC y CU a los 3, 6 y 12 meses del inicio, así como la influencia de factores ambientales que pudieran contribuir a la respuesta terapéutica.

2.2 Objetivos secundarios

Evaluación del impacto clínico del seguimiento farmacoterapéutico en la satisfacción con la medicación y adherencia al tratamiento.

Evaluación de la calidad de vida de los pacientes con EC y CU en tratamiento con infliximab.

Determinación de la asociación entre la concentración de interleuquinas y de TNF α en suero y EC o CU.

Evaluación de la influencia de los polimorfismos del promotor del gen TNF, TNFR1A, FcGRIIIa, TRAILR1 e IL1 en la susceptibilidad a padecer EC o CU.

Influencia de la concentración de interleuquinas y de TNF α en suero y la respuesta al tratamiento con infliximab.

MATERIAL Y METODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Población a estudio

Pacientes diagnosticados de EC y CU en tratamiento con infliximab, procedentes del Servicio de Digestivo del Hospital Universitario Santa María del Rosell de Cartagena (HUSMR). El periodo de estudio estuvo comprendido entre enero de 2009 a enero de 2011 aproximadamente.

Fueron incluidos en el estudio un total de 79 pacientes (58 con EC y 21 con CU). Los datos demográficos se detallan en las tablas 6 y 7.

Se realizó seguimiento farmacoterapéutico (SFT) a un total de 24 pacientes (20 con EC y 4 con CU). Se incluyeron en el seguimiento todos los pacientes que iniciaron tratamiento con infliximab hasta enero de 2009 y que aceptaron voluntariamente su inclusión en el estudio.

SFT	N	SEXO		EDAD MEDIA (SD)
		Hombres (%)	Mujeres (%)	
Si	20	11 (55)	9 (45)	33,75 (10,08)
no	38	16 (42,1)	22 (57,9)	42,95 (15,72)
total	58	27 (46,6)	31 (53,4)	39,78 (14,62)

Tabla 8. Distribución de pacientes con EC según su inclusión en SFT o no, sexo y edad

SFT	N	SEXO		EDAD MEDIA (SD)
		Hombres (%)	Mujeres (%)	
Si	4	4 (100)	0	46,25 (23,67)
no	17	7 (42,1)	10 (57,9)	44,88 (12,77)
total	21	11 (54,2)	10 (45,8)	45,14 (14,66)

Tabla 9. Distribución de pacientes con CU según su inclusión en SFT o no, sexo y edad

El estudio de las diferencias entre EC y CU en cuanto a la concentración de citocinas y el estudio de su asociación con la respuesta se realizó a un total de 24 pacientes (17 con EC y 7 con CU).

El estudio de susceptibilidad se realizó a la totalidad de los pacientes incluidos en el estudio mientras que el estudio farmacogenético se realizó a 58 pacientes (40 con EC y 18 con CU), debido a la imposibilidad de obtener datos de todos los pacientes.

Según la clasificación de Montreal, la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio farmacogenético y diagnosticados de EC eran A2 (67,5%), presentaban una localización L1 o L3 (35% respectivamente) y un patrón clínico B1 (65%). Únicamente el 25 % de los pacientes

presentaba además una afectación perianal asociada. En cuanto a los pacientes con CU la mayoría eran E2 (55,6%) y S2 o S3 (50% respectivamente).

Según el índice de actividad de Truelove y Witts para CU la mayoría de los pacientes incluidos en el estudio farmacogenético presentaban al inicio un brote moderado (55,6%).

Para los estudios de susceptibilidad genética se comparó la distribución de genotipos en los pacientes con EC y CU con un grupo control de donantes de sangre de edad y sexo conocidos pertenecientes a la misma área geográfica (área de salud II de la Región de Murcia).

3.2 Criterios de inclusión en el estudio

La participación en el estudio fue voluntaria, para la cual los pacientes firmaron un consentimiento informado de acuerdo con la ley de investigación biomédica del 4 de julio del 2007, y aprobado previamente por el Comité de Ética del HUSMR. En dicho consentimiento el paciente es informado del objetivo del trabajo y acepta participar libremente (anexo1).

Para conservar la confidencialidad de todos los datos, todos los cuestionarios utilizados en este estudio fueron codificados.

Criterios de inclusión: pacientes diagnosticados de EC y de CU procedentes del Servicio de Digestivo del HUSMR con participación voluntaria en el estudio y en tratamiento con infliximab.

3.3 Metodología Dáder de atención farmacéutica

El seguimiento farmacoterapéutico de pacientes se realizó según la metodología Dader diseñada por el grupo de investigación en atención farmacéutica de la Universidad de Granada (64).

El método Dáder se basa en la obtención de la historia farmacoterapéutica del paciente y la evaluación del estado de situación a una fecha determinada con el fin de identificar y resolver los posibles resultados negativos asociados con la medicación (RNM).

Los RNM se pueden clasificar según sean de:

NECESIDAD,

Problema de salud no tratado: el paciente sufre un problema de salud asociado a no recibir una medicación que necesita

Efecto de medicamento innecesario: el paciente sufre un problema de salud asociado a recibir un medicamento que no necesita

EFFECTIVIDAD

Inefectividad no cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad no cuantitativa de la medicación.

Inefectividad cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad cuantitativa de la medicación.

SEGURIDAD

Inseguridad no cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad no cuantitativa de un medicamento.

Inseguridad cuantitativa: el paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad cuantitativa de un medicamento.

3.3.1 Seguimiento farmacoterapéutico de pacientes con EC y CU

Todos los pacientes incluidos en el SFT fueron entrevistados por el farmacéutico en 2 ocasiones según la metodología Dader de SFT.

Tanto la primera como la segunda entrevista tuvieron lugar en el Hospital de día durante la administración del fármaco. La duración de cada entrevista fue aproximadamente de unos 30 minutos.

Durante la primera entrevista se registraron los siguientes datos:

1. Elaboración de la historia farmacoterapéutica del paciente, a través de la cual se recogieron los siguientes parámetros (anexo 2).
 - Datos demográficos: edad, sexo, etnia
 - Datos clínicos: diagnóstico de EII (EC o CU), fecha de diagnóstico, antecedentes familiares y otros diagnósticos concomitantes
 - Datos terapéuticos: tratamiento con infliximab y otros tratamientos concomitantes. Reacciones adversas detectadas desde el inicio de la terapia biológica. Suspensión temporal del fármaco y motivo de la misma. Otros tratamientos administrados previamente al inicio de infliximab.
 - Hábitos: hábitos tóxicos (tabaco, alcohol), ejercicio físico/sedentarismo.
2. Adherencia al tratamiento según el cuestionario SMAQ (anexo 3)
3. Satisfacción con la medicación a través del cuestionario TSQM-II (anexo 4)
4. Calidad de vida a través del cuestionario CCVEII-9 (anexo 5)
5. Actividad de la enfermedad según cuestionario CDAI a los pacientes con EC

Durante la segunda entrevista se registraron los siguientes datos:

1. Datos terapéuticos: tratamiento concomitante y reacciones adversas detectadas desde la última visita y suspensión temporal del fármaco y motivo/s de la misma.
2. Adherencia al tratamiento según el cuestionario SMAQ (anexo 2)
3. Satisfacción con la medicación a través del cuestionario TSQM-II (anexo 4)
4. Calidad de vida a través del cuestionario CCVEII-9 (anexo 5)

3.3.2 Evaluación de la adherencia al tratamiento

Para evaluar la adherencia al Tratamiento se utilizó el cuestionario Simplified Medication Adherence Questionnaire (SMAQ) validado para pacientes en tratamiento antirretroviral. Este cuestionario mide la adherencia de forma semicuantitativa(81).

3.3.3 Evaluación de la satisfacción con la medicación

La satisfacción con la medicación, en este caso el infliximab, fue evaluada utilizando el cuestionario TSQM-II en castellano.

Este cuestionario consta de 11 items con los que se puede evaluar la satisfacción en cuanto a la efectividad del tratamiento, efectos adversos, administración y satisfacción en general (82).

3.3.4 Evaluación de la calidad de vida

Para la evaluación de la calidad de vida de los pacientes con EII se utilizó el cuestionario reducido de calidad de vida de enfermedad inflamatoria intestinal de 9 items (CCVEII-9) que es una cuestionario reducido de la versión española del IBDQ (Inflammatory bowel disease questionnaire) de 36 items.

En este cuestionario las respuestas están graduadas siguiendo una escala de 7 puntos en la que 7 representa la mejor función y 1 la peor con un rango posible de 9 a 63 (63 se correspondería con el mejor estado de salud y 9 con el peor) (83).

3.4 Evaluación de la respuesta a tratamiento con infliximab

Se evaluó la distribución de los polimorfismos en los genes FCGR3A, TRAILR1, TNFR1A , IL1B y TNF como factores genéticos en relación con la respuesta a infliximab a los 3, 6 y 12 meses del inicio del tratamiento tanto en EC como en CU.

En EC se utilizó como criterios de respuesta clínica la disminución en la puntuación del cuestionario CDAI. Se definió como respuesta clínica al tratamiento una disminución de la puntuación de CDAI de 70 puntos o más con respecto el valor basal y al menos una disminución del 25% con respecto a la puntuación total y como remisión clínica una puntuación CDAI inferior a 150 puntos (84). Las puntuaciones del cuestionario CDAI se obtuvieron al inicio, a la cuarta dosis de infliximab (semana 14) y posteriormente.

Como criterios de respuesta biológica se definió a los pacientes como respondedores y no respondedores en base a la variación de los niveles de PCR. Se consideró únicamente a aquellos pacientes con niveles de PCR basales elevados (>0,5 mg/dl), clasificando a los pacientes como respondedores en el caso de una disminución de los niveles de PCR >25 % con respecto al valor basal (85). Los valores de PCR se obtuvieron al inicio del tratamiento, a los 3, 6 y 12 meses.

En CU únicamente se utilizaron criterios de respuesta biológica para evaluar la respuesta. Se consideró respuesta una disminución de más del 25% de los valores de PCR con respecto al valor basal.

3.5 Determinación de la concentración de distintas interleuquinas y del TNF α en suero

La concentración de interleuquinas se determinó utilizando la técnica de Luminex. Para ello se tomaron 50 μ l de suero de los pacientes justo antes del tratamiento con infliximab y a las 6 y 14 semanas aproximadamente del inicio. Las muestras obtenidas se analizaron utilizando un método basado en citometría múltiple (Fluorokine MAP Multianalyte profiling kit. PN: LUH000). Las muestras fueron incubadas y diluidas siguiendo las instrucciones del fabricante y los datos fueron obtenidos utilizando un citómetro de flujo modificado (Luminex DX100, Luminex Corporation, CA, USA) (86).

Para averiguar la relación entre la concentración de interleuquinas en suero y la respuesta a tratamiento con infliximab en EC y CU se determinó la concentración basal de ILs y de TNF α en suero y su asociación entre respondedores y no respondedores según criterios de respuesta biológica y de respuesta clínica (en EC). Además se determinó el porcentaje de variación de la concentración de ILs y de TNF α con respecto al valor basal, a las 6 y 14 semanas aproximadamente del inicio de tratamiento.

3.6 Estudios genéticos de susceptibilidad y de respuesta al tratamiento

3.6.1 Muestras

Tanto para el estudio de susceptibilidad como para el estudio farmacogenético se utilizó como muestra la capa leucoplaquetar obtenida por centrifugación a 2500 rpm durante 5 minutos de los tubos de sangre de los pacientes en tratamiento con infliximab.

3.6.2 Extracción de ADN y cuantificación

Se realizó la extracción de ADN de las muestras de la capa leucoplaquetar obtenidas utilizando 2 métodos:

- El método del Salting-out utilizando el sistema de extracción automática del DNA Maxwell 16 y el kit de extracción del DNA para muestras de sangre (cat: AS1010) (Promega, Madison, USA)
- Método de purificación en columna Qiagen empleando el Kit Quiamp DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Alemania) y el equipo automatizado Quiacube (Qiagen, Hilden, Alemania).

Ambos protocolos se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

La cuantificación del ADN fue llevada a cabo mediante metodología de absorvancia UV utilizando el espectrofotómetro Biophotometer de Eppendorf (Hamburgo, Alemania).

3.6.3 Genotipado

3.6.3.1 Discriminación alélica por RFLP (V158F FcGIIIa)

La detección del polimorfismo V158F del FcGIIIa fue llevada a cabo por reacción de cadena de la polimerasa (RCP) anidada seguido de digestión con la endonucleasa de restricción Nla-III (Fermentas, Vilnius, Lituania). Posteriormente se realizó el análisis de polimorfismos de tamaño de fragmentos de restricción (RFLP). En la primera RCP, 1 µl de ADN (concentración media 60 ng/ml) fue amplificado en 10 µl de volumen que contenía 0,4 mM de dNTPs, 3 pmoles de cada cebador, 7,5 mMoles de MgCl₂ y 1 UI de Taq polimerasa GoTaq Flexi (Promega). 1 µl de la primera PCR fue amplificado utilizando primers bajo las mismas condiciones de la primera PCR, excepto por la temperatura de hibridación. 5 µl del amplicón obtenido de la segunda PCR fue digerido con 0,5 µl de la enzima de corte Nla-III en 10 µl de volumen durante 10 horas. El producto de la digestión fue analizado por electroforesis usando gel de agarosa de bajo punto de fusión al 2%. Las secuencias de los cebadores utilizados fueron para el alelo específico V, 5'-GGGGGGCCCCGGGGGTGATGTTTCACAGTCTGAGAAGACACATTTTACTCCCTAC-3' y para el alelo específico F, 5'-AGACACATTTTACTCCCATA-3'. Las condiciones de la RCP fueron las siguientes: 1 ciclo, 5 min/95°C; 23 o 24 ciclos, 30 s/95°C, 30s/55°C, 52°C o 30s/72°C, tal y como se describe en un trabajo previo (84).

3.6.3.2 Discriminación alélica por sondas Kaspar

La detección de los polimorfismos rs767455 (TNFR1A), rs20575 (TRAILR1) y rs1143634 (IL1B) se realizó utilizando sondas Kaspar basadas en una RCP competitiva alelo específica empleando la tecnología FRET (fluorescence resonance energy transfer) para la detección de genotipos. Para la realización de la RCP competitiva se utilizó el equipo de RCP a tiempo real 7500F de Applied Biosystems (Foster City, CA, EEUU) en placa de 96 pocillos.

Las RCP se realizaron bajo las siguientes condiciones: 94°C durante 15 minutos seguidos de 35 ciclos de 57°C durante 25 segundos y 72°C durante 40 segundos. Los detalles del método utilizado se pueden encontrar en <http://www.kbioscience.co.uk>.

3.6.3.3 Secuenciación

La detección de los polimorfismos del promotor del gen TNFα se realizó utilizando la técnica de secuenciación: 2 µl de DNA fueron amplificados en un volumen de 20 µl conteniendo 0.8 mM dNTPs, 3.75 mM MgCl₂, 0.5 U de Go-Taq polymerase (Promega, Madison, WI, USA) y 0.2 µM de cada uno de los siguientes primers TNF-NF (5'-GGAAGCAAAGGAGAAGCTGA-3') and TNF-CR (5'-AAAGTTGGGGACACACAAGC-3'). Las condiciones de los ciclos de la RCP fueron las siguientes: 5 min 95°C, a continuación 34 ciclos de 45 s a 94 °C, 45 s a 66°C y 20 s a 72 °C y un tiempo de extensión de 10 min a 72°C. Los amplicones fueron chequeados en una matriz de separación de DNA de alta resolución, QiAxcell, (cat:929002) en un aparato QiAxcell (Qiagen) y purificado utilizando el kit de purificación Qiaquick 96 PCR (Cat: 28181) en un aparato Qiavac 96, ambos proporcionados por Qiagen de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los productos purificados fueron doblemente secuenciados utilizando TNF-NF y TNF-CR primers en un analizador genético ABI Prism 3130 (Applied Biosystems, Foster City, CA).

3.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico fue realizado utilizando el programa Epidat versión 3.1 (Xunta de Galicia, A Coruña, España; Pan American Health Organization (Who), Washington DC, USA; 2005). Se empleó el test de χ^2 de Pearson para el análisis de la distribución de genotipos de casos y controles en el estudio de susceptibilidad y para la asociación de genotipos con el grado de respuesta al tratamiento en el estudio farmacogenético. La comparación de medias para variables continuas se realizó con el test t de student.

La confirmación de que los genotipos cumplían con el equilibrio de Hardy-Weinberg se calculó utilizando la calculadora on-line disponible en www.tufts.edu.

En todos los análisis se consideró $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 ATENCIÓN FARMACÉUTICA

De los pacientes incluidos en el estudio se realizó seguimiento farmacoterapéutico a un total de 25 pacientes.

Entrevista (n)	Adherencia (SD)	Calidad de vida (SD)	TSQM			
			Efectividad (SD)	Seguridad (SD)	Administración (SD)	Satisfacción (SD)
1 (25)	96,1 (6,5)	65,0 (10,5)	66,7 (20,4)	85,5 (24,3)	69,3 (15,4)	67,4 (16,1)
2 (18)	98,4 (4,1)	65,8 (11,7)	67,6 (27,9)	90,3 (23,1)	71,9 (15,5)	64,4 (17,8)
p	0,194	0,815	0,903	0,518	0,589	0,567

Tabla 10. Puntuación media obtenida y desviación estándar de los cuestionarios de adherencia, calidad de vida y satisfacción con la medicación (TSQM)

Las puntuaciones obtenidas en los cuestionarios tras la 2ª entrevista fueron ligeramente superiores excepto en el caso del cuestionario TSQM en el que la satisfacción global fue ligeramente inferior, aunque no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto a los problemas relacionados con la medicación, el 44% de los pacientes presentaron resultados negativos asociados con la medicación (RNM) de seguridad. El RNM de seguridad más significativo fue una reacción tipo lupus que supuso la suspensión del tratamiento con infliximab.

4.2. CONCENTRACIÓN DE INTERLEUQUINAS Y DE TNF ALPHA EN SUERO

4.2.1 DIFERENCIAS EN LA CONCENTRACIÓN DE CITOCINAS EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA.

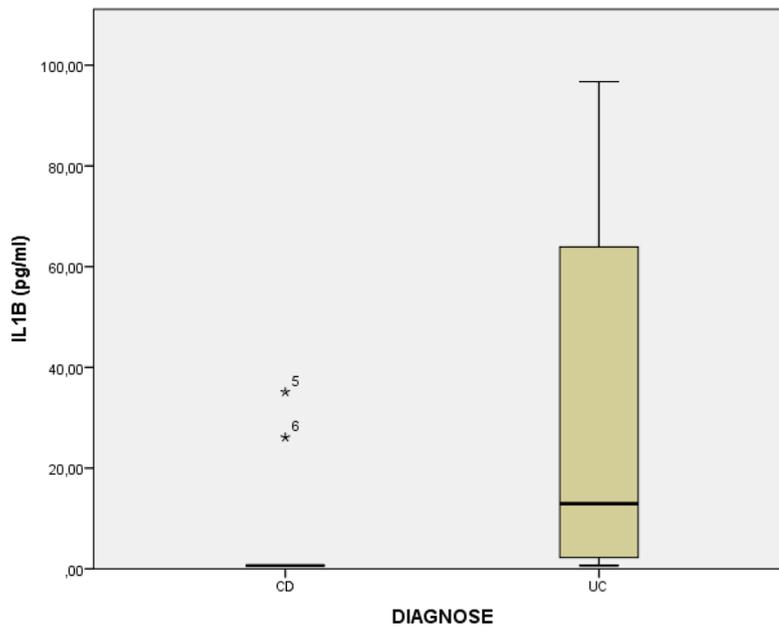
Se observó una mayor concentración basal media de IL1, IL6 y de TNF α en pacientes diagnosticados de CU frente a pacientes diagnosticados de EC con diferencias estadísticamente significativas (IL1 EC: 4,16 \pm 10,08, CU: 34,66 \pm 42,86, p=0,0097; IL6 EC: 17,05 \pm 12,48, CU: 42,47 \pm 28,93 p=0,0453; TNF α EC: 5,37 \pm 1,67 CU: 8,34 \pm 2,49 p=0,0024).

Además se observó que los valores basales de IL1 eran significativamente más bajos (\leq 0,64) en la mayoría de pacientes con EC que en pacientes con CU (p=0,0035) y que los valores basales de TNF α eran significativamente más elevados ($>$ 6) en pacientes con CU (p=0,0465).

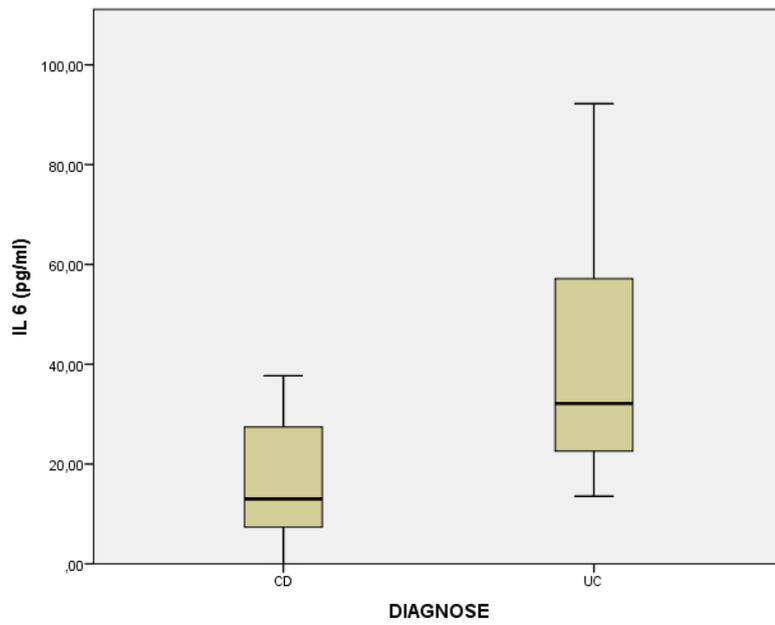
		MEDIA (SD)	P
IL1 pg/ml	EC	4,16 (10,08)	0,0097
	CU	34,66 (42,86)	
IL6 pg/ml	EC	17,05 (12,48)	0,0453
	CU	42,47 (28,93)	
IL8 pg/ml	EC	29,37 (11,67)	0,871
	CU	28,42 (15,63)	
IL10 pg/ml	EC	16,91 (19,60)	0,998
	CU	16,89 (19,33)	
TNF α pg/ml	EC	5,37 (1,67)	0,0024
	CU	8,34 (2,49)	

Tabla 11. Diferencias en la concentración media de citocinas en EC y CU

A)



B)



C)

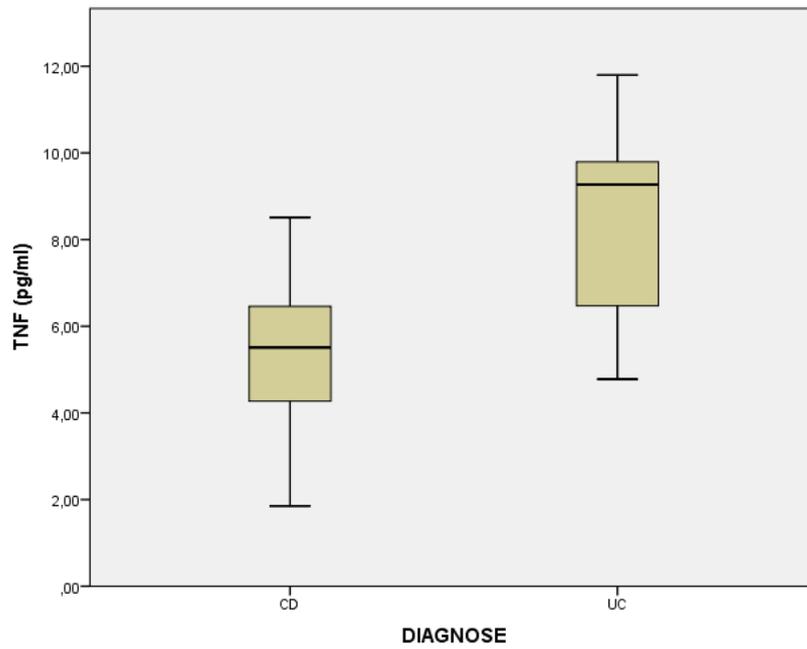


Figura 7. Diferencias en la concentración sérica basal de IL1B (A), IL6 (B) y TNF (C) entre pacientes diagnosticados de EC y CU.

4.2.2 ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE IL1B EN SUERO Y EL GENOTIPO IL1B

Para estudiar la asociación entre la concentración basal de IL1 en suero y el polimorfismo rs1143634 del gen de IL1B se consideró a los pacientes diagnosticados de EII en conjunto. Se observó que los pacientes portadores del genotipo mayoritario CC presentaban valores de IL1 > 0,64 ($p=0,0497$). La concentración media sérica basal de IL1 fue mayor en los pacientes con el genotipo mayoritario CC con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0345$).

IL1 pg/ml			
IL1B	>0,64	<= 0,64	Media (DE)
CC	7	9	19,27 (32,05)
TC/TT	0	6	0,64 (0)
p	0,0497		0,0345

Tabla 12. Concentración de IL1 y asociación con los genotipos de IL1B

4.2.3 ASOCIACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE TNF α EN SUERO Y LOS GENOTIPOS DEL TNF

Para estudiar la asociación entre la concentración basal de TNF α en suero y los polimorfismos del gen promotor del TNF se consideraron a los pacientes con EII en conjunto.

Se observó que los pacientes portadores del genotipo CC (mayoritario) del polimorfismo rs1799724 y del polimorfismo rs3093548 presentaban valores elevados de TNF α (>5) con diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0386$ y $p=0,0189$ respectivamente) con respecto a los genotipos minoritarios.

Al analizar los datos por comparación de medias los pacientes portadores del genotipo mayoritario (CC) del polimorfismo rs1799724 presentan una mayor concentración media basal del TNF α en comparación con los pacientes portadores de los genotipos minoritarios, CT/TT ($p=0,026$).

	Media (DE)		p	TNF-alpha >5	TNF-alpha <=5	p
rs1799964	TT	5,8 (2,5)	0,767	3	3	0,21
	TC/CC	6,27 (0,76)		2	0	
rs4647198	CC	5,18 (2,52)	0,419	4	3	0,175
	CT/TT	6,47 (0,45)		3	0	
rs1800630	CC	5,2 (2,7)	0,695	4	3	0,554
	CT/TT	5,77 (0,75)		3	1	

rs1799724	CC	5,88 (2,03)	0,026	7	2	0,0386
	CT/TT	3,25 (0,71)		0	2	
rs4248158	CC	5,4 (2,4)	0,995	5	3	0,898
	CT/TT	5,41 (1,45)		2	1	
rs4987086	GG	5,67 (2,43)	0,771	6	2	0,387
	GA/AA	5,27 (1,34)		2	2	
rs4248159	CC	4,93 (1,78)	0,077	5	4	0,157
	CT/TT	7,35 (2,07)		3	0	
rs2736195	AA	5,89 (2,46)	0,842	7	3	0,913
	AG/GG	5,58 (1,65)		2	1	
rs4248160	GG	5,31 (1,73)	0,135	7	3	0,913
	GA/AA	7,54 (3,28)		2	1	
rs1800195	GG	-	-	9	4	0,1638
	GA/AA	-		0	1	
rs3093548	CC	6,42 (2,16)	0,0991	9	1	0,0189
	CT/TT	4,87 (1,39)		3	5	
rs55994001	CC	5,78 (2,23)	0,435	9	4	0,658
	CT/TT	6,5 (1,87)		7	2	
rs55634887	GG	5,82 (2,33)	0,581	8	4	0,484
	GA/AA	6,38 (2,35)		8	2	
rs1800750	GG	5,92 (1,77)	0,822	11	4	0,371
	GA/AA	6,13 (2,65)		5	4	
rs1800629	GG	5,702 (1,9)	0,207	12	6	0,567
	GA/AA	7,04 (2,47)		4	1	

Tabla 13. Concentración de TNF α y asociación con los genotipos del promotor del gen TNF

4.3. ESTUDIO GENÉTICO DE SUSCEPTIBILIDAD

El estudio de susceptibilidad para los diferentes polimorfismos seleccionados se realizó comparando los pacientes a estudio (casos) frente a una población exenta de enfermedad (controles).

Se confirmó que la frecuencia de los genotipos de los polimorfismos de FcGIIIa, TRAILR1, TNFR1A, IL1B y del promotor del gen TNF cumplían el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y los controles en cuanto al sexo. En términos de edad los casos eran más jóvenes que los controles con diferencias estadísticamente significativas.

	N	SEXO		P	Edad (SD)	p
		M (%)	V (%)			
CASOS EC	58	31 (53,4)	27 (46,6)	0,984	39,8 (14,6)	<0,00001
CASOS CU	21	10 (47,6)	11 (52,4)	0,619	45,1 (14,7)	0,0004
CONTROLES	212	113 (53,3)	99 (46,7)	---	52,4 (8,2)	--

Tabla 14. Características de los casos (pacientes con EC y CU) y controles.

4.3.1 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs396991 EN EL GEN FcGIIIa EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución por genotipos del polimorfismo rs396991 entre casos y controles en EC y en CU. No se incluyeron en el estudio 36 controles debido a diferencias con respecto a la edad de los casos.

Se observó una mayor frecuencia del alelo F en los controles que en los pacientes con EC con una ligera significación ($p = 0,0494$).

GRUPO	ALELOS (%)		p
	F	V	
CASOS EC	64 (55,2)	52 (44,8)	0,0494
CONTROLES EC	230 (65,3)	122 (34,7)	
CASOS CU	24 (57,1)	18 (42,9)	0,294
CONTROLES CU	230 (65,3)	122 (34,7)	

Tabla 15. Distribución de alelos para el rs396991 en EC y CU.

4.3.2 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs1143634 EN EL GEN IL1B EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

No se observó significación en la distribución por genotipos del polimorfismo rs1143634 entre EC y CU y los controles.

No se incluyeron en el estudio 20 controles y 5 casos de EC debido a la falta de datos de genotipado.

GRUPO	n	GENOTIPOS			p
		CC (%)	CT (%)	TT (%)	
Casos EC	53	36 (67,9)	13 (24,5)	4 (7,5)	0,279
Controles EC	192	127 (66,1)	59 (30,7)	6 (3,1)	
Casos CU	21	14 (66,7)	7 (33,3)	0	0,705
Controles CU	192	127 (66,1)	59 (30,7)	6 (3,1)	

Tabla 16. Distribución de genotipos para el rs1143634 en EC y CU

4.3.3 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs767455 EN EL GEN TNFR1A EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

En la distribución por genotipos del polimorfismo rs767455 no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los casos y los controles.

GRUPO	n	GENOTIPOS			p
		AA (%)	AG (%)	GG (%)	
Casos EC	58	26 (44,8)	21 (36,2)	11 (19)	0,358
Controles EC	212	78 (36,8)	99 (46,7)	35 (16,5)	
Casos CU	21	12 (57,1)	7 (33,3)	2 (9,5)	0,184
Controles CU	212	78 (36,8)	99 (46,7)	35 (16,5)	

Tabla 17. Distribución de genotipos para el rs767455 en EC y CU

4.3.4 ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD DEL POLIMORFISMO rs20575 EN EL GEN TRAILR1 EN ENFERMEDAD DE CROHN Y COLITIS ULCEROSA

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la distribución por genotipos del polimorfismo rs20575 y los casos y los controles estudiados.

No se incluyeron en el estudio 8 controles y 1 caso de CU debido a la falta de datos de genotipado.

GRUPO	n	GENOTIPOS			p
		GG (%)	GC (%)	CC (%)	
Casos EC	58	17 (29,3)	29 (50)	12 (20,7)	0,884
Controles EC	204	54 (26,5)	103 (50,5)	47 (23,04)	
Casos CU	20	7 (35)	6 (30)	7 (35)	0,208
Controles CU	204	54 (26,5)	103 (50,5)	47 (23)	

Tabla 18. Distribución de genotipos para el rs20575 en EC y CU.

4.4 ESTUDIO FARMACOGENETICO

Se incluyeron en el estudio farmacogenético un total de 58 pacientes en tratamiento con infliximab de los cuales 40 pacientes fueron diagnosticados de EC y el resto de CU.

En cuanto a las características de la población incluida en el estudio, se observó que los pacientes con EC eran diagnosticados a una edad media más temprana y eran tratados previamente con fármacos moduladores de la enfermedad (FAME) con mayor frecuencia ($p=0,0149$ y $p=0,0138$ respectivamente). En el resto de características de la población no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con EC y pacientes con CU.

	EC (n:40)	CU (n:18)	p
Edad dx media (SD)	30,2 (12,6)	39,67 (14,98)	0,0149
Mujeres nº (%)	25 (62,5)	9 (50)	0,371
Tratamiento previo			
FAME nº (%)	38 (95)	13 (72,2)	0,0138
Corticoides nº (%)	16 (40)	11 (61,1)	0,136
AINES nº (%)	5 (12,5)	6 (33,3)	0,0612
Características bioquímicas			
PCR mg/dl (SD)	1,8 (2,4)	1,4 (2,1)	0,545

Tabla 19. Características de la población incluida en el estudio farmacogenético

4.4.1 INFLUENCIA DE LA CONCENTRACIÓN DE INTERLEUQUINAS EN SUERO Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

En EC no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre respondedores y no respondedores y la concentración basal de las citocinas objeto de estudio en suero. Pero se observó que los pacientes respondedores según criterios de respuesta clínica a los 3 meses aproximadamente del inicio del tratamiento presentaban valores de IL10 más elevados aunque sin llegar a la significación (R: 20,96±26,59 y NR: 14,07±13,79 p= 0,494). Igualmente, los pacientes no respondedores según criterios de respuesta biológica a los 3 meses del inicio presentaban valores de IL1 más elevados aunque sin alcanzar la significación (NR: 7,5±15,4 y R: 2,76±7,35 p= 0,39).

Al considerar el porcentaje de variación de la concentración sérica de citocinas en los pacientes con EC se observó que la mayoría de pacientes respondedores según criterios de respuesta clínica a los 3 meses no presentaban variación en la concentración de IL1 a los 6 meses con respecto al valor basal mientras que la mayoría de pacientes no respondedores si que presentaron variación (R(%): 85,7, % de Variación=0 NR(%): 30 ,% de variación=0 p=0,0235).

IL-1 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>0	0	>0	0	N	MEDIA (SD)
Respuesta clínica	R	2	5	1	6	7	4,28 (9,49)
	NR	3	7	7	3	10	4,09 (10,90)
	p	0,949		0,0235			0,971
Respuesta biológica EC	R (3m)	3	9	7	5	12	2,76 (7,35)
	NR (3m)	2	3	1	4	5	7,53 (15,42)
	p	0,536		0,149			0,391
	R (6m)	3	8	7	4	-	-
	NR (6m)	2	4	1	5	-	-
	p	0,793		0,0637			-
IL-6 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>100	≤100	>100	≤100	N	MEDIA (SD)
Respuesta clínica	R	4	2	1	6	7	16,21 (13,07)
	NR	3	7	1	9	10	17,64 (11,57)
	p	0,152		0,787			0,816

Respuesta biológica EC	R (3m)	5	6	1	11	12	17,39 (12,55)
	NR (3m)	2	3	1	4	5	16,23 (14,08)
	p	0,839		0,496			0,867
	R (6m)	5	5	1	10		-
	NR (6m)	2	4	0	5		-
	p	0,515		0,643			

Tabla 20. Asociación entre la concentración de IL1 y IL6 en suero y la respuesta clínica y biológica en EC

Además se observó que los pacientes no respondedores según criterios de respuesta biológica a los 3 meses presentaban una variación >50% con respecto al valor basal en la concentración de IL10 mientras que en los no respondedores no se observó esta diferencia (R(%): 100, % de variación >50% NR(%): 50, % de variación >50% p=0,0493). Así mismo, se observó que los pacientes no respondedores según criterios de respuesta clínica presentaban una variación >50% en la concentración de IL8 a los 6 meses del inicio (8 pacientes, % de variación >50 frente 2 pacientes % de variación ≤50; p=0,034).

IL8 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>50	≤50	>50	≤50	N	Media (SD)
Respuesta clínica	R	5	2	2	5	7	30,63 (12,43)
	NR	3	7	8	2	10	28,49 (11,60)
	p	0,0921		0,034			0,797
Respuesta biológica EC	R (3m)	5	7	8	4	12	29,37 (10,20)
	NR (3m)	3	2	2	3	5	29,36 (16,08)
	p	0,490		0,309			0,14
	R (6m)	4	7	8	3		-
	NR (6m)	4	2	2	4		-
	p	0,232		0,115			
IL-10 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>50	≤50	>50	≤50	N	MEDIA (SD)
Respuesta clínica	R	5	2	2	5	7	20,96 (26,59)
	NR	6	4	7	3	10	14,07 (13,79)

	p	0,628		0,0921			0,494
Respuesta biológica EC	R (3m)	6	6	6	6	12	29,22 (41,51)
	NR (3m)	5	0	3	2	5	20,06 (27,02)
	p	0,0493		0,707			0,636
	R (6m)	6	5	6	5	-	-
	NR (6m)	5	1	3	3	-	-
	p	0,2352		0,839			-

Tabla 21. Asociación entre la concentración de IL8 y IL10 en suero y la respuesta clínica y biológica en EC
 Por otro lado, se observó una tendencia a que los pacientes respondedores según criterios de respuesta clínica presentaran una variación $\leq 25\%$ en la concentración de TNF α a los 6 meses del inicio ($p=0,0595$).

TNF α pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>25	≤ 25	>25	≤ 25	N	MEDIA (SD)
Respuesta clínica	R	5	2	1	6	7	5,68 (0,75)
	NR	5	5	6	4	10	5,14 (2,06)
	p	0,377		0,0595			0,517
Respuesta biológica EC	R (3m)	7	5	6	6	12	5,40 (1,95))
	NR (3m)	3	2	1	4	5	5,3 (0,8)
	p	0,949		0,252			0,919
	R (6m)	7	4	6	5		-
	NR (6m)	3	3	1	5		-
	p	0,585		0,129			

Tabla 22. Asociación entre la concentración de TNF α en suero y la respuesta clínica y biológica en EC

En CU no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre respondedores y no respondedores y la concentración sérica basal de citocinas. Se observó que los pacientes respondedores según criterios de respuesta biológica a los 3 meses del inicio presentaban valores elevados de IL10 basal pero sin alcanzar la significación (R: $24,59 \pm 23,60$ y NR: $6,62 \pm 2,96$ $p=0,257$).

Al considerar el porcentaje de variación de la concentración de interleuquinas y del TNF α en suero en CU, la mayoría de los pacientes respondedores según criterios de respuesta biológica a los 6 meses del inicio presentaban una variación de la concentración de IL8, a los 3 meses con respecto al valor basal, $\leq 50\%$ con diferencias estadísticamente significativas (R (%):100,

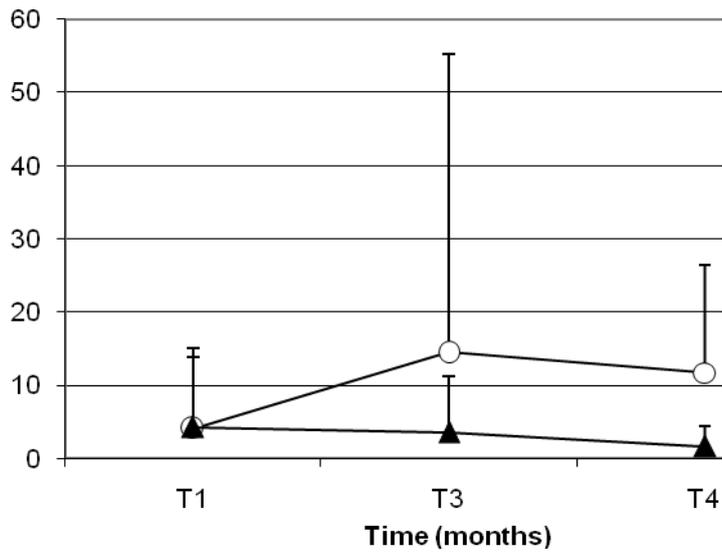
%V≤50 vs NR(%): 25; p=0,0472) y una variación en la concentración de IL10, a los 6 meses con respecto al valor basal ≤ 50% (3 pacientes, %V≤50 y ninguno, %V>50; p=0,0472) .

IL 8 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>50	≤50	>50	≤50	N	MEDIA (SD)
Respuesta biológica CU	R (3m)	1	3	3	1	5	21,82 (10,60)
	NR (3m)	2	1	2	1	3	1383,92 (2324,94)
	p	0,270		0.809			0,279
	R (6m)	0	3	2	1	3	21,12 (12,86)
	NR (6m)	3	1	3	1	4	1043,92 (2016,43)
	p	0,0472		0,809			0,430
IL-10 pg/ml		T1		T2		BASAL	
		>50	≤50	>50	≤50	N	MEDIA (SD)
Respuesta biológica CU	R (3m)	3	1	1	3	4	24,59 (23,60)
	NR (3m)	2	1	2	1	3	6,62 (2,96)
	p	0,809		0,270			0,257
	R (6m)	3	0	0	3	3	14,35 (14,39)
	NR (6m)	2	2	3	1	4	18,79 (24,45)
	p	0,147		0,047			0,794

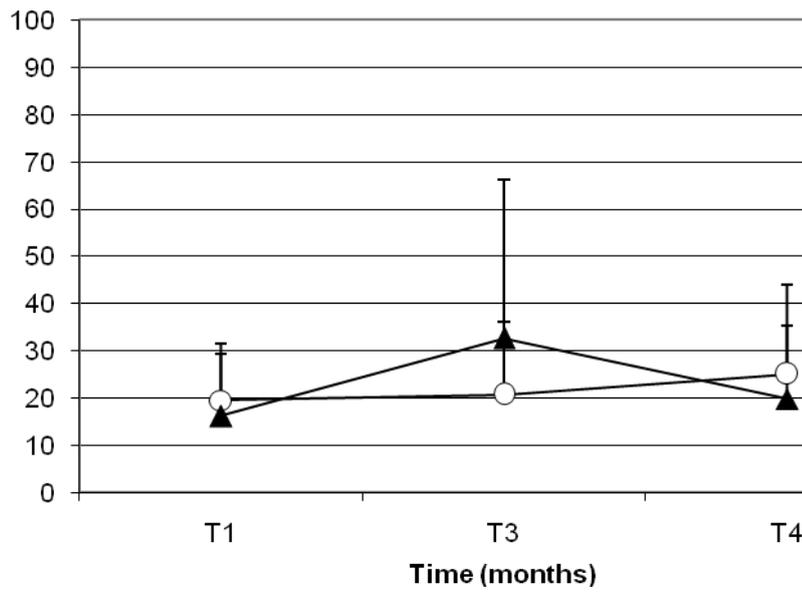
Tabla 23. Asociación entre la concentración de IL8 e IL10 en suero y la respuesta biológica en CU

En el resto de interleuquinas estudiadas y en el TNF α no se observaron datos relevantes.

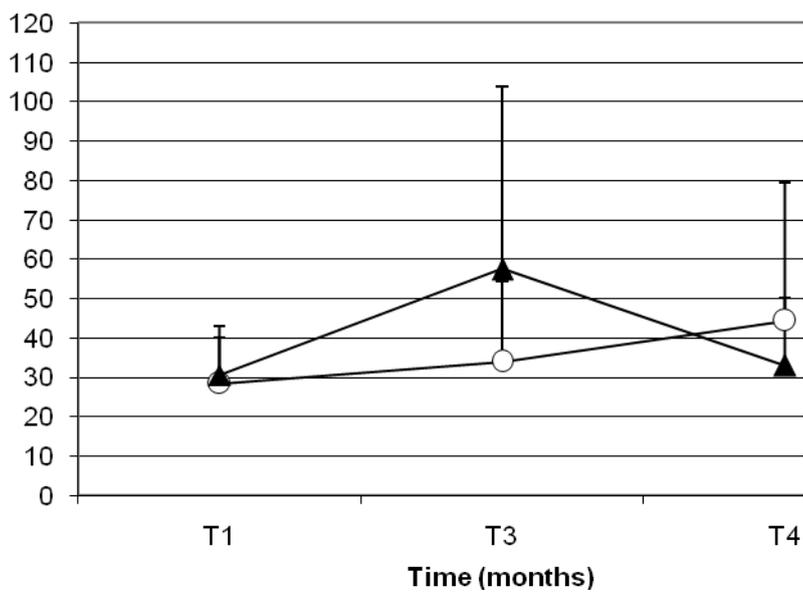
A)



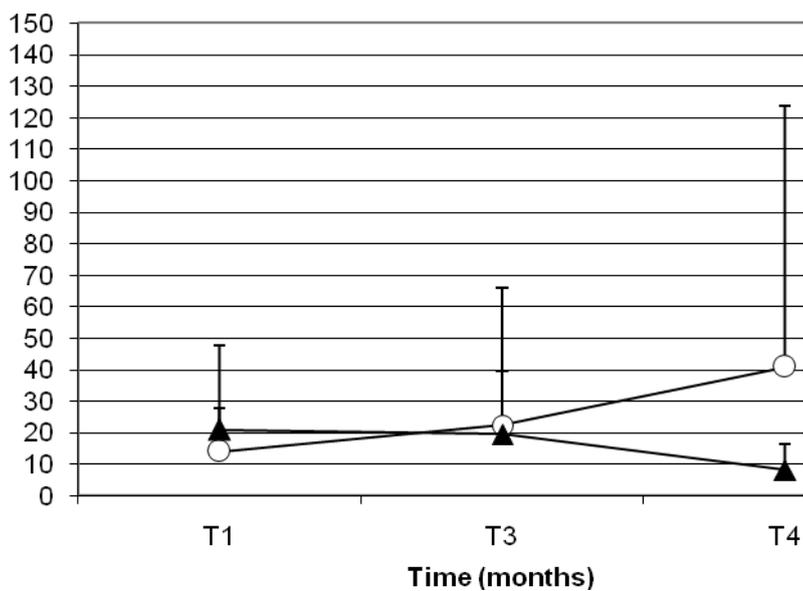
B)



C)



D)



E)

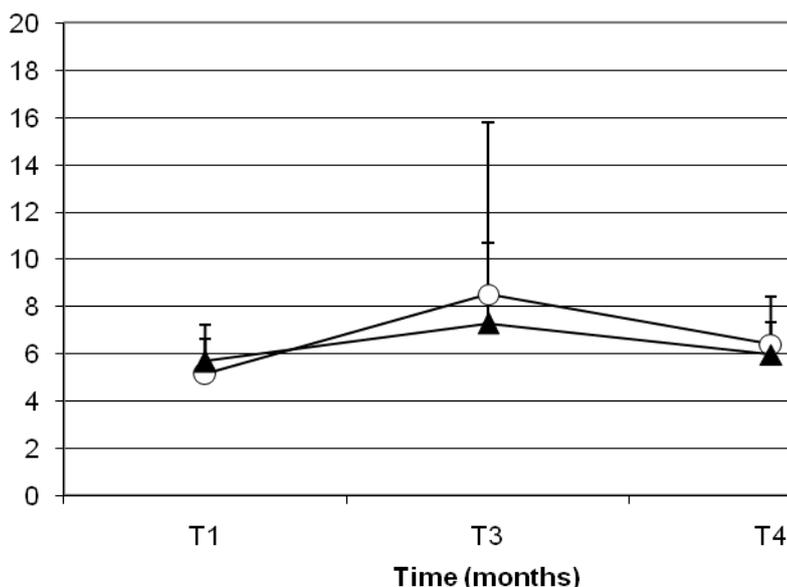


Figura 8. Concentración sérica de IL1B (A), IL6 (B), IL8 (C), IL10 (D) y TNF (E) tras el inicio de infliximab en respondedores y no respondedores según criterios de respuesta clínica (CDAI).

4.4.2 INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS GENOTIPOS Y LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

4.4.2.1 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO V158F FcGRIIIA EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

La distribución por genotipos fue de 42,5 % FF, 35 % FV y 22,5 % VV en el caso de EC y de 38,9 % FF, 38,9 % FV y 22,2 % VV en el caso de CU.

En EC no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según criterios de respuesta biológica utilizados. En cambio se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,0047$) a los 3 meses aproximadamente del inicio del tratamiento (4ª dosis de infliximab) entre los pacientes con genotipo FV y VV y no remisión según criterios de respuesta clínica, al igual que al considerar la distribución por alelos ningún paciente con alelo V alcanzó la remisión ($p=0,0043$).

EC		FcGIIIa			p*
		FF	FV	VV	
CDAI	Re	5	0	0	0,0047
	NRe	9	11	8	

Tabla 24. Remisión clínica con infliximab según distribución por genotipos del polimorfismo V158F en EC

P*: obtenida al agrupar los genotipos FV+VV vs FF

EC		FcGIIIa		
		F	V	p
PCR (3m)	R	22	14	0.203
	NR	2	4	
PCR (6m)	R	13	11	0.581
	NR	4	2	
CDAI (4D)	R	16	10	0.744
	NR	23	17	
CDAI (post)	R	8	8	0.378
	NR	8	4	
CDAI (4D)	Re	10	0	0,0043
	NRe	29	27	
CDAI (post)	Re	4	2	0.595
	NRe	12	10	

Tabla 25. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo V158F en EC

En CU no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según los criterios de respuesta biológica utilizados.

CU		FcGIIIa		
PCR		F	V	p
3m	R	9	5	0,202
	NR	2	4	
6m	R	9	5	0,308
	NR	2	0	

Tabla 26. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo V158F en CU

4.4.2.2 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs1143634 DEL GEN DE LA IL1B EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

La distribución por genotipos fue de 63,9 % CC, 27,8 % TC y 8,3% TT en el caso de EC y de 72,2 % CC y 27,8 % TC en el caso de CU.

En EC no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos o alelos de este polimorfismo y la respuesta biológica a infliximab a los 3, 6 y 12 meses del inicio. En cambio al considerar la respuesta clínica se observó una tendencia a la significación a los 3 meses aproximadamente de tratamiento al comparar los pacientes con alelo C con respecto a los del alelo T siendo más frecuente la no respuesta clínica ($p= 0.051$) entre los pacientes portadores del alelo C y diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la no remisión ($p=0.0275$) entre estos mismos pacientes. Esta asociación en cuanto a la no remisión clínica también se observó pasados los 3 meses ($p=0.0422$)

En CU no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según los criterios de respuesta biológica utilizados.

EC		IL1B		p
		C	T	
PCR (3m)	R	23	9	0.221
	NR	4	0	
PCR (6m)	R	18	4	0.112
	NR	3	3	
CDAI (4D)	R	13	7	0.051
	NR	33	5	
CDAI (post)	R	10	4	0.269
	NR	9	1	
CDAI (4D)	Re	4	4	0.0275
	NRe	42	8	
CDAI (post)	Re	3	3	0.0422
	NRe	16	2	

Tabla 27. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo rs1143634 en EC

CU		IL1B		
PCR		C	T	p
3m	R	12	2	0.891
	NR	5	1	
6m	R	12	2	0.567
	NR	2	0	

Tabla 28. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo rs1143634 en EC

4.4.2.3 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs767455 DEL GEN TNFR1A EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

La distribución por genotipos fue de 47,5% AA, 30% AG y de 22,5% GG en el caso de EC y de 61,1 % AA, 27,8 % AG y 11,1 % GG en el caso de CU.

En EC se observó una tendencia a la significación a los 3 meses aproximadamente de inicio de tratamiento con infliximab entre los pacientes con genotipos portadores del alelo G (AG/GG) y no respuesta según criterios de respuesta clínica (AG/GG: 76,5 %; AA: 43,8% p=0,0545).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos o alelos de este polimorfismo y la respuesta biológica a infliximab en pacientes con EC.

En el caso de la CU se observaron diferencias estadísticamente significativas a los 3 meses del inicio de tratamiento entre los pacientes con alelo G y respuesta positiva según criterios de respuesta biológica frente a los pacientes con alelo A (p=0,0281).

		TNFR1A		
		AA	AG/GG	p
CDAI (3m)	R	9	4	0,0545
	NR	7	13	

Tabla 29. Asociación de los genotipos AG+GG frente a AA para el polimorfismo del TNFR1A rs767455 según criterios de respuesta clínica en EC

EC		TNFR1A		
		A	G	p
PCR (3m)	R	22	14	0,607
	NR	3	3	
PCR (6m)	R	13	11	0,581
	NR	4	2	
CDAI (4D)	R	20	6	0,0704
	NR	22	18	
CDAI (post)	R	10	6	0,82
	NR	8	4	
CDAI (4D)	Re	6	4	0,795
	NRe	36	20	
CDAI (post)	Re	2	4	0,0742
	NRe	16	6	

Tabla 30. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo del TNFR1A rs767455 en EC

CU		TNFR1A		
PCR		A	G	p
3m	R	13	1	0,0281
	NR	3	3	
6m	R	12	2	0,568
	NR	2	0	

Tabla 31. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo del TNFR1A rs767455 en CU

4.4.2.4 INFLUENCIA DEL POLIMORFISMO rs20575 DEL GEN TRAILR1 EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

La distribución por genotipos fue de 35% GG, 45%CG y 20% CC en el caso de EC y 23,5% GG, 35,3% CG y 41,2% en el caso de CU.

En el caso de EC se observó una mayor tasa de respuesta biológica positiva a los 6 meses del inicio de tratamiento en los pacientes con alelo G aunque sin alcanzar la significación ($p=0,0528$). Al considerar los criterios de respuesta clínica no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos o alelos del polimorfismo estudiado.

En el caso de CU no se observaron diferencias estadísticamente significativas al considerar los genotipos o alelos del polimorfismo TRAILR1 rs20575 y la respuesta a infliximab a los 3, 6 y 12 meses del inicio.

EC		TRAILR1		
		G	C	p
PCR (3m)	R	25	11	0,35
	NR	3	3	
PCR (6m)	R	18	6	0,053
	NR	2	4	
CDAI (4D)	R	17	9	0,66
	NR	24	16	
CDAI (post)	R	11	5	0,315
	NR	6	6	
CDAI (4D)	Re	7	3	0,577
	NRe	34	22	
CDAI (post)	Re	4	2	0,736
	NRe	13	9	

Tabla 32. Respuesta al tratamiento según genotipos y alelos del polimorfismo rs20575 en EC

CU		TRAIL		
PCR		G	C	p
3m	R	7	7	0,0704
	NR	0	4	
6m	R	5	7	0,826
	NR	1	1	

Tabla 33. Respuesta al tratamiento según alelos del polimorfismo rs20575 en CU

4.4.2.5 INFLUENCIA DE LOS DISTINTOS POLIMORFISMOS DEL PROMOTOR DEL GEN TNF EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON INFLIXIMAB

Para el estudio de los polimorfismos del promotor del gen TNF se consideraron a los pacientes con EII en conjunto.

Se estudiaron los polimorfismos rs1799964, rs4647198, rs1800630, rs1799724, rs4248158, rs4987086, rs4248159, rs2736195, rs4248160, rs3093548, rs55994001, rs55634887, rs1800750 y rs1800629.

En el caso del polimorfismo rs1799964 se observó asociación entre pacientes no respondedores según criterios de respuesta clínica (CDAI) a los 3 meses aproximadamente del inicio del tratamiento y el alelo T (T: 66,7% vs C: 0 p= 0,0455).

Al estudiar el polimorfismo rs4248158 se observó un mayor porcentaje de pacientes con genotipo CC y no respondedores según criterios de respuesta biológica a los 6 meses del inicio con diferencias estadísticamente significativas (CC: 75% vs CT: 0 p=0,0261). Asimismo se observó la misma tendencia al considerar la presencia de los alelos (C: 41,4% vs T: 0 p= 0,0412).

El polimorfismo rs2736195 presentó una mayor tasa de no respuesta biológica a los 6 meses del inicio del tratamiento en el caso de pacientes con genotipo AA con diferencias estadísticamente significativas (AA: 70 % vs AG: 0 p=0,0329). Además al considerar los alelos por separado también se observó una mayor tasa de no respuesta biológica a los 6 meses del tratamiento en los pacientes con el alelo A (A: 60.9% vs G: 0 p= 0,0467).

Por último, al considerar el polimorfismo rs1800750 se observó una tendencia a la no respuesta biológica a los 6 meses del inicio en el caso de pacientes con el genotipo GA sin alcanzar la significación (p=0,0567).

Para el resto de polimorfismos estudiados no se observaron diferencias estadísticamente significativas (datos no mostrados).

rs1799964		TT	TC	CC	p	T	C	p
PCR (3m)	R	3	0	1	0,202	6	2	1
	NR	2	2	0		6	2	
PCR (6m)	R	2	0	1	0,237	4	2	0,551
	NR	3	2	0		8	2	
CDAI (4D)	R	1	1	1	0,223	3	3	0,0455
	NR	3	0	0		6	0	
rs4248158		CC	CT	p		C	T	P
PCR (3m)	R	4	3	0,125		11	3	0,159
	NR	4	0			8	0	
PCR (6m)	R	2	3	0,0261		4	3	0,0412
	NR	6	0			12	0	
CDAI (4D)	R	2	1	0,6763		5	1	0.6963
	NR	4	1			9	1	
rs2736195		AA	AG	p		A	G	p
PCR (3m)	R	5	3	0,119		13	3	0,145
	NR	5	0			10	0	
PCR (6m)	R	3	3	0,0329		9	3	0,0467
	NR	7	0			14	0	
CDAI (4D)	R	3	0	0,257		6	0	0,289
	NR	4	2			10	2	
rs1800750		GG	GA	p		G	A	p
PCR (3m)	R	12	4	0,136		28	4	0.186
	NR	3	4			10	4	
PCR (6m)	R	10	2	0,0567		22	2	0,0905
	NR	5	6			16	6	

CDAI (4D)	R	4	2	0,889	10	2	0.9
	NR	7	3		17	3	

Tabla 34. Respuesta al tratamiento según genotipos y alelos de varios polimorfismos del gen promotor del TNF

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

5.1 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

El desarrollo de las terapias biológicas ha supuesto un cambio significativo en el tratamiento de la EII, utilizándose como alternativa terapéutica en aquellos pacientes refractarios a la terapia convencional; pero estos agentes presentan una eficacia parcial, de hecho únicamente el 50% de los pacientes aproximadamente alcanzan una respuesta positiva con los mismos. Por otro lado, estas terapias no están exentas de importantes efectos adversos. Si a estos factores se le añade su elevado coste se hace necesario optimizar su uso.

Para ello actualmente se dispone de herramientas como el SFT y la farmacogenética que nos permiten evaluar la influencia de determinados factores ambientales y genéticos en la respuesta a determinados fármacos.

En este contexto, se podría predecir si un determinado fármaco va a ser eficaz en un determinado paciente, evitando reacciones adversas y costes innecesarios; lo que se traduciría en un mejor perfil de aceptación, tolerabilidad, efectividad y seguridad.

Actualmente disponemos de dos anti TNF de eficacia demostrada en EII, infliximab y adalimumab.

Infliximab es el único que está autorizado tanto para el tratamiento de EC como de CU. Por lo tanto nuestro estudio se ha centrado en la utilización de infliximab.

El SFT parece mejorar la adherencia al tratamiento, no solo a infliximab sino al resto de terapias concomitantes, aunque sin diferencias estadísticamente significativas. Tanto la calidad de vida como el grado de satisfacción con la medicación mejoran ligeramente con el tratamiento con infliximab. Esta mejoría no se observa en la satisfacción global debido probablemente a que infliximab es un tratamiento que no está exento de las complicaciones derivadas de las terapias intravenosas, ni de reacciones adversas, además los pacientes se deben trasladar al hospital para su administración.

La mayoría de resultados negativos asociados con la medicación observados en nuestro estudio fueron de seguridad, aunque únicamente uno de ellos supuso la suspensión del tratamiento (reacción tipo lupus).

Sería necesario un seguimiento más exhaustivo y durante más tiempo para poder evaluar los beneficios del SFT en los pacientes con terapias crónicas.

Aunque la etiología tanto de EC como de CU permanece desconocida, parece ser que una actividad inmune anormal puede estar relacionada con el desarrollo de estas enfermedades. En particular, las citocinas proinflamatorias se han descrito como factores importantes. A pesar de que la EC y la CU difieren en distintos aspectos tales como el grado de extensión de la lesión no hay muchos estudios que analicen si existe un perfil característico de concentraciones séricas de interleuquinas que pueda distinguir una entidad de otra. Por ello, el estudio de la asociación de diversas citocinas con EC o CU puede ayudar a entender mejor la etiología de estas enfermedades y sus diferencias.

Los valores basales de IL6 se correlacionan con los resultados mostrados en algunos estudios, donde se observa una mayor concentración de esta citocina en pacientes con CU comparado con sujetos sanos (88). Igualmente, en otro estudio se observó una concentración sérica de TNF α más elevada en pacientes con EII que en sujetos sanos (89). Estos y otros estudios nos sugieren que la concentración de citocinas proinflamatorias es mayor en sujetos con EII que en controles sanos y por tanto que sería más interesante centrarse en las posibles diferencias

entre CU y EC que no está tan estudiado. En nuestro estudio se observó que los pacientes con CU presentaban una mayor concentración basal de las citocinas IL1, IL6 y del TNF α en comparación con los pacientes diagnosticados de EC. Un aumento en la concentración de IL6 es un marcador del proceso inflamatorio en la mucosa del colon de pacientes con CU. En otros estudios, sin embargo, se muestra una mayor concentración sérica de esta interleuquina en pacientes diagnosticados de EC (90, 91, 92). Además, varios estudios observan que la concentración de TNF α , IL1 e IL6 es elevada en la mucosa intestinal tanto inflamada como no inflamada de pacientes con EC (93, 94, 95, 96, 97), lo que sugiere una alteración patológica de base a nivel molecular que se anticipa al proceso inflamatorio.

La discrepancia entre los resultados obtenidos en las concentraciones basales de citocinas con los que se muestran en la bibliografía puede ser debido a que la concentración de las mismas se correlaciona mejor con la actividad de la enfermedad que con la susceptibilidad de EC o CU, de hecho, los niveles séricos de citocinas parecen ser buenos predictores de la actividad de la enfermedad en pacientes tanto con EC como con CU (98, 99). En nuestro estudio se obtuvieron las concentraciones de citocinas basales al inicio del tratamiento con infliximab, pero no se tuvo en cuenta el estado de la enfermedad. Por tanto, la concentración de estas citocinas no se puede utilizar como diagnóstico diferencial entre EC y CU, aunque nos puede ayudar a entender mejor la patogénesis de estas enfermedades.

Se han estudiado otras citocinas que se relacionan todavía mejor que TNF α o IL6, con la actividad de la enfermedad como IL22 que ofrece una mejor separación entre EC activa e inactiva (100) o la IL10 que parece estar aumentada durante la fase de recuperación de la enfermedad en pacientes con EII (101, 102), aunque no se describen diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con EC o CU.

Como se ha expuesto anteriormente la concentración de citocinas se asocia con la actividad de la enfermedad y el tipo de EII. En una siguiente etapa de este trabajo quisimos valorar si existía correlación entre ciertos polimorfismos en genes de citocinas y la expresión proteica de las mismas. De esta manera se podrían obtener marcadores genéticos de susceptibilidad de distintos grados de enfermedad con la ventaja de que, a diferencia de los marcadores proteicos, son más fáciles de obtener y determinar.

IL1 participa en diversas cascadas inflamatorias y está implicada en la patogénesis de diversas enfermedades. Diversos SNPs del gen de *IL1B* se han asociado con enfermedades inflamatorias y pueden influir en la producción de IL1. En nuestro caso se estudió la asociación entre la concentración sérica de IL1 y el polimorfismo rs1143634 del gen de la *IL1B* en los pacientes con EII y se observó una mayor concentración de esta citocina en aquellos pacientes con el genotipo mayoritario CC. En un estudio previo *in vitro* se observó que, en concentrados de plaquetas, no había asociación entre la presencia de este polimorfismo y la producción de IL1 en almacenados (103). Por otro lado, sí que se han observado valores elevados de IL1 en muestras líquidas de tejido gingival en pacientes con riesgo de aterosclerosis, asociado con diferentes parejas de haplotipos de 3 polimorfismos del gen de *IL1B* (-511,-1464 y -3737), aunque ninguno ha sido estudiado en nuestro caso (104). El estudio de la asociación entre el polimorfismo y la producción de IL1 en pacientes con EII no se ha realizado con anterioridad, por lo que sería conveniente realizar más estudios en series independiente y con un mayor tamaño para confirmar estos resultados.

Del mismo modo, en nuestro estudio se determinó la asociación entre la concentración de TNF α y los polimorfismos en el promotor del gen del TNF considerando a los pacientes diagnosticados de EII en conjunto. En pacientes con EII el único polimorfismo del promotor del

gen TNF en el que se ha estudiado su asociación con la concentración de TNF α es el polimorfismo localizado en la posición -308 (rs1800629). Diversos estudios muestran una mayor producción de TNF α en aquellos pacientes portadores del genotipo GA/AA de este polimorfismo, lo que se correlaciona con una mayor actividad inflamatoria tanto en pacientes con EC como con artritis idiopática juvenil (96, 105, 106). En nuestro estudio no se observó una asociación estadísticamente significativa de este polimorfismo y EII aunque sí se observó que aquellos portadores del genotipo mayoritario CC para los polimorfismos rs1799724 y rs3093548 presentaban una concentración de TNF α >5 .. Diversos estudios muestran el efecto de polimorfismos en el promotor del gen TNF en la diferente producción de citocinas según sean pacientes con EC, CU o controles sanos (107). Un estudio en población australiana sugiere que SNPs específicos en la región promotora del TNF y de IL10 pueden ser útiles para predecir el comportamiento de EC respecto a la severidad y necesidad de cirugía, pero no lo relaciona con la concentración de estas citocinas (108). Otro estudio realizado en población española muestra que la combinación del alelo -308A del TNF y del alelo -1082A de la IL10 (genotipo de baja producción de IL10/alta producción de TNF) tiene una gran influencia en la positividad ANCA y en la severidad de la CU (109) mientras que un estudio realizado en población holandesa muestra asociación entre diversos haplotipos del TNF (posición -308 y -238 del gen TNF α) y la secreción de TNF α y LT α cuando se utilizan células T estimuladoras (110). Por otro lado, un estudio realizado en pacientes post-infartados mostró una mayor concentración de TNF α en aquellos pacientes portadores del alelo T del polimorfismo rs1799724 (111). La discrepancia entre estos estudios y nuestros hallazgos puede ser debida a que no se trata de pacientes con la misma enfermedad. Dentro de los genes relacionados con la patogénesis de la enfermedad que puedan estar relacionados con la susceptibilidad de EII o la respuesta a infliximab como ocurre en otras enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide y psoriasis cabría destacar los receptores de cadenas pesadas de las inmunoglobulinas (FcGRs). Uno de los polimorfismos más estudiados es la sustitución de T a G en el nucleótido 559 del FcGIIIa que resulta en el cambio de fenilalanina (F) por valina (V) en el codón 158. El alelo G del FcGIIIa 559 codifica la isoforma Valina (V) mientras que el alelo T codifica la isoforma Fenilalanina (F) (112). Nuestros resultados sugieren que la presencia del alelo F del polimorfismo rs396991 del FcGRIIIa confiere un carácter protector frente a EC. Por el contrario, un estudio realizado en la población caucásica muestra una mayor frecuencia del alelo F y del genotipo FV/FF en pacientes con EC (113). En otro estudio no se observó ninguna asociación de este polimorfismo con EII pero sí del polimorfismo 519 del FcGRIIa (50). Estos resultados contradictorios hacen necesario una mayor investigación de la relación de este polimorfismo con EII.

Otro de los polimorfismos estudiados en nuestro caso fue el rs1143634 del gen de IL1 β (+3953) pero no se observó asociación entre EII y este polimorfismo. Diversos estudios muestran una asociación del polimorfismo rs16944 del gen de IL1 β (-511) con EII pero no por sí solo sino asociado a polimorfismos en el antagonista del receptor de IL1 (IL-1 RN) o con polimorfismos en la región promotora del gen de la proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1) (114, 115, 116, 117) lo que no descarta la concordancia con nuestros resultados. Otros estudios realizados en población del norte de Europa mostraron una tendencia de asociación entre polimorfismos de IL-1RN*2 y la prevalencia de desarrollar EII. En la población italiana se observó una asociación entre el polimorfismo IL1 β (-511) y un comportamiento complejo de la enfermedad en los pacientes con EC (47). Un estudio realizado en población húngara mostró una fuerte asociación entre los pares de genes +3953 y -511 del gen de IL1 β y

EC al igual que se muestra en nuestro estudio, sugiriendo que los polimorfismos en este gen participan en la determinación del curso y severidad de EII (118). En cambio un estudio realizado en población portuguesa no mostró asociación entre el polimorfismo IL1B-511 y EC (119).

Una de las principales vías para inducir la apoptosis por la vía extrínseca es la estimulación de los receptores de muerte (DRs) localizados en la membrana celular. Estos receptores pertenecen a la superfamilia del TNFR e incluye el TNFR1, CD95, TRAILR1 (receptor 1 del ligando inductor de la apoptosis relacionado con el TNF) y TRAILR2 entre otros. Además se ha mostrado su relevancia como importantes dianas para la inducción de la apoptosis en células tumorales malignas (120, 121). Dada la importancia de estos receptores en el mantenimiento de la homeostasis del sistema inmune y su participación en el remodelado de los tejidos dañados y en la supervivencia de los fibroblastos del intestino en EII (122, 123), se decidió estudiar polimorfismos en TNFR1 y en TRAILR1 para observar su asociación con la susceptibilidad de padecer EII. En un estudio realizado en población caucásica se observó asociación del polimorfismo rs767455 del TNFR1A (+36) y del polimorfismo TNFR1B +196 con EC. Pero no se observó asociación entre el polimorfismo rs767455 del TNFR1A (+36) y el desarrollo de EII aunque este mismo polimorfismo confirió un efecto protector frente al desarrollo del fenotipo estenosante de la enfermedad (44). Otro estudio mostró asociación de este polimorfismo con la CU familiar y con la forma ileocolónica de EC (124). En nuestro estudio únicamente se encontraron diferencias estadísticamente significativas en pacientes con CU y respuesta biológica positiva en aquellos pacientes con el alelo G pero no se diferenció a los pacientes según el fenotipo de la enfermedad para ver su asociación con determinados polimorfismos.

No se han encontrado estudios previos de polimorfismos del gen del TRAILR1 y EII. Nuestros resultados no muestran asociación entre el polimorfismo rs20575 del TRAILR1 (626) y EII. En cambio, si que se ha estudiado la asociación de este polimorfismo con la predisposición de padecer ciertos tipos de tumores (125) y la asociación de polimorfismos en los genes del sistema TRAIL/receptor TRAIL con esclerosis múltiple (126, 127).

Los polimorfismos del promotor del gen del TNF α han sido frecuentemente estudiados para ver su asociación con EII. Los polimorfismos del TNF α en la posición -307 (rs148958203) y -308 (rs1800629) han sido asociados con CU y el polimorfismo del TNF α en la posición -857 (rs1799724) se ha asociado con un menor riesgo de EII en ciertos grupos (39, 128, 129). Otros estudios muestran mayor riesgo de EC en aquellos pacientes con polimorfismos en la posición -308 del TNF (118). Ciertos estudios en población asiática muestran un riesgo aumentado de EC en aquellos pacientes con polimorfismos del TNF α en la posición -1031 (rs1799964), -863 (rs1800630) y -857 (rs1799724) (13, 130, 131, 132). Los resultados de un metaanálisis sugieren que polimorfismos en la posición -308 del TNF participan en la susceptibilidad de EII tanto en europeos como en asiáticos (133). En nuestro caso no se ha estudiado la asociación de estos polimorfismos con la susceptibilidad de padecer EII ya que no se realizó el estudio de los polimorfismos del promotor del gen TNF α en controles sanos.

Por otro lado parece ser que un aumento en alelos de riesgo está relacionado con un riesgo aumentado de desarrollar EC y con un curso de la enfermedad más severo, mostrándose que no hay que considerar cada uno de los polimorfismos por separado ya que se ha observado un efecto acumulativo de diversos polimorfismos en la susceptibilidad de EII (134, 135).

Los niveles de citocinas tanto antiinflamatorias como proinflamatorias se pueden correlacionar con la actividad de la enfermedad en pacientes con EII. El uso de infliximab puede modificar la

concentración de estas citocinas, que en este caso podrían ser utilizadas como marcadores de respuesta al tratamiento. En nuestro estudio los pacientes con EC respondedores a la terapia con infliximab según criterios de respuesta clínica presentaban valores basales de IL10 elevados mientras que los pacientes no respondedores presentaban valores basales elevados de IL1 sin alcanzar la significación. En pacientes diagnosticados de CU se observaron niveles basales elevados de IL10 en los pacientes respondedores según criterios de respuesta biológica, pero sin alcanzar la significación. Estos resultados pueden estar relacionados con el carácter antiinflamatorio de la IL10. Un estudio de CU realizado "in vitro" muestra que infliximab no induce una reducción del ARNm del TNF α o de la IL1B pero sí del ARNm del IFN γ y en menor medida del ARNm de IL6 lo que muestra que la capacidad de inhibición de la producción de citocinas por infliximab es incompleta (136). No se ha encontrado ningún estudio previo "in vivo" donde se relacione la concentración basal de estas ILs con la respuesta a infliximab en EII. Un estudio realizado en pacientes con EC fistulizante relacionó los niveles basales elevados de TNF α en suero con la no respuesta a infliximab (137).

En cuanto a la variación de la concentración de citocinas durante el tratamiento con infliximab, no se observó un cambio significativa en los niveles séricos de IL1 en los pacientes con EC respondedores. No se pudo estudiar el aumento o disminución de la concentración de citocinas ya que en cada paciente se observó una tendencia distinta sin guardar relación con el tipo de citocina estudiada (antiinflamatoria o proinflamatoria).

En un estudio realizado en pacientes con EC tratados con infliximab se observó una disminución de los niveles de IL10 en el primer mes en el grupo de pacientes con buena respuesta, mientras que en los pacientes no respondedores se observó un aumento de esta misma citocina (138). Otro estudio realizado también en pacientes con EC mostró un aumento en la concentración de IL10 tras la terapia con infliximab en los pacientes respondedores (139). Estas diferencias en los resultados pueden ser debidas al pequeño tamaño muestral de ambos estudios o a las diferentes técnicas analíticas utilizadas. La sensibilidad de la técnica analítica utilizada puede ser relevante en la determinación de los niveles de citocinas mostrándose disminuciones significativas en los niveles de IL6 y de TNF α tras la terapia con infliximab que otros estudios no han sido capaces de determinar (140).

No se ha encontrado ningún estudio realizado sobre la concentración sérica de citocinas y su relación con la respuesta a infliximab en pacientes diagnosticados de CU.

En estudios realizados en otras enfermedades como la espondilitis anquilosante se han identificado los niveles basales de PCR y de TNF α como marcadores útiles de respuesta clínica a infliximab (141). Por otro lado, en un estudio realizado en AR se observó disminución de los niveles de IL6 tras el tratamiento con infliximab (142).

La mayoría de estudios sobre la concentración de citocinas en EII han utilizado como muestra la biopsia de la mucosa intestinal de los pacientes. Un estudio realizado sobre cultivos celulares *in vitro* muestra una producción disminuida de IL10 y de TNF α tras la terapia con infliximab, asociado con una mejoría clínica (143). Otro estudio relaciona la baja concentración de TNF α en las biopsias de la mucosa de los pacientes con EC antes del tratamiento con una mayor duración de la remisión a largo plazo (144). Por otro lado en un estudio realizado en población japonesa con EC se observó una disminución en la mucosa colónica de la concentración de IL1B, IL6 y TNF α tras la terapia con infliximab que estuvo asociado con una disminución en la actividad de la enfermedad. Los autores señalan que estos resultados no se observaron con otras terapias (145).

En todos estos trabajos se ha asociado una menor concentración de estas citocinas en la mucosa del tracto gastrointestinal con una menor actividad de la enfermedad lo que se relaciona con el carácter inflamatorio de la enfermedad.

El objetivo de la farmacogenética es permitir un ajuste del tratamiento farmacológico antes del inicio en términos de elección del fármaco y la dosis adecuada para maximizar la respuesta y minimizar la toxicidad. Existen diversas razones por las que la farmacogenética ha mostrado un éxito modesto en EII ya que la búsqueda de marcadores moleculares que influyan en la respuesta a un determinado fármaco resulta más complicada que encontrar aquellos que influyen en la toxicidad. Además los criterios de respuesta utilizados en EII incluyen tanto datos objetivos como subjetivos lo que hace más difícil la reproducibilidad de los resultados obtenidos. A pesar de ello, la búsqueda de marcadores que puedan predecir la respuesta a fármacos anti-TNF y un mejor entendimiento del metabolismo y del mecanismo de acción de estos fármacos puede optimizar en gran medida el éxito del tratamiento (146, 147, 148, 149).

Diversos estudios farmacogenéticos han mostrado asociación entre SNPs en genes que codifican enzimas relacionados con la farmacodinamia de los fármacos utilizados para el tratamiento de la EII y el éxito del tratamiento. Los SNPs estudiados con mayor frecuencia se encuentran en los genes *TNF-LT α* , *TNF α* , *TNFR1*, *TNFR2*, *FCGR3A*, además de polimorfismos localizados en el locus 5q31, en el gen *CARD15* y en el de *IL23R*, entre otros (109, 116, 150, 151). Aunque algunos polimorfismos en *CARD15* (*NOD2*) han mostrado asociación con la susceptibilidad de padecer EC, estudios previos evidencian que no se pueden utilizar como predictores de respuesta a infliximab (113, 114).

Uno de los polimorfismos estudiados en cuanto a la respuesta a infliximab, es el del gen *Fc γ R3A*, debido a la hipótesis de que este fármaco permite la activación de complemento y la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (147)

Últimamente el papel de los receptores FcG (*FCGR2A* y *FCGR3A*) ha cobrado una especial relevancia en ADCC y apoptosis. El *FcGR3A* es miembro de una familia de 7 genes que codifican para distintas isoformas del receptor de la región Fc de la IgG humana (152). El polimorfismo más frecuente de *FcGR3A* es una mutación puntual que afecta a los aminoácidos del codón 158 del dominio extracelular (153). Este polimorfismo resulta del cambio de fenilalanina por valina en esta posición (154).

En nuestro caso al estudiar la asociación entre el polimorfismo *FcGR3A-158* y la respuesta al tratamiento con infliximab se observó que la mayoría de pacientes con el genotipo FV o VV diagnosticados de EC no alcanzaron la remisión según los criterios de respuesta clínica utilizados. Al considerar la distribución por alelos se observó la misma tendencia. Estos resultados discrepan de los resultados obtenidos por Louis et al, en el que se observó una mejor respuesta biológica en aquellos pacientes con el genotipo VV (77,155) o con los obtenidos en otro estudio realizado en población japonesa en los que se observa asociación entre la respuesta clínica a infliximab y un SNP en el gen *Fc γ IIIB* pero no en el *FC γ IIIA* (156). En otras enfermedades como en el linfoma difuso de células B también se ha observado una asociación entre el alelo V y mejor respuesta a la terapia con rituximab (157). Nuestros resultados son concordantes con varios estudios realizados en otra enfermedad inflamatoria crónica, la artritis reumatoide (AR), en los que se observó una asociación significativa entre el genotipo VV y una peor respuesta a la terapia anti-TNF (153, 158, 159) aunque un estudio en AR no observó esta asociación (160). Estos resultados reflejan la naturaleza compleja y dinámica de la interacción entre *Fc γ R* e Ig.

No se ha encontrado ningún estudio de este polimorfismo realizado en pacientes con CU.

Estas diferencias entre los resultados obtenidos en nuestro estudio y los descritos en la bibliografía pueden ser debidos al pequeño tamaño muestral en nuestro caso. Además en los estudios realizados en pacientes con EC no se tuvo en cuenta la remisión como criterio de respuesta clínica.

En nuestro caso también se estudió la influencia del polimorfismo rs1143634 del gen de IL1B en la respuesta al tratamiento con infliximab en pacientes con EC observándose asociación entre los pacientes con alelo C y no respuesta clínica a los 3 meses y no remisión tanto a los 3 meses como posteriormente. No se ha encontrado ningún estudio previo que relacione la respuesta a infliximab en pacientes con EII y este polimorfismo. El único estudio que relaciona polimorfismos en el gen de la IL1B con respuesta al tratamiento fue el realizado por Huang et al, en el que se relaciona el genotipo GG del polimorfismo rs6539870 con una elevada expresión de IL1B y una mayor respuesta a etoposido (161).

Los receptores del TNF (TNFR) tales como TNFR1A y TRAILR1 son muy importantes en la estimulación de la vía extrínseca de la apoptosis pero no se conoce su efecto sobre la respuesta a infliximab. Por ello, se decidió estudiar el posible papel predictivo de polimorfismos en estos receptores y la respuesta a infliximab en pacientes con EII.

El alelo G del polimorfismo rs767455 del gen de TNFR1A mostró asociación con no respuesta clínica a los 3 meses aproximadamente del inicio de tratamiento en pacientes con EC. En cambio en CU se observó asociación entre pacientes portadores del alelo G y respuesta biológica positiva a los 3 meses aproximadamente del inicio del tratamiento. Estudios previos confirman que polimorfismos en TNFR no son predictores de respuesta clínica al tratamiento con infliximab aunque si que se ha observado una asociación entre una baja respuesta biológica a infliximab y el alelo G del polimorfismo rs767455 en pacientes con EC lo que concuerda con nuestros resultados (75, 76, 162, 163). En muchos casos se ha asociado la disparidad de los resultados con diferencias en la raza de los pacientes incluidos, aunque en nuestro caso los resultados se asemejan más a los de la población japonesa, por lo que este no debe ser el motivo de la diferencia. Por tanto, estos hallazgos sugieren que polimorfismos en TNFR1A sí que pueden estar asociados con respuesta al tratamiento, aunque se necesitan más estudios con un mayor tamaño muestral para confirmarlo.

No se encontró asociación entre el polimorfismo rs20575 del gen de TRAILR1 en CU ni en EC y la respuesta a infliximab. Aunque se observó una tendencia a una mayor tasa de respuesta biológica a los 6 meses del inicio del tratamiento. No se han encontrado estudios previos que relacionen este polimorfismo con la respuesta a infliximab ni en pacientes con EII ni en otra enfermedad inflamatoria.

Infliximab ejerce su influencia a través de su unión específica a TNF α , por lo tanto el estudio de los polimorfismos del promotor del gen TNF y su asociación con la respuesta a este fármaco fue uno de los objetivos de nuestro estudio. Se observó asociación entre el alelo T del polimorfismo rs1799964 y no respuesta clínica a los 3 meses aproximadamente del inicio del tratamiento. Al estudiar el polimorfismo rs4248158 se observó asociación entre el genotipo CC y no respuesta biológica a los 6 meses aproximadamente del inicio. Por último al estudiar el polimorfismo rs2736195 se observó una asociación entre el genotipo AA y la no respuesta biológica a los 6 meses del inicio. El polimorfismo del promotor del gen TNF más estudiado ha sido el rs1800629 (-308). Un estudio en población húngara mostró asociación entre los portadores del alelo A de este polimorfismo y no respuesta en pacientes con AR y EC (164), aunque, en otros estudios en pacientes con EC no se observó esta asociación (74, 162, 165). En cambio, en un estudio en pacientes con enfermedades reumáticas si que se ha observado

asociación entre el genotipo GG del polimorfismo -308 del TNF α y mejor respuesta al tratamiento anti-TNF α (166), mientras que otro estudio en pacientes con artritis reumatoide no observó esta relación entre este polimorfismo y la respuesta al tratamiento, pero si que la muestra entre el polimorfismo -238G/A y respuesta a infliximab (167).

5.2 CONCLUSIONES

1. El SFT parece mejorar la adherencia al tratamiento, tanto a infliximab como al resto de terapias concomitantes, así como la calidad de vida y la satisfacción con la medicación de los pacientes con EII.
2. Los pacientes con CU presentan una mayor concentración sérica basal de citocinas (IL1, IL6, TNF α) que los pacientes con EC.
3. Se observó asociación entre una mayor concentración sérica de IL1 y el genotipo CC del polimorfismo rs1143634 del gen de la IL1B.
4. El alelo F del polimorfismo rs396991 del gen del Fc γ IIIA parece conferir un carácter protector frente a EC.
5. Los valores basales elevados de IL10 se pueden asociar a respuesta clínica a la terapia con infliximab en pacientes con EC (sin llegar a la significación).
6. La presencia del alelo V del polimorfismo Fc γ RIIIA-158 parece asociarse con no remisión en pacientes con EC en tratamiento con infliximab.
7. El alelo C del polimorfismo rs1143634 del gen de IL1B se puede asociar con no respuesta clínica y no remisión a los 3 meses del inicio del tratamiento con infliximab en pacientes con EC.
8. El alelo G del polimorfismo rs767455 del gen del TNFR1A mostró asociación con no respuesta clínica a los 3 meses del inicio del tratamiento con infliximab en pacientes con EC mientras que en CU el alelo G se relacionó con respuesta biológica a los 3 meses.
9. Diversos polimorfismos en el promotor del gen TNF (rs1799964, rs4248158 y rs2736195) parecen asociarse con no respuesta a infliximab en pacientes con EII.
10. La identificación de polimorfismos en genes relacionados con la apoptosis y con la respuesta inmune podría ser útil en el manejo clínico de los pacientes con EII.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

1. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jamenson JL and Isselbacher KJ. Harrison Principios de Medicina Interna. 16^ª Edición.
2. WIKIPEDIA La enciclopedia libre. Acceso on-line: http://es.wikipedia.org/wiki/Enfermedad_inflamatoria_intestinal
3. García Betanzos R. Guía clínica de enfermedad inflamatoria intestinal. Acceso on-line: <http://www.fisterra.com/guias-clinicas>
4. Satsangi J, Silverberg MS, Vermeire S, and Colombel JF. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus and implications. *Gut* 2006; 55: 749-753.
5. Meijide Míguez HM. CDAI (CROHN DISEASE ACTIVITY INDEX). Índice de actividad en la Enfermedad de Crohn. *Medicina Interna*. CHU Juan Canalejo. A Coruña
6. Sambuelli AM, Toro MA, Negreira SM, Gil AH, Goncalves SA, Huernos SP y Bai JC. Índices de actividad en la enfermedad de crohn. Revisión crítica y evaluación de su utilidad en el manejo clínico.. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2005; 35:28-36.
7. Jose AE, Maria. Elaboración y validación de un cuestionario reducido de la versión española del cuestionario de calidad de vida específico de la enfermedad inflamatoria intestinal[internet] Universidad Autónoma de Barcelona; 2005 [citado 2012 jun 13]. Available a partir de: <http://dialnet.uniroioja.es/servlet/tesis>
8. Truelove SC, Witts LJ. Cortisona in ulcerative colitis. Final report on atherapeutic trial. *Br Med J* 1955;2:1041-8.
9. Hendrickson BA, Gokhale R, Cho JH. Clinical aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. *Clinical Microbiology reviews*. 2002; 15:79-94.
10. Rogler G. Update in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2004; 20:311-317.
11. Satsangi J, Parkes M, Louis E, Hashimoto L, Kato N, Welsh K, Terwilliger JD, Lathrop GM, Bell JI and Jewell DP. Two stage genome-wide search in inflammatory bowel disease provides evidence for susceptibility loci on chromosomes 3, 7 y 12. *Nat genet*. 1996; 14: 199-202
12. Hampe J, Shaw SH, Saiz R, Leysens N, Lantermann A, Mascheretti S, Lynch NJ, Macpherson AJ, Bridger S, Van Deventer S, Stockers P, Monn P, Mirza MM, Forbes A, Lenard-Jones JE, Mathew CG, Curran ME and Schreiber S . Linkage of inflammatory bowel disease to human chromosome 6p. *Am J Hum Genet*. 1999; 64: 808-816.
13. Negoro K, Kinouchi Y, Hiwatashi N, Takahashi S, Takagi S, Satoh J and Shimosegawa T. Crohn's disease is associated with novel polymorphisms in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor gene. *Gastroenterology*. 1999; 117: 1062-1068.
14. Stockers PC, Reitsma PH, Tytgat GN and Van Deventer SJ. HLA-DR and -DQ phenotypes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Gut*. 1999; 45:395-401.
15. Yadav PK, Chen Ch Liu Z. Potential Role of NK Cells in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011; 2011:348530.

16. MacDonald, TT, Monteleone G, Pender S LF. Recent developments in the immunology of inflammatory bowel disease. *Scand. J. clin. Immunol.* 2000; 51:2-9
17. Papadakis KA, Targan SR. Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med.* 2000; 51:289-298.
18. Breese E, Braegger CP, Corrigan CJ, Walker-Smith JA and McDonald TT. Interleukin 2 and interferon gamma secreting T cells in normal and diseased human intestinal mucosa. *Immunology* 1993; 78: 127-131.
19. Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, de la Motte C, Strong SA, Fiocchi C and Strober W. Disparate CD4+ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn disease LP cells manifest increased secretion of IFN-gamma, whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996; 157:1261-1270.
20. Strober W, Fuss IJ. Proinflammatory cytokines in the pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology* 2011; 140:1756-1767.
21. Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: Biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology* 2000; 119: 1148-57.
22. Prehn JL, Thomas LS, Landers CJ, Yu QT, Michelsen KS and Targan SR. The T cell coactivator TL1A is induced by FCgammaR signaling in human monocytes and dendritic cells. *J Immunol.* 2007; 178:4033-4038.
23. Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG and Tak PP. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacology and therapeutics.* 2008; 117: 244-279.
24. Hehlhans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005; 115: 1-20.
25. Owczarek D, Cibor D, Szczepanek M, Mach T. Biological therapy of inflammatory bowel disease. *Pol Arch Med Wewn.* 2009; 119: 84-89.
26. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Gasbarrini G. Apoptosis and gastrointestinal tract. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 1999; 31: 162-172.
27. Pan G, O'Rourke K, Chinnaiyan AM, Gentz R, Ebner R, Ni J, Dixit VM, Boiani N, Timour MS, Gerhert MJ, Schooley KA, Smith CA, Goodwin RG and Rauch CT. The receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *Science.* 1997; 276: 111-113.
28. Walczak h, Degli-Eposti MA, Johnson RS, Smolak PJ, Waugh JY. TRAIL-R2: a novel apoptosis-mediating receptor for TRAIL. *EMBO J.* 1997; 16: 5386-5397.
29. Brost S, Koschny R, Sykora J, Stremmel W, Lasitschka F, Walczak H and Ganten TM. Differential expression of the TRAIL/TRAIL-receptor system in patients with inflammatory bowel disease. *Pathol Res Practice.* 2009; 205: 1-8
30. Van der Heide F, Dijkstra A, Weersma RK, Albersnagel FA, Van der Logt EM, Faber KN, Sluiter WJ, Kleibeuter JH and Dijkstra G . Effects of active and passive smoking on disease course of Crohn's disease and Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2009; 15: 1199-1207.

31. Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M and Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to crohn disease. *Nature* 2001; 411:599-603.
32. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barmada MM, Rotter JI, Nicolae DL and Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science*. 2006; 314:1461-1463.
33. Csöngéi V, Járomi L, Sáfrány E, Sipeky C, Magyar L, Faragó B, Bene J, Polgár N, Lakner L, Sarlós P, Varga M and Melegh B.. Interation of the major inflammatory bowel disease susceptibility alleles in Crohn's disease patients. *World J Gastroenterol*. 2010; 16;176-183
34. Kanaan ZM, Eichenberger MR, Ahmad S, Weller C, Roberts H, Pan J, Rai SN, Petras R, Weller EB Jr and Galandiuk S.. Clinical predictors of inflammatory bowel disease in a genetically well-defined Caucasian population. *Journal of negative results in biomedicine*. 2012; 11: 1-8.
35. Mascheretti S, Hampe J, Croucher PJP, Nikolaus S, Andus T, Schubert S, Olson A, Bao W, Fölsch UR and Schreiber S. Response to infliximab treatment in Crohn's disease is not associated with mutations in the CARD15 (NOD2) gene: an analysis in 534 patients from two multicenter, prospective GCP-level trials. *Pharmacogenetics*. 2002; 12: 509-515.
36. Vermeire S, Louis E, Rutgeerts P, De Vos M, Van Gossum A, Belaiche J, Pescatore P, Fiasse R, Pelckmans P, Vlietinck R, Merlin F, Zouali H, Thomas G, Colombel JF and Hugot JP. NOD2/CARD15 does not influence response to infliximab in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2002; 123: 106-111.
37. Török HP, Göke B and Konrad A. Pharmacogenetics of Crohn's disease. *Pharmacogenomics*. 2008; 9: 881-893.
38. Watts DA, Satsangi J. The genetic jigsaw of inflammatory bowel disease. *Gut*. 2002;50:31-36
39. Heliö T, Halme L, Lappalainen M, Fodstad H, Paavola-Sakki P, Turunen U, Färkkilä M, Krusius T, Kontula K. CARD15/NOD2 gene variants are associated with familiially occurring and complicated forms of Crohn's disease. *Gut*. 2003;52:558-562.
40. Queiroz DM, Oliveira GA, Saraiva IE, Rocha GA, Rocha AM, das Graças Pimenta Sanna M, Guerra JB, Dani R, Ferrari Mde L, Castro LP et al. Inmune response and gene Polymorphism Profiles in Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2009; 15:353-358
41. Brand S, Staudinger T, Schnitzler F, Pfennig S, Hofbauer K, Dambacher J, Seiderer J, Tillack C, Konrad A, Crispin A, Göke B, Lohse P, Ochsenkühn T.et al. The role of Toll-like receptor 4 Asp299Gly and Thr399Ile polymorphisms and CARD15/NOD2 mutations in the susceptibility and phenotype of crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2005; 11:645-652.
42. Pierik M, Joosens S, Van Steen K, Van Schuerbeek N, Vlietinck R, Rutgeerts P, Vermeire SI. Toll-like receptor 1,-2, and -6 polymorphisms influence disease extension in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis*. 2006; 12: 1-8.

43. Zipperlen K, Peddle L, Melay B, Hefferton D, Rahman P. et al. Association of TNF-alpha polymorphisms in Crohn's disease. *Hum Immunol.* 2005; 66:56-59.
44. Sashio H, Tamura K, Ito R, Yamamoto Y, Bamba H, Kosaka T, Fukui S, Sawada K, Fukuda Y, Tamura K, Satomi M, Shimoyama T, Furuyama J. et al. Polymorphisms of the TNF gene and the TNF receptor superfamily member 1B gene are associated with susceptibility to ulcerative colitis and Crohn's disease, respectively. *Inmunogenetics.* 2002; 53: 1020-1027.
45. Waschke KA, Villani A, Vermeire S, Dufresne L, Chen TC, Bitton A, Cohen A, Thomson AB, Wild GE. Tumor necrosis factor gene polymorphisms in Crohn's disease: Association with Clinical phenotypes. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:1126-1133.
46. Heresbach D, Alizadeh M, Dabadie A, Le Berre N, Colombel JF, Yaouanq J, Bretagne JF, Semana G.. Significance of interleukine 1beta and interleukin-1 receptor antagonist genetic polymorphism in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol.* 1997;92: 1164-1169.
47. Stokkers PCF, Van Aken BE, Basoski N, Reitsma PH, Tytgat GN, van Deventer SJ. et al. Five genetic markers in the interleukin 1 family in relation to inflammatory bowel disease. *Gut.* 1998;43:33-39.
48. Corleto VD, Pagnini C, Magagnoni G, Guagnozzi D, Torre MS, Martorelli M, Latiano A, Annese V, Caprilli R, Delle Fave G.. IL-1b-511 and IL-1RN*2 polymorphisms in inflammatory bowel disease: An Italian population study and meta-analysis of European studies. *Digestive and liver disease.* 2010; 42: 179-184.
49. Takai T. Fc receptors and their role in immune regulation and autoimmunity. *J Clin Immunol.* 2005;25:1-18.
50. Alizadeh BZ, Valdigem G, Coenen MJ, Zhernakova A, Franke B, Monsuur A, van Riel PL, Barrera P, Radstake TR, Roep BO, Wijmenga C, Koeleman BP. et al. Association analysis of functional variants of the FcγRIIa and FcγRIIIa genes with type 1, celiac disease and rheumatoid arthritis. *Hum Mol Genet.* 2007;16:2552-2559.
51. Weersma RK, Crusius JBA, Roberts RL, Koeleman BP, Palomino-Morales R, Wolfkamp S, Hollis-Moffatt JE, Festen EA, Meisneris S, Heijmans R, Noble CL, Garry RB, Barclay ML, Gómez-García M, Lopez-Nevot MA, Nieto A, Rodrigo L, Radstake TR, van Bodegraven AA, Wijmenga C, Merriman TR, Stokkers PC, Peña AS, Martín J, Alizadeh BZ. Association of FcγR2a, but not FcγR3a, with Inflammatory Bowel Diseases across three Caucasian populations. *Inflamm Bowel Dis.* 2010; 16 : 2080-2089.
52. Ardizzone S, Maconi G, Bianchi V, Russo A, Colombo E, Cassinotti A, Penati C, Tenchini ML, Bianchi Porro G.. Multidrug resistance I Gene Polymorphism and Susceptibility to Inflammatory Bowel Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007; 13: 516-523
53. Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnott I, Driscoll R, Mitton S, Orchard T, Rutter M, Younge L, Lees C, Ho GT, Satsangi J, Bloom S et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut.* 2011; 60: 571-607.
54. Ficha técnica de infliximab
55. Ebert EC. Infliximab and the TNFα system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2009; 296: 612-620.

56. Bermejo F, López-Sanromán A, Hinojosa J, Castro L, Jurado C, Gómez-Beldal AB.. Influximab induce respuesta clínica, endoscópica e histológica en la colitis ulcerosa refractaria. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96 : 94-101.
57. Bosani M, Ardizzone S, Porro GB. Biologic targeting in the treatment of inflammatory bowel diseases. *Biologics: Targets and therapy*. 2009; 3:77-79.
58. Nesbitt A, Fossati G, Bergin M, Stephens P, Stephens S, Foulkes R, Brown D, Robinson M, Bourne T. Mechanism of action of Certolizumab Pegol (CDP870): In vitro comparison with other anti-tumor necrosis factor α agents. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13 : 1323-1332.
59. Ito H. Treatment of Crohn's disease with anti-IL-6 receptor antibody. *J Gastroenterol*. 2005; 40 : 32-4.
60. Van Assche G, Sandborn WJ, Feagan BG, Salzberg BA, Silvers D, Monroe PS, Pandak WM, Anderson FH, Valentine JF, Wild GE, Geenen DJ, Sprague R, Targan SR, Rutgeerts P, Vexler V, Young D, Shames RS. Daclizumab a humanized monoclonal antibody to the interleukin 2 receptor antibody (CD25) for the treatment of moderately to severely active ulcerative colitis: a randomized, double blind, placebo-controlled, dose ranging trial. *Gut*. 2006; 55: 1568-1574.
61. Creed TJ, Proberd CS, Norman MN, Moorghen M, Shepherd NA, Hearing SD, Dayan CM. Basiliximab for the treatment of steroid-resistant ulcerative colitis: further experience in moderate and severe disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 23 : 1435-42.
62. Reinisch W, de Villiers W, Bene L. Fontolizumab in moderate to severe Crohn's disease: a phase 2, randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-dose study. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 16 : 233-42.
63. Calvo Hernandez MV, Alós Almiñana M, Giráldez Deiro J, Inaraja Bobo MT, Navarro Ruiz A, Nicolás Picó J. Bases de la atención farmacéutica en Farmacia Hospitalaria. *Farm Hosp*. 2006; 30: 120-123.
64. Grupo de expertos. Consenso sobre atención farmacéutica. Madrid: MSC; 2001.
65. Pharmaceutical Care Research Group, University of Granada (Spain). Pharmacotherapy follow-up: The Dader method (3rd revisión: 2005). *Pharmacy Practice* 2006; 4: 44-53.
66. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics-Drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003; 348: 538-549.
67. Kirchheiner J, Fuhr U, Brockmoller J. Pharmacogenetics-based therapeutic recommendations- ready for clinical practice? *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4: 639-647.
68. Pierik M, Rutgeerts P, Vlietinck R Vermeire S. Pharmacogenetics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2006; 12 : 3657-3667.
69. Seidman EG. Clinical use and practical application of TPMT enzyme and 6-mercaptopurine metabolite monitoring in IBD. *Rev Gastroenterol Disord* 2003; 3 suppl1: S30-38.
70. Teshima D, Hino B, Makino K, Yano T, Itoh Y, Joh Y, Iida M, Oishi R. Sulphasalazine-induced leucopenia in a patient with renal dysfunction. *J Clin Pharm Ther* 2003; 28: 239-242.

71. Ohtani T, Hiroi A, Sakurane M, Furukawa F.. Slow acetylator genotypes as a possible risk factor for infectious mononucleosis-like syndrome induced by salazosulphapyridine. *Br J Dermatol.* 2003; 148: 1035-1039
72. Farrell RJ, Murphy A, Long A Donnelly S, Cherikuri A, O'Toole D, Mahmud N, Keeling PW, Weir DG, Kelleher D.. High multidrug resistance (P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapy. *Gastroenterology* 2000; 118: 279-288.
73. Louis E, Vermeire S, Rutgeerts P, De Vos M, Van Gossum A, Pescatore P, Fiasse R, Pelckmans P, Reynaert H, D'Haens G, Malaise M, Belaiche J.. A positive response to infliximab in crohn disease: association with a Higher systemic inflammation before treatment but not with -308 TNF Gene Polymorphism. *Scand J Gastroenterol* 2002; 37: 818-824.
74. Pierik M, Vermeire S, Steen KV, Joossens S, Claessens G, Vlietinck R, Rutgeerts P. Tumour necrosis factor- α receptor 1 and 2 polymorphisms in inflammatory bowel disease and their association with response to infliximab. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20: 303-310.
75. Mascheretti S, Schreiber S. The role of pharmacogenomics in the prediction of efficacy of anti-TNF therapy in patients with crohn disease. *Pharmacogenomics.* 2004; 5: 479-486.
76. Louis E, El Ghou Z, Vermeire S, Dall'Ozzo S, Rutgeerts P, Paintaud G, Belaiche J, De Vos M, Van Gossum A, Colombel JF, Watier H. Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 19: 511-519.
77. Weiss B, Lebowitz O, Fidler HH, Maza I, Levine A, Shaoul R, Reif S, Bujanover Y, Karban A et al. Response to medical treatment in patients with crohn's disease: the role of NOD2/CARD15, disease phenotype and age of diagnosis. *Dig Dis Sci.* 2009;55: 1674-80
78. Taylor KD, Plevy SE, Yang H, Landers CJ, Barry MJ, Rotter JI, Targan SR Anca pattern and LTA haplotype relationship to clinical responses to Anti-TNF antibody treatment in Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2001; 120: 1347-1355.
79. Ozeky T, Furuya Y, Nagano C, Matsui C, Takayanagi R, Yokoyama H, Yamada Y. Analysis of linkage between lymphotoxin α haplotype and polymorphisms in 5'-flanking region of tumor necrosis factor α gene associated with efficacy of infliximab for Crohn's disease patients. *Mutation Research.* 2006; 602: 170-174.
80. Urcelay E, Mendoza JL, Martinez A, Fernandez L, Taxonera C, Diaz-Rubio M, de la Concha EG. IBD5 polymorphisms in inflammatory bowel disease: Association with response to infliximab. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1187-1192.
81. Knobel H, Alonso J, Casado JL, Collazos J, González J, Ruiz I, Kindelan JM, Carmona A, Juega J, Ocampo A. Validation of a simplified medication adherence questionnaire in a large cohort of HIV-infected patients: the GEEMA Study. *AIDS* 2002; 16 : 605-613.
82. Atkinson MJ, Kumar R, Cappelleri JC, Hass SL. Hierarchical construct validity of the treatment satisfactory questionnaire for medication (TSQM version II) among outpatient pharmacy consumers. *Value Health* 2005; 8 Suppl 1: S9-S24.

83. Alcalá Escriche MJ. Elaboración y validación de un cuestionario reducido de la versión española del cuestionario de calidad de vida específico para enfermedad inflamatoria intestinal. Tesis Universidad Autónoma de Barcelona
84. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, Rachmilewitz D, Wolf DC, Olson A, Bao W, Rutgeerts P. Maintenance infliximab for Crohn's disease : the ACCENT I randomized trial. *The Lancet*. 2002; 359: 1541-1549
85. Willot S, Vermeire S, Ohresser M, Rutgeerts P, Paintaud G, Belaiche J, De Vos M, Van Gossum A, Franchimont D, Colombel JF, Watier H, Louis E. No association between C-reactive protein gene polymorphisms and decrease of C-reactive protein serum concentration after infliximab treatment in Crohn's disease. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006; 16 : 37-42
86. Mata M, Morcillo E, Gimeno C, Cortijo J. N-acetyl-cysteine (NAC) inhibit mucin synthesis and pro-inflammatory mediators in alveolar type II epithelial cells infected with influenza virus A and B and with respiratory syncytial virus (RSV). *Biochemical Pharmacology*. 2011; 82: 548-555.
87. Kim K, Fisher MJ, Xu SQ, El-Deiry WS. Molecular determinants of response to TRAIL in Killing of normal and cancer cells. *Clin Cancer Res*. 2000; 6 : 335-346.
88. Polinska B, Matowicka-Karna J, Kemon H. Assessment of the influence of the inflammatory process on the activation of blood platelets and morphological parameters in patients with ulcerative colitis. *Folia Histochem Cytobiol*. 2011; 49 : 119-124.
89. Komatsu M, Kobayashi D, Saito K, Furuya D, Yagihashi A, Araake H, Tsuji N, Sakamaki S, Niitsu Y, Watanabe N. Tumor necrosis factor- α in serum of patients with inflammatory bowel disease as measured by a highly sensitive immuno-PCR. *Clinical Chemistry*. 2001; 47 : 1297-1301
90. Mahida YR, Kurlac L, Gallagher A, Hawkey CJ. High circulating concentrations of interleukin-6 in active Crohn's disease but not ulcerative colitis. *Gut*. 1991; 32: 1531-1534.
91. Nancey S, Hamzaoui N, Moussata D, Graber I, Bienvenu J, Flourie B. Serum Interleukine-6, soluble Interleukine-6 receptor and Crohn's disease activity. *Dig Dis Sci*. 2008; 53: 242-247.
92. Hiroaki I. IL6 and Crohn's disease. *Current drug Targets-inflammation and Allergy*. 2003; 2 : 125-130.
93. Kamada N, Hisamatsu T, Okamoto S, Chinen H, Kobayashi T, Sato T, Sakuraba A, Kitazume MT, Sugita A, Koganei K, Akagawa KS, Hibi T. Unique CD14+ intestinal macrophages contribute to the pathogenesis of Crohn disease via IL-23/IFN- γ axis. *J Clin Invest*. 2008; 118 : 2269-2280.
94. Reimund JM, Wittersheim C, Dumont S, Muller CD, Kenney JS, Baumann R, Poindron P, Duclos B. Increased production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta and interleukin-6 by morphologically normal intestinal biopsies from patients with Crohn's disease. *Gut*. 1996; 39: 684-689.
95. Mahida YR, Wu K and Jewell DP. Enhanced production of interleukin 1- β by mononuclear cells isolated from mucosa with active ulcerative colitis of Crohn's disease. *Gut*. 1989; 30: 835-838.

96. Louis E. The immuno-inflammatory reaction in Crohn's disease and ulcerative colitis: characterization, genetic and clinical application. Focus on TNF α . *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. 2001; LXIV; 1-5.
97. Ruffolo C, Scarpa M, Faggian D, Pozza A, Navaglia F, D'Incà R, Hoxha P, Romanato G, Polese L, Sturniolo GC, Plebani M, D'Amico DF, Angriman I. Cytokine network in rectal mucosa in perianal crohn's disease: relations with inflammatory parameters and need for surgery. *Inflamm Bowel Dis*. 2008; 14 : 1406-1412.
98. Ljuca F, Gegic A, Salkic NN Pavlovic-Calic N. Circulating cytokines reflect mucosal inflammatory status in patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci*. 2010; 55; 2316-2326.
99. Umehara Y, Masatoshi K, Nakaoka R, Kawasaki T, Shiomi M. Serum proinflammatory cytokines and adhesion molecules in ulcerative colitis. *Hepato-Gastroenterology*. 2006; 53: 879-882.
100. Schmechel S, Konrad A, Diegelmann J, Glas J, Wetzke M, Paschos E, Lohse P, Göke B, Brand S. Linking genetic susceptibility to crohn's disease with Th17 cell function: IL-22 serum levels are increased in Crohn's disease and correlate with disease activity and IL23R genotype status. *Inflamm Bowel Dis*. 2008; 14 : 204-212.
101. Mitsuyama K, Tomiyasu N, Takaki K, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, Takeda T, Kitazaki S, Tsuruta O, Sata M. Interleukin-10 in the pathophysiology of inflammatory bowel disease: increased serum concentrations during the recovery phase. *Mediators of inflammation*. 2006;2006:26875.
102. Kucharzik T, Stoll R, Lügering N, Domschke W. Circulating antiinflammatory cytokine IL-10 in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol*. 1995; 100: 452-456.
103. Addas-Carvalho M, Origa AF, Saad ST. Interleukin 1 beta and tumor necrosis factor levels in stored platelet concentrates and the association with gene polymorphisms. *Transfusion*. 2004; 44 : 996-1003.
104. Rogus J, Beck JD, Offenbacher S, Huttner K Huttner K, Iacoviello L, Latella MC, de Gaetano M, Wang HY, Kornman KS, Duff GW. IL1B gene promoter haplotype pairs predict clinical levels of interleukin-1 β and C-reactive protein. *Hum Genet*. 2008; 123: 387-398.
105. González S, Rodrigo L, Martínez-Borra J López-Vázquez A, Fuentes D, Niño P, Cadahía V, Saro C, Dieguez MA, López-Larrea C. TNF- α -308A promoter polymorphism is associated with enhanced TNF- α production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease. *Am J Gastroenterology*. 2003; 98 : 1101-1106.
106. Mourao F, Caetano-Lopes J, Costa P Canhão H, Santos MJ, Pinto P, Brito I, Nicola P, Cavaleiro J, Teles J, Sousa A, Gomes JM, Branco J, da Costa JT, Pedro JG, de Queiroz MV, Fonseca JE. Tumor necrosis factor- α -308 genotypes influence inflammatory activity and TNF- α serum concentrations in Children with juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol*. 2009; 36: 837-842
107. Koss K, Satsangi J, Fanning GC, Welsh KI, Jewell DP. Cytokine (TNF α , LT α and IL-10) polymorphisms in inflammatory bowel diseases and normal controls: differential effects on production and allele frequencies. *Genes and Immunity*. 2000; 1: 185-190.
108. Fowler EV, Eri R, Hume G, Johnstone S, Pandeya N, Lincoln D, Templeton D, Radford-Smith GL. TNF α and IL10 SNPs act together to predict disease behavior in Crohn's disease. *J Med Genet*. 2005; 42: 523-528.

109. Castro-Santos P, Suarez A, Mozo L, Gutierrez C. Association of IL-10 and TNF α genotypes with ANCA appearance in ulcerative colitis. *Clinical Immunology*. 2007; 122: 108-114.
110. Bouma G, Crusius JBA, Oudkerk Pool M, Kolkman JJ, von Blomberg BM, Kostense PJ, Giphart MJ, Schreuder GM, Meuwissen SG, Peña AS. Secretion of Tumour Necrosis Factor α and Lymphotoxin α in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand J Immunol*. 1996; 43: 456-463.
111. Bennet AM, Van Maarle MC, Hallqvist J, Morgenstern R, Frostegård J, Wiman B, Prince JA, de Faire U. Association of TNF-alpha serum levels and TNFA promoter polymorphisms with risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2006; 187 : 408-414.
112. Wu J, Edberg JC, Redecha PB, Bansal V, Guyre PM, Coleman K, Salmon JE, Kimberly RP. A novel polymorphism of Fc γ RIIIa (CD16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. *J Clin Invest*. 1997; 100: 1059-1070.
113. Latiano A, Palmieri O, Valvano MR, Bossa F, Latiano T, Corritore G, DeSanto E, Andriulli A, Annese V . Evaluating the role of the genetic variations of PTPN22, NFKB1 and Fc γ RIIIa genes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13 ; 1212-1219.
114. Yamamoto-Furusho JK, Santiago-Hernandez JJ, Perez-Hernandez N, Ramírez-Fuentes S, Fragoso JM, Vargas-Alarcón G. Interleukin 1 β (IL-1B) and IL-1 Antagonist Receptor (IL-1RN) gene polymorphisms are associated with the genetic susceptibility and steroid dependence in patients with ulcerative colitis. *J Clin Gastroenterol*. 2011; 45 : 531-535.
115. Bioque G, Crusius JBA, Koutroubakis I, Bouma G, Kostense PJ, Meuwissen SG, Peña AS. Allelic polymorphism in IL-1 β and IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol*. 1995; 102: 379-383.
116. Li KS, Wang BY, Liu SY, Yao SP, Guo L, Mao DW. The combination of polymorphisms within MCP-1 and IL-1 β associated with ulcerative colitis. *International Journal of Immunogenetics*. 2009; 36: 135-139.
117. Nemetz A, Köpe A, Molnár T, Kovács A, Fehér J, Tulassay Z, Nagy F, García-González MA, Peña AS. Significant differences in the interleukin-1 β and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms in a Hungarian population with inflammatory bowel disease. *Scand J gastroenterol*. 1999; 2: 175-179.
118. Nemetz A, Nosti-Escanilla MP, Molmár T, Köpe A, Kovács A, Fehér J, Tulassay Z, Nagy F, García-González MA, Peña AS. IL1B gene polymorphisms influence the course and severity of inflammatory bowel disease. *Immunogenetics*. 1999; 49: 527-531.
119. Ferreira AC, Almeida S, Tavares M, Canedo P, Pereira F, Regalo G, Figueiredo C, Trindade E, Seruca R, Carneiro F, Amil J, Machado JC, Tavela-Veloso F. NOD2/CARD15 and TNFA, but not IL1B and IL1RN, are associated with Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2005; 11 : 331-339.
120. Russo M, Mupo A, Spagnoulo C, Russo GL. Exploring death receptor pathways as selective targets in cancer therapy. *Biochemical Pharmacology*. 2010; 80: 674-682
121. Maddipatla S, Hernandez-LLizaliturri FJ, Knight J, Czuczman MS. Augmented antitumor activity against B-cell lymphoma by a combination of monoclonal antibodies targeting TRAIL-R1 and CD20. *Clin Cancer Res*. 2007; 13 : 4556-4564.

122. Reenaers C, Franchimont N, Oury C, Belaiche J, Malaise M, Bours V, Theatre E, Delvenne P, Louis E. Sensitivity of intestinal fibroblasts to TNF-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in Crohn's disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2008; 43: 1334-1345.
123. Fayad R, Brand MI, Stone D, Keshavarzian A, Qiao L et al. Apoptosis resistance in ulcerative colitis: High expression of decoy receptors by lamina propria T cells. *Eur J Immunol*. 2006; 36: 2215-2222.
124. Lappalainen M, Halme L, Turunen U, Saavalainen P, Einarsdottir E, Färkkilä M, Kontula K, Paavola-Sakki P. Association of IL23, TNFRS1A, and HLA-DRB1*0103 allele variants with inflammatory bowel disease phenotypes in the Finnish population. *Inflamm Bowel Dis*. 2008; 14 : 1118-1124.
125. Fisher MJ, Virmani AK, Wu L, Aplenc R, Harper JC, Powell SM, Rebbeck TR, Sidransky D, Gazdar AF, El-Deiry WS. Nucleotide substitution in the ectodomain of TRAIL receptor DR4 is associated with lung cancer and head and neck cancer. *Clinical cancer research*. 2001; 7: 1688-1697.
126. Kikuchi S, Miyagishi R, Fukazawa T, Yabe I, Miyazaki Y, Sasaki H. TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) gene polymorphism in Japanese patients with multiple sclerosis. 2005; 167: 170-174.
127. López-Gómez C, Fernández O, García-León JA, Pinto-Medel MJ, Oliver-Martos B, Ortega-Pinazo J, Suardiáz M, García-Trujillo L, Guijarro-Castro C, Benito-León J, Prat I, Varadé J, Álvarez-Lafuente R, Urcelay E, Leyva L. TRAIL/TRAIL receptor system and susceptibility to Multiple Sclerosis. *Plos One*. 2011; 6 : e21766.
128. Ferguson LR, Huebner C, Petermann I, Geary RB, Barclay ML, Demmers P, McCulloch A, Han DY. Single nucleotide polymorphism in the tumor necrosis factor- α gene affects inflammatory bowel diseases risk. *World J Gastroenterol*. 2008; 14 : 4652-4661.
129. Bouma G, Xia JB, Crusius JBA, Bioque G, Koutroubakis I, Von Blomberg BM, Meuwissen SG, Peña AS. Distribution of four polymorphisms in the tumor necrosis factor (TNF) genes in patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol*. 1996; 103: 391-396.
130. Han Z, Li C, Han S, Han Y, Qiu J, Shi Y, Wang J, Sun A, Ding J, Wu K, Fan D. Meta-analysis: polymorphisms in TNF- α gene promoter and Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2010; 32: 159-170.
131. Shetty A, Forbes A. Pharmacogenomics of response to Anti-Tumor Necrosis Factor Therapy in Patients with Crohn's disease. *Am J Pharmacogenomics*. 2002; 2 : 215-221.
132. Yang SK, Lee SG, Cho YK, Lim J, Lee I, Song K. Association of TNF- α /LTA polymorphisms with Crohn's disease in Koreans. *Cytokine*. 2006; 35: 13-20.
133. Fan W, Maoqing W, Wangyang C, Fulan H, Dandan L, Jiaojiao R, Xinshu D, Binbin C, Yashuang Z. Relationship between the polymorphism of tumor necrosis factor- α -308 G>A and susceptibility to inflammatory bowel diseases and colorectal cancer: a meta-analysis. *European Journal of Human Genetics*. 2011; 19: 432-437.

134. Weersma RK, Stokkers PCF, Van Bodegraven AA, van Hogezaand RA, Verspaget HW, de Jong DJ, van der Woude CJ, Oldenburg B, Linskens RK, Festen EA, van der Steege G, Hommes DW, Crusius JB, Wijmenga C, Nolte IM, Dijkstra G. Molecular prediction of disease risk and severity in a large dutch crohn's disease cohort. *Gut*. 2009; 58: 388-395.
135. Ferguson LR, Han DY, Huebener C, Petermann I, Barclay ML, Geary RB, McCulloch A, Demmers PS.. Tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1B Haplotypes increase or decrease the risk of inflammatory bowel diseases in New Zealand caucasian population. *Gastroenterology research and practice*. 2009; **2009**:591704.
136. Moriconi F, Raddatz D, Huy Ho NA, Yeruva S, Dudas J, Ramadori G. Quantitative gene expression of cytokines in peripheral blood leukocytes stimulated in vitro: modulation by the anti-tumor necrosis factor-alpha antibody infliximab and comparison with the mucosal cytokine expression in patients with ulcerative colitis. *Translational research*. 2007; 1150 :223-232
137. Martínez-Borra J, López-Larrea C, González S, Fuentes D, Dieguez A, Deschamps EM, Pérez-Pariente JM, López-Vázquez A, de Francisco R, Rodrigo L . High serum Tumor necrosis factor- α levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn's disease. *The American Journal of Gastroenterology*. 2002; 97: 2350-2356.
138. Detková Z, Kupcová V, Příkazska M, Turecký L, Weissová S, Jahnová E. Different patterns of serum interleukin 10 response to treatment with ant-tumor necrosis factor α antibody (Infliximab) in Crohn's disease. *Physiol Res*. 2003; 52: 95-100.
139. Di Sabatino A, Biancheri P, Piconese S, Rosado MM, Ardizzone S, Rovedatti L, Ubezio C, Massari A, Sampietro GM, Foschi D, Porro GB, Colombo MP, Carsetti R, MacDonald TT, Corazza GRet al. Peripheral regulatory T cells and serum transforming growth factor- β : relationship with clinical response in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 26 : 1891-1897.
140. Song L, Hanlon DW, Chang L, Provuncher GK, Kan CW, Campbell TG, Fournier DR, Ferrell EP, Rivnak AJ, Pink BA, Minnehan KA, Patel PP, Wilson DH, Till MA, Faubion WA, Duffy DC. Single molecule measurements of tumor necrosis factor α and interleukin-6 in the plasma of patients with Crohn's disease. *Journal of immunological methods*. 2011; 372: 177-186.
141. Stone MA, Payne U, Pacheco-Tena C. Cytokine correlates of clinical response patterns to infliximab treatment of ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2004; 63: 84-87.
142. Charles P, Elliot MJ, Davis D. regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following Anti-TNF α therapy in rheumatoid arthritis. *The journal of immunology*. 1999; 163: 1521-1528.
143. Agnholt J, Dahlerup JF, Buntzen S, Tøttrup A, Nielsen SL, Lundorf E. Response, relapse and mucosal immune regulation after infliximab treatment in fistulating Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003; 17: 703-710.
144. Schmidt C, Giese T, Hermann E, Zeuzem S, Meuer SC, Stallmach A. Predictive value of mucosal TNF- α transcripts in Steroid-refractory Crohn's disease patients receiving intensive immunosuppressive therapy. *Inflamm Bowel Dis*. 2007; 13 : 65-70.
145. Yamamoto T, Umegae S, Matsumoto K. Impact of infliximab therapy after early endoscopic recurrence following ileocolonic resection of Crohn's disease: A prospective pilot study. *Inflamm Bowel Dis*. 2009; 15 : 1460-1466.

146. Smith MA, Marinaki AM, Sanderson JD. Pharmacogenomics in the treatment of inflammatory bowel disease. *Pharmacogenomics*. 2010; 11 : 421-437.
147. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Role of genetics in prediction of disease course and response to therapy. *World J Gastroenterol*. 2010; 16 : 2609-2615.
148. Prajapati R, Plant D, Barton A. Genetic and genomic predictors of anti-TNF response. *Pharmacogenomics*. 2010; 12 : 1571-1585.
149. Herrlinger KR, Jewell DP. Review article: interactions between genotype and response to therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24: 1403-1412.
150. Kooloos WM, de Jong DJ, Huizinga TWJ, Guchelaar HJ. potential role of pharmacogenetics in anti-TNF treatment of rheumatoid arthritis and Crohn's disease. *Drug discovery today*. 2007; 12 : 125-131.
151. Jürgens M, Laubender RP, Hartl F, Weidinger M, Seiderer J, Wagner J, Wetzke M, Beigel F, Pfennig S, Stallhofer J, Schnitzler F, Tillack C, Lohse P, Göke B, Glas J, Ochsenkühn T, Brand S. Disease activity, ANCA, and IL23R genotype status determine early response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol*. 2010; 105: 1811-19.
152. Ravetch JV, Bolland S. IgG Fc receptors. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 275-290.
153. Tutuncu Z, Kavanaugh A, Zvaifler N, Corr M, Deutsch R, Boyle D. Fcγ Receptor Type IIIA polymorphisms influence treatment outcomes in patients with inflammatory arthritis treated with tumor necrosis factor α-blocking agents. *Arthritis and rheumatism*. 2005; 52: 2693-2696.
154. Martínez A, Pascual M, Pascual-Salcedo D, Balsa A, Martín J, de la Concha EG. Genetic polymorphisms in Spanish rheumatoid arthritis patients: an association and linkage study. *Genes Immun*. 2003; 4 : 117-121.
155. Louis EJ, Watier HE, Schreiber S, Hampe J, Taillard F, Olson A, Thorne N, Zhang H, Colombel JF. Polymorphism in IgG Fc receptor gene FCGR3A and response to infliximab in Crohn's disease: a subanalysis of the ACCENT I study. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006; 16: 911-914.
156. Tomita K, Chiba T, Sugai T, Habano W. Association between tumor necrosis factor-α and Fc-γ receptor polymorphisms with infliximab in Crohn's disease. *Hepato-gastroenterology*. 2010 May-Jun;57:535-9.
157. Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH, Do YR, Shin HJ, Kim MK, Hyun MS, Sohn SK. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2006; 108 : 2720-2725.
158. Cañete JD, Suarez B, Hernandez MV, Sanmartí R, Rego I, Celis R, Moll C, Pinto JA, Blanco FJ, Lozano F. Influence of variants of FcγReceptors IIA and IIIA on the ACR and EULAR responses to anti-TNFα Therapy in Rheumatoid Arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009; 68: 1547-1552.
159. Morales-Lara MJ, Conesa-Zamora P, Garcia-Simon MS, Pedrero F, Santaclara V, Perez-Guillermo M, Soriano-Navarro E. Association between the FCGR3A polymorphism and the clinical response to infliximab in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Scand J Rheumatol*. 2010; 39: 518-527.

160. Kastbom A, Bratt J, Ernestam S, Lampa J, Padyukov L, Söderkvist P, Skogh T. Fcγ receptor type IIIA genotype and response to tumor necrosis factor α-blocking agents in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 2007; 56 : 448-452.
161. Huang RS, Duan S, Bleibel WK, Kistner EO, Zhang W, Clark TA, Chen TX, Schweitzer AC, Blume JE, Cox NJ, Dolan ME. A genome-wide approach to identify genetic variants that contribute to etoposide-induced cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104 : 9758-9763.
162. Mascheretti S, Hampe J, Kühbacher T, Herfarth H, Krawczak M, Fölsch UR, Schreiber S. Pharmacogenetic investigation of the TNF/TNF-receptor system in patients with chronic active Crohn's disease treated with infliximab. *The Pharmacogenomics journal*. 2002; 2: 127-136.
163. Matsukura H, Ikeda S, Yoshimura N, Takazoe M, Muramatsu M. Genetic polymorphisms of tumor necrosis factor receptor superfamily 1A and 1B affect responses to infliximab in Japanese patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 27: 765-770.
164. Dideberg V, Theatre E, Farnir F, Vermeire S, Rutgeerts P, De Vos M, Belaiche J, Franchimont D, Van Gossum A, Louis E, Bours V. The TNF/ADAM 17 system: implication of an ADAM 17 haplotype in the clinical response to infliximab in Crohn's disease. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2006; 16: 727-734.
165. Balog A, Klausz G, Gal J, Molnár T, Nagy F, Ocsovszky I, Gyulai Z, Mándi Y. Investigation of the prognostic value of TNF-α gene polymorphism among patients treated with infliximab, and the effects of infliximab therapy on TNF-α production and apoptosis. *Pathobiology*. 2004; 71: 274-280.
166. Seitz M, Wirthmüller U, Möller B, Villiger PM. The -308 tumour necrosis factor-α gene polymorphism predicts therapeutic response to TNFα-blockers in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Rheumatology*. 2007; 46: 93-96.
167. Lee YH, Ji JD, Bae S, Song GG . Associations between tumor necrosis factor-α (TNF-α) -308 and -238 G/A polymorphisms and shared epitope status and responsiveness to TNF-α blockers in rheumatoid arthritis: a metaanalysis update. *The journal of Rheumatology*. 2010; 37: 740-746.

ANEXOS



		 HOSPITAL MITA N DEL ROSELL Passe Aiguas 2012, 01 30111 CALABRERA
CONSENTIMIENTO INFORMADO		
Servicio de Anatomía Patológica BANCO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS ☎ 999 33 50 08 Responsable: Dr. José García Solano	Apellidos: _____	Nombre: _____
	Nº I.D.E.: _____	Nº B.B.: _____
USO DE MATERIAL BIOLÓGICO PARA INVESTIGACION		
<p>Este documento tiene como objeto solicitarle su autorización escrita para la donación de parte de una muestra sanguínea, con el fin de usar dicho suero en investigación biomédica relacionada con su enfermedad e incorporar la misma a un Banco de muestras biológicas que existen en el Centro. Es importante que lee detenidamente esta hoja de consentimiento informado, que entienda su contenido y el objeto de la misma y que, en su caso, haga todas las preguntas que crea preciso acerca de la misma.</p>		
<p>FINALIDAD</p> <p>Durante su estancia en el hospital está siendo atendido por diversos servicios clínicos y sus muestras de tejido y sangre están siendo estudiadas y diagnosticadas por médicos especialistas de este centro.</p> <p>La experiencia acumulada en los últimos años y los nuevos avances en Patología Molecular puede ser de gran utilidad para intentar mejorar el diagnóstico y el tratamiento de su enfermedad, así como de la de otros pacientes.</p> <p>El avance de la medicina necesita de la investigación y la investigación necesita de tejidos humanos normales y patológicos.</p> <p>La finalidad es donar de tejido humano que no sea necesario para el diagnóstico de los pacientes a los investigadores.</p>		
<p>DESCRIPCIÓN DEL PROCESO</p> <p>Parte de esta muestra biológica será recogida de manera íntegra para su utilización en Investigación Biomédica, pasando a formar parte del BioBanco del Hospital.</p> <p>Estas muestras podrán ser utilizadas por otras instituciones científicas, nacionales y extranjeras, dentro de proyectos de investigación debidamente aprobados por las autoridades científicas y comités de ética.</p> <p>La información referente a la muestra será codificada a fin de mantener la confidencialidad en su utilización según la legislación vigente. El Hospital le garantiza el correcto procedimiento de sus datos de forma que los posibles investigadores que utilicen estas muestras no tengan acceso a su identidad.</p> <p>Si fuera necesario acceder a otros datos recogidos en su Historia Clínica, se realizarán por personal específicamente autorizado por el Hospital.</p> <p>La cesión de tejido para investigación es voluntaria y altruista y nunca será objeto directo de actividades con ánimo de lucro. Su único beneficio es el que corresponde al avance de la Medicina en beneficio de la Sociedad, y el saber que ha colaborado en este proceso.</p> <p>Los protocolos de actuación definidos para esta colaboración con la investigación están aprobados por los correspondientes Comités de Ética e Investigación Clínica del Hospital.</p> <p>EFFECTOS SECUNDARIOS</p> <p>El uso de este tejido no implica ningún riesgo, ni modifica el tratamiento a realizar, salvaguardándose en todo caso los procedimientos idóneos para el diagnóstico correcto del proceso.</p>		

DERECHOS DE INFORMACIÓN Y REVOCAMIENTO

De acuerdo con la ley orgánica 15/1999 (LOPD) usted puede ejercer los derechos de acceso, oposición, rectificación y cancelación.

En el caso de que estas investigaciones proporcionen datos que le pudieran ser clínicamente relevantes e interesar a su salud o la de su familia... Quiero estar informado No quiero estar informado

En el caso de firmar el presente consentimiento, usted puede anularlo en cualquier momento, en cuyo caso deberá dirigirse al responsable del Biobanco, por lo que las muestras aún no utilizadas no serán usadas en proyectos de investigación, si bien se mantendrán en el Banco de Tumores del Hospital por su posible futuro valor clínico, como cualquier otra muestra de su historial clínico.

DECLARACIONES Y FIRMAS

1º PACIENTE

Yo, D^o/D^a, con D.N.I., declaro que he leído y comprendido la información que me ha sido proporcionada sobre el procedimiento anteriormente indicado y he podido formular todas las preguntas que he considerado oportunas, por lo que **DOY MI CONSENTIMIENTO** para que las células y/o tejidos que no sean necesarios para el diagnóstico sean cedidos a la institución y almacenados para futuras investigaciones con posibilidad de que puedan acceder a otras instituciones / investigadores.

Fdo.
Fecha:

2º REPRESENTANTE LEGAL

Yo, D^o/D^a, como representante legal en calidad de:, declaro que he leído y comprendido la información que me ha sido proporcionada sobre el procedimiento anteriormente indicado y he podido formular todas las preguntas que he considerado oportunas, por lo que **DOY MI CONSENTIMIENTO** para que las células y/o tejidos que no sean necesarios para el diagnóstico sean cedidos a la institución y almacenados para futuras investigaciones con posibilidad de que puedan acceder a otras instituciones / investigadores.

Fdo.
Fecha:

3º PERSONAL QUE HA INFORMADO DEBIDAMENTE AL PACIENTE

D^o/D^a,
Fdo.
Fecha:

REVOCACIÓN

(paciente)

Yo, D^o/D^a, con D.N.I., en calidad de (paciente/ representante legal):, revoco este consentimiento firmado anteriormente con ~~fecha~~ /, y expreso mi deseo de no autorizar a que se guarden células y tejidos en la institución para investigación.

Fdo.
Fecha:

NO CONFORMIDAD

Si usted no acepta firmar este documento, légalo con sus...

Fdo.
(Nombre y dos apellidos, con mayúsculas)
Fecha:

ANEXO 2

CUESTIONARIO DE FACTORES AMBIENTALES E HISTORIA FARMACOTERAPÉUTICA

NOMBRE:

NHC:

FECHA DE NACIMIENTO:

SEXO:

DOMICILIO:

LOCALIDAD:

LUGAR DE NACIMIENTO:

ETNIA:

ANTECEDENTES PERSONALES Y FAMILIARES:

DIAGNÓSTICO

HABITOS TÓXICOS

HISTORIA FARMACOTERAPÉUTICA

Tratamientos no relacionados con la terapia frente a EII

Fármaco	Posología	Inicio	Fin

Tratamientos relacionados con la terapia EII

Tratamientos previos al uso de Anti- TNF

Fármaco	Posología	Inicio	Fin

Anti TNF:

Nº de ciclos

Inicio

Fin

Tratamiento actual

Reacciones adversas o problemas relacionados con la medicación

Fecha

_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

ANEXO 3

CUESTIONARIO DE ADHERENCIA

SMAQ

1. Alguna vez, ¿olvida tomar la medicación?

si

no

2. ¿Se administra siempre los fármacos a la hora indicada?

Si

no

3. ¿Alguna vez deja de tomar los fármacos si se siente mal?

Si

no

4. ¿Olvidó tomar la medicación durante el fin de semana?

Si

no

5. En la última semana ¿cuántas veces no tomó alguna dosis?

A. Ninguna

B. 1-2

C. 3-5

D. 6-10

E. Más de 10

6. Desde la última visita ¿cuántos días completos no tomó la medicación?

Dos días o menos de dos días (A)

Más de dos días (B)

Se considera no adherente cuando cualquier respuesta dicotómica sea negativa y algunas de las continuas conste como que el paciente ha olvidado alguna dosis.

La pregunta 5 se puede usar como semicuantitativa: A: 95-100% adhesión; B: 85-94% adhesión; C: 65-84%; D: 30-64% y E<30%

ANEXO 4

CUESTIONARIO DE SATISFACCIÓN CON LA MEDICACIÓN (TSQM-II)

1. ¿Como de satisfecho o insatisfecho se encuentra con la capacidad de la medicación de prevenir o tratar su enfermedad?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

2. ¿Cómo de satisfecho se encuentra con el modo en el que la medicación alivia sus síntomas?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

3. ¿Cómo resultado de tomar esta medicación ha experimentado algún efecto adverso?
 1. Sí
 0. No

4. ¿cómo de insatisfecho se encuentra con los efectos adversos que interfieren en su salud física y en su habilidad funcional (fuerza, niveles de energía)?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Algo insatisfecho
 4. Ligeramente insatisfecho
 5. No del todo insatisfecho

5. ¿Cómo de insatisfecho se encuentra con los efectos adversos que interfieren con su función mental (habilidad para pensar claramente, permanecer despierto...)?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Algo insatisfecho
 4. Ligeramente insatisfecho
 5. No del todo insatisfecho

6. ¿Cómo de insatisfecho se encuentra con los efectos adversos que interfieren con su humor o su estado de ánimo (ansiedad, miedo, tristeza, irritación, furia...)?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Algo insatisfecho
 4. Ligeramente insatisfecho
 5. No del todo insatisfecho

7. ¿Cómo de satisfecho o insatisfecho se encuentra con la facilidad de uso de su medicación?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

8. ¿Cómo de satisfecho o insatisfecho se encuentra sobre cómo de fácil es planear cuando se usará la medicación cada vez?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

9. ¿Cómo de satisfecho o insatisfecho se encuentra sobre como de a menudo se espera usar o tomar la medicación?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

10. ¿Cómo de satisfecho se encuentra sobre los beneficios que le aporta tomar su medicación frente a los riesgos?
 1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

11. Teniendo todos los aspectos en consideración, ¿Cómo de satisfecho o insatisfecho se encuentra con su medicación?
1. Extremadamente insatisfecho
 2. Muy insatisfecho
 3. Insatisfecho
 4. Algo satisfecho
 5. Satisfecho
 6. Muy satisfecho
 7. Extremadamente satisfecho

ALGORITMO DE ESCALA DE PUNTUACIÓN (0-100)

EFICACIA: $[(\text{Item 1} + \text{item 2}) - 2] / (12) \times 100$

EFFECTOS ADVERSOS: $[(\text{Item 4} + \dots + \text{item 6}) - 3] / (12) \times 100$

CONVENIENCIA: $[(\text{Item 7} + \dots + \text{item 9}) - 3] / (18) \times 100$

SATISFACCIÓN GLOBAL: $[(\text{Item 10} + \text{item 11}) - 2] / (12) \times 100$

ANEXO 5

CALIDAD DE VIDA EN LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

CUESTIONARIO REDUCIDO "CCVEII-9"

1. ¿Con qué frecuencia ha ido de vientre durante las últimas semanas?

1. Más frecuentemente que nunca.
2. Extremada frecuencia.
3. Con mucha frecuencia.
4. Moderado aumento de la frecuencia de defecación.
5. Ligero aumento de la frecuencia de defecación.
6. Aumento mínimo de la frecuencia de defecación.
7. Normal, sin ningún aumento de la frecuencia de defecación.

2.- ¿Con qué frecuencia le ha causado problemas la sensación de fatiga o cansancio y agotamiento durante las últimas dos semanas?

1. Siempre.
2. Casi siempre.
3. Bastantes veces.
4. A veces.
5. Pocas veces.
6. Casi nunca.
7. Nunca.

3.- ¿Cuánta energía ha tenido durante las últimas dos semanas?

1. Ninguna energía.
2. Muy poca energía.
3. Poca energía.
4. Cierta energía.
5. Bastante energía.
6. Mucha energía.
7. Rebosante de energía.

4.- ¿Con qué frecuencia ha tenido que aplazar o anular una cita o compromiso social a causa de su problema intestinal durante las últimas dos semanas?

1. Siempre.
2. Casi siempre.
3. Bastantes veces.
4. A veces.
5. Pocas veces.
6. Casi nunca.
7. Nunca.

5.- ¿Con qué frecuencia ha tenido retortijones durante las dos últimas semanas?

1. Siempre.
2. Casi nunca.
3. Bastantes veces.
4. A veces.
5. Pocas veces.
6. Casi nunca.
7. Nunca

6.- ¿Con qué frecuencia ha tenido malestar general durante las últimas dos semanas?

1. Siempre.
2. Casi siempre.
3. Bastantes veces.
4. A veces.
5. Pocas veces.
6. Casi nunca.
7. Nunca.

7.- ¿Con qué frecuencia ha tenido nauseas o ganas de vomitar durante las últimas dos semanas?

1. Siempre.
2. Casi siempre.
3. Bastantes veces.
4. A veces.
5. Pocas veces.
6. Casi nunca.
7. Nunca.

8.- En general, hasta qué punto ha sido un problema tener gases durante las últimas dos semanas?

1. Un gran problema.
2. Un problema importante.
3. Bastante problemático.
4. Algo problemático.
5. Muy poco problemático.
6. Casi ningún problema.
7. Ningún problema.

9.- ¿Hasta qué punto ha estado satisfecho, contento o feliz con su vida personal durante las últimas dos semanas?

1. Muy insatisfecho, infeliz.
2. Bastante insatisfecho, infeliz.
3. Algo insatisfecho, descontento.
4. Algo satisfecho, contento.
5. Bastante satisfecho, contento.
6. Muy satisfecho, feliz.
7. Extremadamente satisfecho, no podría ser más feliz.

TABLA DE TRASFORMACIÓN DE PUNTUACIÓN PARA EL CUESTIONARIO REDUCIDO CCVEII-9

DIRECTA	FINAL	DIRECTA	FINAL
(suma de ítems)	(puntuación)	(suma de ítems)	(puntuación)
63	100	33	54.2
62	93.1	32	53.5
61	86.3	31	52.9
60	82.3	30	52.2
59	79.4	29	51.6
58	77.1	28	50.9
57	75.2	27	50.2
56	73.6	26	49.5
55	72.1	25	48.7
54	70.8	24	48.0
53	69.6	23	47.2
52	68.5	22	46.3
51	67.5	21	45.4
50	66.5	20	44.4
49	65.6	19	43.3
48	64.7	18	42.0
47	63.9	17	40.6
46	63.1	16	38.9
45	62.3	15	36.7
44	61.5	14	34.0
43	60.8	13	30.3
42	60.1	12	25.1
41	59.4	11	18.2
40	58.7	10	8.3

39	58.0	9	0.0
38	57.4		
37	56.7		
36	56.1		
35	55.4		
34	54.8		

Esta tesis ha sido realizada gracias a una beca (referencia: CM08/15-I) concedida por la Fundación Cajamurcia, Región de Murcia, España.

Los resultados obtenidos en esta tesis han sido objeto de las siguientes comunicaciones y de la siguiente publicación:

- Comunicación presentada en el 55 congreso nacional de la SEFH (Sociedad española de Farmacia Hospitalaria): “Influencia del polimorfismo FcGIIIA sobre la efectividad del infliximab y seguimiento farmacoterapéutico de los pacientes con enfermedad de Crohn”
- Comunicación oral presentada en el 57 congreso nacional de la SEFH: “Influencia del polimorfismo rs1143634 del gen IL1B en la respuesta al tratamiento con infliximab en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal”
- Publicación del artículo “Influence of polymorphisms and TNF and IL1B serum concentration on the infliximab response in Crohn’s disease and ulcerative colitis” (EJCP-2012-0312.R2). European Journal of Clinical Pharmacy 2012 (in press).