



UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

Influencia de Polimorfismos Genéticos,
Variables Analíticas y
Ambientales en las Concentraciones
Valle de Terapia Anti-TNF
de Pacientes con Enfermedad
Inflamatoria Intestinal

D^a Patricia Romero Cara
2015



UNIVERSIDAD DE MURCIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA INTERNA

Influencia de polimorfismos genéticos, variables analíticas y ambientales en las concentraciones valle de terapia anti-TNF de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal

D^a. Patricia Romero Cara

Directores

D. Pablo Conesa Zamora

D. Senador Morán Sánchez

2015



Dr. Pablo Conesa Zamora, Facultativo Especialista en Análisis Clínicos, responsable del Laboratorio de Diagnóstico Molecular y **Dr. Senador Morán Sánchez**, Jefe del Servicio de Aparato Digestivo, ambos del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena.

Certifican:

Que el presente Trabajo de Tesis titulado: ***“Influencia de polimorfismos genéticos, variables analíticas y ambientales en las concentraciones valle de terapia anti-TNF de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal”***, ha sido realizado por Patricia Romero Cara bajo nuestra inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

Para que así conste donde proceda, firmo la siguiente autorización:

En Murcia, a 27 de Octubre de 2015

Fdo. Dr. Pablo Conesa Zamora

Dr. Senador Morán Sánchez

A Jose y Julio, los dos pilares de mi vida

AGRADECIMIENTOS

Cuando por fin has llegado al final de un trabajo tan intenso como es el de una tesis doctoral y meditas sobre el esfuerzo que has realizado en este tiempo, llegas a la conclusión, de que todo esto no es sólo mérito tuyo, y que hubiese sido imposible sin la participación de otras personas que han contribuido generosamente para que este proyecto se finalice con éxito. Por ello, quisiera utilizar este espacio para expresarles mis agradecimientos.

Debo agradecer de manera especial a mis Directores de tesis, Senador Morán y Pablo Conesa, por todo el tiempo que han dedicado a este proyecto, por sus sugerencias e ideas de las que tanto provecho he sacado, su respaldo, apoyo y sincera amistad. Quiero extender mi agradecimiento a Fernando Carballo por todas las facilidades y libertad que me ha dado para que este proyecto salga adelante.

Agradezco de manera especial a Maria Sergia su disponibilidad, paciencia y tiempo dedicado (en muchas ocasiones, fuera de su horario de trabajo) de forma desinteresada y siempre amable. No cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado. Quiero extender mi agradecimiento a Juan Antonio y Jose por su inestimable ayuda y por el tiempo que también han dedicado en realizar las determinaciones de laboratorio de este trabajo.

Agradecer al Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria, y en especial, a Guadalupe Ruiz, su apoyo a la investigación en esta región. Su labor es fundamental para poder llevar a cabo con éxito estos proyectos. La profesionalidad y amabilidad de Guadalupe son admirables (así como su paciencia).

Gracias a todo el personal de la consulta de Digestivo, en especial a Elena por haber participado de una forma tan amable y cariñosa siempre.

Todo esto nunca hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de mi familia. Quiero aprovechar estas líneas para agradecer a mis padres de todo corazón la formación que me han dado. Ha sido clave en mi vida la influencia que ha ejercido su preocupación y su interés en mis estudios así como el amor incondicional que siempre he recibido y sigo recibiendo de ellos. Es imposible devolveros ni siquiera la mitad,

pero si puedo, al menos haceros llegar mi profundo agradecimiento. Gracias a mi hermana Rocío y Javi por la magnífica edición de este manuscrito. Siempre estáis dispuestos a ayudarme en tareas que para mi son un mundo.

Y por supuesto, el agradecimiento mas profundo es para mi marido y mi hijo. Sois mi motivación diaria. El motor de mi vida. El motivo que cada día me impulsa a ser la mejor persona que puedo. Espero poder cumplir vuestras expectativas. Os quiero.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	23
1.1. DEFINICION DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	23
1.2. EPIDEMIOLOGIA	24
1.2.1. Incidencia	24
1.2.2. Prevalencia	26
1.2.3. Características clínicas	26
1.2.3.1. Colitis ulcerosa	27
1.2.3.2. Enfermedad de Crohn.....	27
1.2.4. Factores medioambientales	27
1.2.5. Mortalidad	28
1.2.6. Cáncer	29
1.3. FISIOPATOLOGIA	29
1.3.1. Factores ambientales	30
1.3.2. Factores genéticos	30
1.3.3. Factores microbianos	31
1.3.4. Factores Inmunológicos	31
1.3.4.1. Inmunidad Innata en la EII	32
1.3.4.2. Inmunidad Adquirida en la EII	34
1.3.4.2.a. Papel del Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF-alfa)	35
1.3.4.2.b. Otras citoquinas clave en enfermedades inflamatorias	37
1.4. CLINICA Y DIAGNOSTICO DE LA COLITIS ULCEROSA	38
1.4.1. Clínica	38
1.4.2. Pruebas de laboratorio	39
1.4.3. Calprotectina fecal	39
1.4.4. Estudios de heces	40
1.4.5. Endoscopia	40
1.4.6. Anatomía Patológica	41
1.4.7. Criterios diagnósticos de colitis ulcerosa	41
1.5. CLINICA Y DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CROHN	42
1.5.1. Clínica	42
1.5.2. Pruebas de laboratorio	43
1.5.3. Calprotectina fecal	43
1.5.4. Estudio de heces	44
1.5.5. Endoscopia	44
1.5.6. Anatomía Patológica	45
1.5.7. Radiología	45
1.5.8. Criterios diagnósticos	46
1.6. MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES (MEI)	47
1.6.1. MEI de origen inmune	47
1.6.2. MEI no inmunes	48
1.7. TRATAMIENTO INMUNOMODULADOR	48
1.7.1. Tiopurinas	48
1.7.2. Metotrexate	50
1.8. TERAPIA ANTI-TNF	52
1.8.1. Concepto y estructura	52
1.8.2. Mecanismos de Acción	53
1.8.3. Absorción	54

1.8.4. Degradación y eliminación	54
1.8.4.1. Receptores Fc-gamma	55
1.8.4.1.a. Receptor Fc-gammaRIIIa	55
1.8.4.1.b. Receptor Fc-gammaRIIa.....	57
1.8.4.2. Receptor FcRn.....	57
1.8.5. Factores que influyen en la relación de la farmacocinética con la farmacodinamia de los anti-TNF	58
1.8.5.1. Inmunogenicidad.....	58
1.8.5.2. SRE y gravedad de la enfermedad.....	60
1.8.5.3. TNF-alfa	60
1.8.5.4. Tipo de enfermedad	60
1.8.5.5. Factores del huésped	61
1.8.6. Terapia anti-TNF en el tratamiento de la EC	61
1.8.6.1. Infliximab.....	62
1.8.6.2. Adalimumab.....	62
1.8.7. Terapia anti-TNF en el tratamiento de la CU	63
1.8.7.1. Infliximab.....	63
1.8.7.2. Adalimumab.....	63
1.8.8. Indicaciones y posología de terapia anti-TNF en EII	64
1.8.9. Terapia combinada	65
1.8.10 Optimización del tratamiento anti-TNF	66
1.8.10.1. No respondedores primarios.....	67
1.8.10.2. No respondedores secundarios (pérdida de respuesta)	67
1.8.11. Monitorización terapéutica de la terapia anti-TNF	68
1.8.11.1 Métodos de determinación	68
1.8.11.2 Medición de las concentraciones de anti-TNF	69
1.8.11.3. Utilidad de la monitorización del tratamiento en práctica clínica: revisión de la evidencia científica.	71
2. OBJETIVOS	77
2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	77
2.2. OBJETIVO PRINCIPAL	77
2.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS	77
3. METODOLOGIA	81
3.1. TIPO DE ESTUDIO	81
3.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	81
3.3. POBLACIÓN DEL ESTUDIO	81
3.3.1. Grupo infliximab	82
3.3.2. Grupo adalimumab.....	83
3.4. MATERIAL Y MÉTODOS	84
3.4.1. Determinación de la concentración de TNF-alfa	84
3.4.2. Determinación de las concentraciones valle de IFX y ADM.....	84
3.4.3. Determinación de anticuerpos anti-fármaco (ADAs).....	86
3.4.4. Estudios genéticos	87
3.4.5. Variables demográficas	91
3.4.6. Determinaciones de laboratorio	91
3.4.7. Metodología estadística	91
4. RESULTADOS	95
4.1. ANALISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS	95

4.1.1. Características basales de los pacientes	95
4.1.2. Variables analíticas	98
4.1.3. Concentraciones valle de anti-TNF	99
4.1.4. Distribución de los polimorfismos en los genes <i>FCGRT</i> , <i>FCGR2A</i> y <i>FCGR3A</i> 100	
4.1.5. Estudio descriptivo de las variables de confusión entre los grupos infiximab y adalimumab	103
4.2. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS.....	104
4.2.1. Influencia del polimorfismo VNTR en el gen <i>FCGRT</i> en las concentraciones valle de anti-TNF	104
4.2.2. Influencia del polimorfismo rs1801274 en el gen <i>FCGR2A</i> en las concentraciones de anti-TNF	106
4.2.3. Influencia del polimorfismo rs396991 en el gen <i>FCGR3A</i> en las concentraciones de anti-TNF	107
4.2.4. Influencia de los polimorfismos en los genes <i>FCGRT</i> , <i>FCGR2A</i> y <i>FCGR3A</i> en la concentración de TNF-alfa.....	109
4.2.5. Estudio de los factores que influyen la formación de ADAs	110
4.2.6. Estudio de las diferencias en los polimorfismos en los genes <i>FCGTR</i> , <i>FCGR2A</i> y <i>FCGR3A</i> entre EC y CU	113
4.2.7. Estudio de otras variables que pueden influenciar las concentraciones valle de anti-TNF	114
4.2.8. Influencia del polimorfismo en el gen <i>FCGRT</i> en las concentraciones de albúmina.....	120
4.2.9. Estudio de las diferencias de comportamiento de las variables entre los pacientes en terapia anti-TNF a dosis estándar y a dosis intensificada	121
4.2.10. Estudio de las diferencias en el tiempo de pérdida de respuesta a infiximab y adalimumab.....	123
5. DISCUSIÓN	127
6. CONCLUSIONES	143
7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	147
8. ANEXOS.....	159
8.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	159
8.2. CDAI.....	170
8.3. INDICE DE MAYO	171

LISTADO DE ABREVIATURAS

- ACT 1 y 2:** estudios que evaluaron la eficacia de infliximab en la colitis ulcerosa.
- ACCENT I y II:** estudios que evaluaron la eficacia de infliximab en la enfermedad de Crohn.
- AcM:** anticuerpo monoclonal.
- ADAs:** *anti-drug antibodies* (anticuerpos antifármaco).
- ADCC:** *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity* (citotoxicidad celular mediada por anticuerpos).
- ADM:** adalimumab.
- ADN:** ácido dexosi-ribonucleico.
- Anti-TNF:** anticuerpo monoclonal dirigido contra el factor de necrosis tumoral.
- AR:** artritis reumatoide.
- AZA:** azatioprina.
- CDAI:** *Crohn's disease activity index* (índice de actividad de la enfermedad de Crohn).
- CE:** cápsula endoscópica.
- CHARM:** estudio que evaluó la eficacia de adalimumab en enfermedad de Crohn.
- CI:** colitis indeterminada.
- CLASSIC I y II:** estudios que evaluaron la eficacia de adalimumab en enfermedad de Crohn.
- CF:** calprotectina fecal.
- CCR:** cáncer colorrectal.
- Coef:** coeficiente.
- CU:** colitis ulcerosa.
- Da:** daltons.
- DEFA:** alfa defensinas.
- DNA:** ácido dexosi-ribonucleico.
- dNTPs:** desoxirribonucleotidos trifosfatos.
- DR:** concentración dentro de rango terapéutico.

EC: enfermedad de Crohn.

ECCO: *European Crohn's and Colitis organization.*

EII: enfermedad inflamatoria intestinal.

ELISA: enzyme-linked immunoabsorbent assay (inmunoensayo).

Fab: región variable de una inmunoglobulina.

Fc: región constante de una inmunoglobulina.

FC: farmacocinética.

FcγR: familia de receptores Fc gamma.

Fc gammaR I, II y III: familia de receptores Fc gamma.

FCGR: 1A, 1B, 1C, 2^a, 2B, 2C, 3^a y 3B. Familia de genes que codifican receptores localizados en la superficie de células presentadoras de antígenos.

FCGR3A-158V/V: mutación que consiste en la sustitución de valina por fenilalanina en la posición 158 del gen *FCGR3A*.

FCGR2A-131HR: mutación que consiste en la sustitución de arginina por guanina en la posición 131 del gen *FCGR2A*.

FCGRT: gen que codifica al receptor FcRn.

FcRn: receptor de Brambell.

FD: farmacodinamia.

FID: fosa iliaca derecha.

FR: concentración fuera de rango terapéutico.

hab: habitantes.

HLA: factor mayor de histocompatibilidad.

HRP: peroxidasa de rábano.

HUSL: Hospital Universitario Santa Lucía.

GAIN: estudio que evalúa la eficacia de adalimumab en enfermedad de Crohn.

IBD: *inflammatory bowel disease.*

IFX: infliximab.

Ig: inmunoglobulina.

IgE: inmunoglobulina E.

IgG: inmunoglobulina G.

IgGs: inmunoglobulinas G.

IgM: inmunoglobulina M.

IFN-gamma: interferón gamma.

IMC: índice de masa corporal.

IL: interleuquina.

IL-2R: receptor de la interleuquina 2.

IL-12R: receptor de la interleuquina 12.

IL-23R: receptor de la interleuquina 23.

IMM: inmunomoduladores.

kDa: kilodaltons.

ln: logaritmo neperiano.

MCP: mercaptopurina.

MEI: manifestaciones extraintestinales.

MMP: muramil-dipéptidos de la pared bacteriana de bacterias gram-positivas.

MTX: metotrexate.

NF-KB: factor nuclear Kappa.

NOD2/CARD15: gen promotor de receptor citoplasmático relacionado con el sistema inmune innato.

PAMP: *pathogen-associated molecular pattern* (ligandos de los receptores PRR).

pH: potencial de hidrogeno (medida de la acidez o alcalinidad de una disolución).

PCR: proteína C reactiva.

PRR: receptores *pattern recognition*.

RE: retículo endoplasmico.

RIA: radio-immuno assay (inmunoensayo que precisa radioisótopos).

RCP: reacción en cadena de la polimerasa.

RMN: resonancia magnética.

SD: desviación estándar.

SRE: sistema retículo endotelial.

SNPs: *single nucleotide polymorphisms* (polimorfismos de nucleótido simple).

SONIC: estudio que evaluó la tasa de remisión en pacientes en tratamiento con azatioprina, infliximab o ambos en enfermedad de Crohn.

SUCCESS: estudio que evaluó la tasa de remisión en pacientes en tratamiento con azatioprina, infliximab o ambos en colitis ulcerosa.

TAC: tomografía axial computerizada.

TACE: enzima convertidora del factor de necrosis tumoral alfa.

TAXIT: *The Trough-Level Adapted infliximab Treatment Trial*.

TGF-B: factor de crecimiento de linfocitos beta.

Th1: linfocitos T *helper* 1.

Th2: linfocitos T *helper* 2.

Th17: linfocitos T *helper* 17.

Tm-TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa transmembrana.

TNF: factor de necrosis tumoral.

TNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa.

TNFR1 y 2: receptores del factor de necrosis tumoral alfa.

TPMT: enzima tiopuril-metil-transferasa.

TLR: receptores *toll-like*.

6-MMP: 6-metil mercaptopurina.

6-MP: 6-mercaptopurina.

6-TGN: 6 tioguanina.

6-TU: ácido 6-tioúrico.

sTNF-alfa: factor de necrosis tumoral alfa soluble.

UC: *ulcerative colitis* (colitis ulcerosa).

UPR: *unfolded protein response* (respuesta a las proteínas desplegadas).

ULTRA 1 y 2: estudios que establecieron la indicación para el uso de adalimumab en CU.

VNTR: *variable tandem number repeat* (mutación que consiste en la repetición variable de una secuencia de bases).

VSG: velocidad de sedimentación globular.



1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1. DEFINICION DE ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

El término enfermedad inflamatoria intestinal (EII) engloba tres entidades clínicas cuya característica principal es la inflamación crónica del tubo digestivo en diferentes localizaciones: enfermedad de Crohn (EC), colitis ulcerosa (CU) y colitis indeterminada (CI), también denominada colitis no clasificada. La EII es una enfermedad crónica que cursa con periodos de actividad inflamatoria, llamados brotes, y periodos de remisión en los que el paciente está libre de síntomas.

La etiología de la EII es desconocida. La teoría etiopatogenica más aceptada, apoyada en la evidencia científica actual, apunta a la alteración de la homeostasis inmune de la mucosa, en personas genéticamente susceptibles, dando lugar a una alteración en el procesamiento de antígenos, activación de linfocitos T patógenos e inflamación crónica junto con un papel esencial de la microbiota entérica (Wallace et al., 2014).

Los síntomas y la gravedad de cada una de estas entidades van a depender de la localización, extensión de la enfermedad, fenotipo, grado de actividad inflamatoria y asociación de manifestaciones extraintestinales entre otros factores.

La colitis ulcerosa se caracteriza porque la inflamación afecta exclusivamente a la mucosa del colon mientras que en la enfermedad de Crohn la afectación es transmural (de todas las capas de la pared) y puede estar afectado cualquier tramo del tracto gastrointestinal. Aunque diferentes entre si, comparten rasgos que pueden hacer difícil el diagnóstico diferencial. En la siguiente tabla (tabla 1.1) se destacan las principales diferencias entre ambas entidades.

Colitis ulcerosa	Enfermedad de Crohn
Afectación de recto	Afecta recto con menor frecuencia
Mayor o menor afectación de colon	Cualquier segmento de boca a ano
Afectación continua y simétrica	Afectación segmentaria asimétrica
Afectación mucosa	Afectación transmural

Engrosamiento capa muscular	“Envoltura grasa”
No habitual estenosis ni fístulas	Desarrollo de fístulas y estenosis
Rara enfermedad perianal	Enfermedad perianal
Raros abscesos	Abscesos intraabdominales
Pérdida del patrón vascular, edemas, úlceras	Úlceras serpiginosas, empedrado
Histología:	Histología:
- Abscesos en criptas	- Granulomas
- Lesiones continuas	- Lesiones discontinuas
- Distorsión arquitectural	- Fibrosis
- Depleción de mucina	- Agregados linfoides

Tabla.1.1 Diferencias entre colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn (Mendoza et al., 2007)

1.2. EPIDEMIOLOGIA

La epidemiología de la EII es compleja. No solo han cambiado la incidencia y la prevalencia de esta enfermedad a lo largo del último medio siglo, sino que la población afectada es cada vez más joven (Fiocchi et al., 2007).

Tradicionalmente, la EII ha sido una enfermedad de países desarrollados occidentales tales como Estados Unidos y norte de Europa (sobre todo Reino Unido y Escandinavia). Sin embargo, en las últimas décadas la epidemiología de la EII ha cambiado en muchos sentidos que van a ser comentados a continuación.

1.2.1. Incidencia

La incidencia se ha estabilizado o incluso descendido en los países occidentales, sin embargo, la EII se ha convertido en una enfermedad prevalente en países de Asia y Europa oriental con unas tasas de incidencia previas bajas. La hipótesis más aceptada que explica este fenómeno es la occidentalización del estilo de vida que el desarrollo económico ha traído a estos países, junto con una mejora en las herramientas diagnósticas y acceso a la sanidad.

Las tasas de incidencia globales en el mundo para EC y CU en población adulta varían entre 0.1-16/100.000/habitantes y 0.5-24/100.000/habitantes respectivamente (Ng et al., 2014). En un estudio de cohortes poblacionales realizado en 31 países europeos y

1. INTRODUCCIÓN

publicado en 2013 se describe un gradiente oeste-este en la incidencia, con tasas significativamente superiores en países de Europa occidental (las razones de este fenómeno no son bien conocidas). La tasa de incidencia mas alta del mundo (81.5/100.000 habitantes) se ha descrito en las Islas Feroe (Burisch et al., 2013; Munkholm et al., 2003). España está considerada como una zona de baja incidencia si la comparamos con países del norte de Europa, pero estudios prospectivos recientes muestran que los datos de incidencia están cambiando. La ECCO (European Crohn's and Colitis Organization) ha realizado un estudio epidemiológico prospectivo en el que participó la región de Vigo, como único centro español, y cuyos datos se publicaron en 2015. En esa cohorte española de 2010 la tasa de incidencia de EC fue de 10,8/100.000/habitantes y de CU de 9,4/100.000/habitantes (Fernández et al., 2015). En la siguiente tabla (tabla 1.2) se describen las tasas de incidencia en países desarrollados y Asia.

País	Año de Incidencia	CU/100.000 /hab	EC/100.000/ hab
EEUU	1993	8.3	6.9
	2004	14.3	14.6
Europa del Norte	1993	11.8	7.0
Europa del Sur	1993	8.7	3.9
Europa del Este	2011	4.1	3.1
Europa del Oeste	2011	10.8	6.5
Reino Unido	1994	13.9	8.3
Australia	2008	17.4	29.3
Nueva Zelanda	2004	16.5	7.6
Japón	1965	0.08	0.01
	1998	-	1.2
Corea del Sur	1990	0.34	0.05
	2005	3.08	1.34
Hong Kong	2001	1.20	1.00
	2012	1.66	1.31
España	2000	3,8	1,9
	2015	9.4	10.8

Tabla.1.2. Tasas de Incidencia de CU y EC en países desarrollados y Asia (Ng et al., 2014)

1.2.2. Prevalencia

De un modo similar a lo que ocurre con la incidencia, la prevalencia es mayor en Europa, Canadá y Estados Unidos. En este último país, por ejemplo, se ha descrito una prevalencia de EC y CU de 201 y 238 casos por 100.000/habitantes respectivamente. En la siguiente tabla (tabla 1.3) se resumen las tasas de prevalencia en países desarrollados y Asia.

País	Año de Prevalencia	CU/100.000/ hab	EC/100.000 /hab
EEUU	2001	246	162
	2004	238	201
Europa del Norte	1987	161	54
Europa del Sur	1992	121	40
Reino Unido	1996	122	214
Nueva Zelanda	2004	155	145
Japón	1965	5.5	5.85
	1991	18.1	5.9
Corea del Sur	2005	30.9	11.22
Hong Kong	1994	5.3	1.3
	2006	-	-
España	2000	121.8	116.5

Tabla. 1.3. Tasas de prevalencia de CU y EC en países desarrollados y Asia (Ng et al., 2014)

1.2.3. Características clínicas

La edad media al diagnóstico de la EC se sitúa entre los 20 y 30 años, mientras que la edad media al diagnóstico de la CU se sitúa entre los 30 y 40 años (Cosnes et al., 2011).

En países occidentales no hay diferencias en la frecuencia de la CU y la EC en cuanto al sexo, siendo la EC levemente más frecuente en la mujer. En países asiáticos sin embargo, la EC es más frecuente en el hombre (Ng et al., 2014).

1.2.3.1. Colitis ulcerosa

La CU se ha clasificado de forma clásica en función de su extensión en proctitis (afectación exclusivamente rectal), colitis izquierda (afectación hasta ángulo esplénico) y colitis extensa (afectación pasado el ángulo esplénico). En países occidentales, la proporción de pacientes según la extensión de la enfermedad es del 30-60%, 16-40% y 18-35% respectivamente.

Esta enfermedad puede cursar con dos tipos de patrón principalmente: en forma de periodos de brotes que alternan con periodos de remisión o como una enfermedad crónicamente activa.

1.2.3.2. Enfermedad de Crohn

La EC se localiza en el íleon, en el colon o en región ileocolica en una proporción parecida de pacientes presentándose con actividad perianal hasta en un tercio de los casos al diagnóstico. La afectación gastrointestinal alta (esófago, estomago o duodeno) es infrecuente. Se describen tres patrones de comportamiento de esta enfermedad, también llamados fenotipos: inflamatorio, estenosante y penetrante (pudiendo acompañarse cualquiera de los anteriores de afectación perianal) que en realidad representan la evolución natural de la enfermedad, de manera que el fenotipo puede cambiar a lo largo de la vida del paciente. Al diagnóstico, el patrón inflamatorio es el más frecuente (62-81%) (Prideaux et al., 2012).

1.2.4. Factores medioambientales

La existencia, por un lado, de diferencias geográficas en los datos de prevalencia e incidencia, y por otro, de un cambio de la epidemiología de la EII en relación a procesos migratorios sugiere que los factores medioambientales desempeñan un papel relevante en la fisiopatología de la enfermedad. A pesar de ello, los resultados de los trabajos que han investigado la relación entre múltiples factores medioambientales y la EII (tales como, por ejemplo, aspectos de la dieta: comida rápida, consumo de ácidos grasos y azúcar refinado), no han sido capaces de demostrar resultados concluyentes. Hasta la fecha, los únicos factores que se ha hallado que tienen un papel significativo tanto en la fisiopatología de la

EC como de la CU son el tabaco y la apendicetomía previa. El tabaco es un factor de riesgo para desarrollar EC mientras que juega un papel protector en la colitis ulcerosa (Ng et al., 2014). En el caso de la apendicectomía los estudios muestran que reduce el riesgo de desarrollar CU así como el riesgo de presentar brotes en los ya diagnosticados de la enfermedad (Prideaux et al., 2012).

1.2.5. Mortalidad

Aunque clásicamente se había descrito un aumento de la mortalidad de los pacientes con EII, respecto a la población general, (Sicilia et al., 2007) estudios recientes no lo confirman, ya que describen un descenso de la mortalidad que incluso no difiere de la población general para algunos grupos de pacientes. En un registro danés publicado en 2013 en el que se compararon datos de 2.858.096 controles con datos de 36.080 pacientes de CU y de 15.361 pacientes de EC (entre 1982 y 2010) se describe que la mortalidad en la EC está causada principalmente por infecciones, cáncer, enfermedades respiratorias y patología gastrointestinal. En el caso de la CU, la mortalidad relacionada con cáncer y patología gastrointestinal fue significativamente inferior a la comunicada previamente (Jess et al., 2013).

Un meta-análisis publicado en 2013, que incluyó 35 cohortes de pacientes describe, a diferencia de otros trabajos, que la ratio de mortalidad estándar para la EII es superior a la población general, siendo para la CU de 1.19 (IC 95%, 1.06-1.35) y para la EC de 1.38 (IC 95% 1.23-1.55) (Bewtra et al., 2013).

Aunque las nuevas terapias biológicas y el modo de aproximarnos al tratamiento de la enfermedad (indicando la terapia inmunomoduladora y biológica de una forma precoz) hayan podido impactar tanto en la mortalidad como en el cáncer asociado a EII por el mejor control de la actividad inflamatoria, entre otros factores, es pronto para estimar la magnitud de este impacto, ya que además, estas terapias no están exentas de efectos adversos severos de tipo infeccioso, neoplásico e incluso mortalidad, por lo que aún no existe en la actualidad evidencia para extraer conclusiones respecto a un beneficio neto en la mortalidad (Burisch et al., 2013).

1.2.6. Cáncer

Aunque el riesgo de cáncer colorrectal (CCR) ha sido estudiado de forma mas extensa en la CU, datos recientes sugieren que el riesgo es similar en la EC colonica. En la actualidad, la magnitud del riesgo es controvertido. Los datos de un meta-análisis publicado en 2011, que incluyó 116 estudios, describe una probabilidad acumulada de CCR en CU del 2% a los 10 años, 8% a los 20 años y 18% a los 30 años (Eaden et al., 2001). Estos datos no concuerdan con los obtenidos en dos estudios poblacionales, uno sueco, publicado en 2004 y otro norteamericano, publicado en 2006, que describen un riesgo de CCR en pacientes con CU similar al de la población general (Winther et al., 2004; Jess et al., 2006). Los estudios poblacionales y de registros hospitalarios de pacientes con EC describen que el riesgo relativo de CCR en la EC colonica es similar al riesgo de la CU (siendo menor el descrito en estudios poblacionales) estimándolo en 2.5 (IC 95%, 1.3-4.7) (Canavan et al., 2006).

Entre los factores claramente relacionados con CCR en EII se han descrito la duración y extensión de la enfermedad, los antecedentes familiares de CCR, la existencia concomitante de colangitis esclerosante primaria y sobre todo, la actividad inflamatoria persistente. También se han descrito factores que pueden hacer disminuir ese riesgo como son la proctocolectomía profiláctica, asistencia regular a consulta, realización de colonoscopias de cribado, el cumplimiento terapéutico por parte del paciente y la quimioprevención con mesalacina (Munkholm et al., 2003).

1.3. FISIOPATOLOGIA

En la teoría patogénica actual de la EII están involucrados factores genéticos, la microflora entérica, factores ambientales y del estilo de vida y el sistema inmune.

En la actualidad, existe evidencia para creer que la enfermedad se desarrolla en sujetos genéticamente susceptibles, por una regulación defectuosa de la homeostasis entre la microflora comensal entérica y otros factores ambientales, y la capacidad de respuesta inmune del paciente (la cual está regulada hacia la perpetuación del proceso inflamatorio).

Aunque clásicamente se había considerado que existía una alteración de la inmunidad adquirida, en la actualidad es conocido que la inmunidad innata está alterada inicialmente y es la responsable de que la adquirida perpetúe el proceso inflamatorio al responder a lo que ocurre en la interacción flora-ambiente-inmunidad innata de forma patológica (Wallace et al., 2014).

1.3.1. Factores ambientales

Se han relacionado múltiples factores medioambientales con la EII tanto con efecto predisponente como protector tales como: tabaquismo, dieta, fármacos, microorganismos, estrés psicológico y apendicectomía, entre otros. De todos ellos, tan solo se ha demostrado una asociación definitiva con el tabaco, considerado predisponente en la EC y protector en la CU (Fiocchi et al., 2007).

1.3.2. Factores genéticos

La agregación familiar de la EII es un fenómeno bien conocido, pudiendo estar afectados varios miembros de una misma familia. La incidencia descrita en familiares de primer grado se sitúa en el 30% (Fiocchi et al., 2007). En los últimos años se ha realizado un gran progreso en la genética de la EII demostrando que la alteración genética no se centra en un solo gen, sino en alteraciones poligénicas complejas.

En la actualidad, hay al menos 30 loci que muestran de manera inequívoca asociación con EC de genes relacionados con el reconocimiento de antígenos, con la autofagia, con el receptor de la IL-23, con el HLA de clase II, etc.

Las mutaciones más conocidas son las asociadas al gen *NOD2/CARD15* (solo para raza caucásica y asociadas con el fenotipo estenosante de la EC de intestino delgado) (Fiocchi et al., 2007; Economou et al., 2004). Las mutaciones más comunes son Arg702Trp (rs2066844), Gly908Arg (rs2066845) y Leu1007fsinsC (rs41450053). El producto de este gen es un receptor citoplasmático que pertenece a la familia de receptores relacionados con la respuesta inmune innata. Reconoce los muramil-dipéptidos de la pared bacteriana de bacterias gram-positivas (MMP) (Coulombe et al., 2009). Es razonable pensar que el reconocimiento alterado por proteínas NOD2 mutadas de lugar a una respuesta inmunológica anormal, aunque el mecanismo exacto por el que las variantes NOD2

contribuyen a la disrupción de la homeostasis inmune intestinal no es del todo conocido. Por una parte, pueden afectar a la regulación de la respuesta a la microflora comensal entérica mediada por los receptores toll-like (TLR), promoviendo una excesiva inflamación, y por otra podrían favorecer menores niveles de defensinas antimicrobianas (las células de Paneth, productoras de defensinas, expresan el gen *NOD2*).

1.3.3. Factores microbianos

Existen una evidencia robusta a favor de la implicación de la microbiota en la EII. Desde el punto de vista experimental, las colitis en modelos animales se inician y perpetúan en presencia de bacterias entéricas. Desde un punto de vista clínico, existen una serie de observaciones que apoyan el papel de la microbiota en la EII como es el hecho de que tanto los probióticos como los antibióticos tengan capacidad moduladora de la inflamación intestinal. Además se ha descrito una respuesta inmune exacerbada a los antígenos bacterianos y por otro lado, la localización más frecuente de la EC es el íleon terminal, que es la zona donde la concentración bacteriana es máxima, entre otros hechos.

Hasta la fecha no se ha podido aislar un solo patógeno responsable de la EII. Sin embargo, parece que los pacientes presentan disbiosis, es decir, perfiles menos complejos de bacterias comensales, a la vez que un número mayor de bacterias asociadas a la mucosa (Kaur et al., 2011). Mediante estudios de reacción en cadena de la polimerasa (RCP) cuantitativa se han observado cambios específicos en el contenido bacteriano de la flora intestinal de pacientes con EII. Se han evidenciado, menor concentración de *Firmicutes* y *Bacteroides* (con poder antiinflamatorio) y disminución de la diversidad de bacterias en las zonas afectas. No está aclarado si esta disbiosis es primaria o secundaria (Swidsinski et al., 2007).

1.3.4. Factores Inmunológicos

Clásicamente se había considerado que la EII estaba mediada por una respuesta alterada de la inmunidad adquirida mediada por la disregulación de los linfocitos T. Se consideraba que en la EC prevalecía una respuesta de los linfocitos T helper 1 (Th1) y en la colitis ulcerosa una respuesta de los linfocitos T helper 2 (Th2). Recientemente se han observado alteraciones relevantes en la inmunidad innata por un lado, e implicación de la subpoblación de linfocitos T helper 17 (Th17) en la respuesta inflamatoria intestinal por otro,

que han llevado a un cambio conceptual en la inmunopatología de la EII (Zhang et al., 2014).

1.3.4.1. Inmunidad Innata en la EII

En la actualidad, la evidencia apunta hacia un defecto de la inmunidad innata inicial que favorecería una mayor entrada de bacterias en la mucosa intestinal desencadenando una respuesta inmune adquirida alterada. Se han descrito diferentes aspectos de la inmunidad innata que estarían alterados en la EII que se describen a continuación.

La inmunidad innata representa la primera línea de defensa frente a patógenos desencadenando una respuesta no específica y rápida (de minutos a horas). Está mediada por una gran variedad de células que incluyen las células epiteliales, neutrófilos, células dendríticas, monocitos, macrófagos y células *natural-killer*. Se pone en marcha mediante el reconocimiento de antígenos microbianos a través de dos tipos de receptores: los *toll-like* (TLR), en la superficie celular, y los NOD que son citoplasmáticos. Ambos tipos de receptores se han clasificado como *pattern recognition receptors* (PRR). Los ligandos microbianos que los activan se han acuñado como *pathogen-associated molecular patterns* (PAMP) (Zhang et al., 2014).

Aunque el papel de la mutación en el gen *NOD2* anteriormente citada es controvertida, la evidencia disponible sugiere que representa una activación reducida del factor nuclear kappa (NF- κ B). Esta respuesta inadecuada puede resultar en una reducción de la producción de agentes microbicidas y secundariamente invasión de microbios patógenos (Abraham et al., 2006). Otros estudios sugieren que la pérdida de función *NOD2* puede desembocar en una respuesta Th1 excesiva e incluso contribuir a la inmunotolerancia. Estos efectos están alterados en células de pacientes con la mutación 3020insC en el gen *NOD2* (Noguchi et al., 2009).

Además, la IL-23 parece ser clave tanto en la inmunidad innata como en la adquirida. Polimorfismos en el gen del receptor de la IL-23 se han asociado tanto con EC como con CU. A parte de su acción sobre los linfocitos Th17, la IL-23 puede actuar sobre células linfoides de la inmunidad innata induciendo la producción de citoquinas (Takatori et al., 2009).

La EC también se ha relacionado con genes implicados en la autofagia. La autofagia es el mecanismo por el cual la célula se deshace de organelas y proteínas defectuosas siendo necesaria para la homeostasis y considerada muy importante para la defensa contra los patógenos intracelulares. Estos procesos están alterados en pacientes con mutaciones en los genes *NOD2* y *ATG16L1*.

Muy relacionada con la autofagia y la inmunidad innata se encuentra un proceso celular denominado “respuesta a las proteínas desplegadas” (*unfolded protein response*: UPR). Se trata de un proceso que se desencadena por el estrés del retículo endoplasmático (RE), inducido por el acumulo de proteínas mal plegadas dentro del mismo. Solo los genes relacionados con el UPR se han asociado con la CU y no los de la autofagia (Kaser et al., 2011).

Clásicamente se han descrito defectos en la barrera epitelial con un incremento asociado de la permeabilidad intestinal en pacientes con EII. La importancia del moco, como primera barrera física en la prevención de la permeabilidad bacteriana, se ha descrito en múltiples trabajos.

La segunda línea de defensa está representada por las propias células epiteliales así como las células epiteliales especializadas. A parte de la barrera física, estas células producen por una parte el moco (células de Goblet) y por otra parte las defensinas (células de Paneth) (Zhang et al., 2011). Son especialmente relevantes los hallazgos respecto al déficit de defensinas en la mucosa de intestino delgado y colon de pacientes con EC. Estas moléculas son unos péptidos catiónicos antimicrobianos con capacidad antibiótica que contribuyen a regular el número de bacterias y composición de la flora intestinal al actuar como detergente que fragmenta la doble capa de fosfolípidos de los agentes antimicrobianos (Wehkamp et al., 2009). Existen dos tipos de defensinas, alfa y beta. Hay descritas seis alfa-defensinas (DEFA), las DEFA5 y DEFA6 se expresan en el íleon terminal exclusivamente por las células de Paneth habiéndose evidenciado déficit de las mismas en pacientes con EC, sobre todo en aquellos que presentan *NOD2* mutado. Es de destacar, que los déficits de defensinas observados en la EC son permanentes e independientes de la actividad inflamatoria de la enfermedad, que probablemente se explicarían por defectos genéticos y serían primarios en la patogenia de la EC (Kübler et al., 2009). La siguiente figura (figura 1.1) es un esquema que resume las respuestas del sistema inmune innato en el intestino.

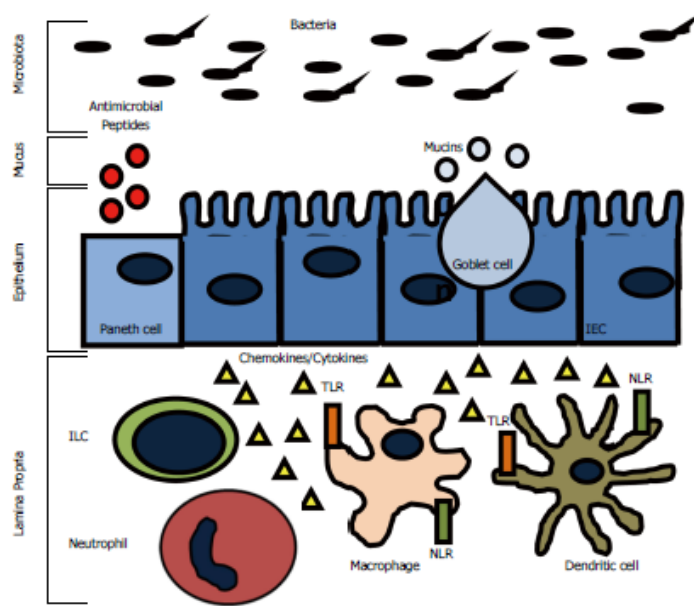


Figura 1.1. Respuestas del sistema inmune innato en el intestino (Wallace et al., 2014)

1.3.4.2. Inmunidad Adquirida en la EII

De una forma opuesta a la inmunidad innata, la adquirida es altamente específica, tarda varios días en poner en marcha la respuesta, confiere inmunidad duradera (memoria) y depende del tipo y número de células T y B, que cuando se activan, generan respuestas efectoras a través de citoquinas y anticuerpos.

Clásicamente se pensaba que la alteración de la inmunidad adquirida era el eje de la patogénesis en la EII, bien a través de un incremento de las citoquinas proinflamatorias secretadas por subclases de linfocitos T helper o bien por ineficacia de los linfocitos T reguladores con actividad antiinflamatoria. Sin embargo, en la actualidad sabemos que las alteraciones en la inmunidad innata son al menos igual de importantes.

Los linfocitos T helper pueden diferenciarse en Th1, Th2 y Th17. Los linfocitos Th1 son inducidos por la IL-12 y característicamente secretan interferon-gamma (IFN-gamma), factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-alfa) e IL-12, mientras que los linfocitos Th2 secretan IL-4, IL-5, IL-13. Aunque siempre se ha pensado que la EC es mediada por una respuesta Th1 (propia de la autoinmunidad) porque las células de la mucosa de pacientes con EC secretan altas cantidades de IFN-gamma, entre otros datos, y que la CU es una enfermedad mediada por una respuesta Th2 (propia de los procesos alérgicos) porque las células de la mucosa de pacientes con CU secretan altas cantidades de IL-2; este

paradigma es hoy controvertido, ya que la evidencia reciente sugiere que existen otras células con un papel importante en la patogenia de la EII como son los linfocitos Th17 y las células linfoides innatas. (Wallace et al., 2014).

Los linfocitos Th17 son una subclase de linfocitos T helper que son inducidos por la IL-6 y TGF- β (factor de crecimiento de linfocitos beta). Su producción se ve aumentada por la IL-23 y característicamente producen altas cantidades de la familia de citoquinas IL-17 (Dong et al., 2003). Esta familia está compuesta por seis citoquinas, IL-17A a IL-17F. La patobiología de los linfocitos Th17 es muy compleja ya que en diferentes modelos experimentales se han distinguido subclases de Th17 tanto “patógenos” como “no patógenos”. (Wallace et al., 2014). En la mucosa de pacientes con EC y CU se han hallado niveles elevados de IL-17A y un número elevado de linfocitos Th17 y Th1. Datos de estudios recientes sugieren que la IL-17A puede proteger frente al desarrollo de inflamación de la mucosa mientras que la IL-17F puede promoverla (Fujino et al., 2003). Sin embargo, un estudio randomizado, doble ciego y controlado con placebo que evaluaba si un anticuerpo monoclonal (AcM) contra la IL-17A, (secukinumab), era eficaz en EC, tuvo que suspenderse de forma precoz porque sorprendentemente se halló que el bloqueo de la IL-17A no era eficaz y se asociaba a un alta tasa de efectos adversos comparado con placebo, sugiriendo un efecto protector del mismo (Hueber et al., 2012). El verdadero papel de los linfocitos Th17 en la patogénesis de la EII está siendo foco de investigación en la actualidad. Particularmente interesante es el hecho de que estas células expresan en su superficie el receptor de la IL-23 (Caruso et al., 2009).

1.3.4.2.a. Papel del Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF-alfa)

La biología del TNF-alfa es muy compleja y un tema de investigación actual. De hecho, los mecanismos de acciones celulares y moleculares tanto del TNF-alfa como de sus antagonistas no son del todo bien conocidos. El TNF-alfa juega un papel clave como citoquina proinflamatoria que pone en marcha la respuesta local frente a la agresión (Tracey et al., 2008). Es producido tanto por células del sistema inmune (sobre todo macrófagos) como no inmunes en menor proporción (fibroblastos, neuronas, células del músculo liso, etc.). Existen dos tipos de TNF-alfa: soluble y transmembrana. El transmembrana (tmTNF-alfa, de 26-kDa) es separado enzimáticamente por la enzima convertidora del TNF-alfa (TACE) en la forma soluble (sTNF-alfa, de 17-kDa). Ambos son biológicamente activos e interactúan con dos tipos de receptores para ejercer su acción: TNFR1 y TNFR2. Aunque ambas formas de TNF-alfa se pueden unir a ambos receptores el sTNF-alfa se une

1. INTRODUCCIÓN

preferentemente al TNFR1. Este inmunocomplejo ejerce su acción efectora mediante dos vías: por un lado activa el factor nuclear Kappa-B1 (NF-KB1) dando lugar a la producción de diferentes citoquinas proinflamatorias, (entre ellas la IL-1 y la IL-6) e induce la expresión de moléculas de adhesión promoviendo la migración leucocitaria, y por otro induce la apoptosis dependiente de las caspasas 8 y 3. El tmTNF-alfa se une preferentemente al TNFR2 ejerciendo propiedades inmunorreguladoras. Este efecto se le atribuye dada la posibilidad del tmTNF-alfa de actuar tanto como receptor como ligando pudiendo inducir señal inversa desencadenando activación celular, supresión de citoquinas y apoptosis de células portadoras de tmTNF. Es decir, que lo que si está claro es que el TNF-alfa ejerce funciones tanto proinflamatorias como inmunorreguladoras (Billiet et al., 2014). La siguiente figura (figura 1.2) representa los mecanismos de acción del TNF-alfa.

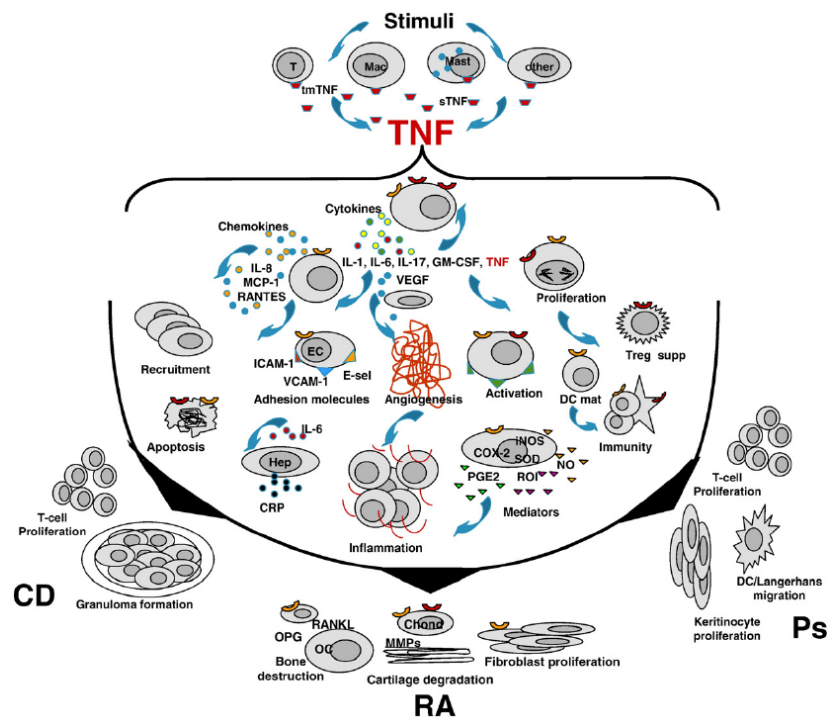


Figura 1.2. Mecanismos de acción del TNF-alfa (Tracey et al., 2008).

Los estudios que han evaluado la distribución del TNF-alfa en mucosa inflamada y sana mediante inmunohistoquímica han hallado que las células positivas para TNF-alfa son infrecuentes en la mucosa sana mientras que son numerosas en la lámina propia tanto de pacientes con EC como CU. En cuanto al TNF-alfa en suero, se ha observado que las concentraciones están más elevadas cuando hay actividad inflamatoria (sobre todo en EC) y respecto al TNF-alfa hallado en heces, se ha hallado que los niveles se correlacionan con la actividad de la enfermedad en niños (Roberts-Thomson et al., 2011).

1.3.4.2.b. Otras citoquinas clave en enfermedades inflamatorias

- Familia de IL-17

Esta familia está compuesta por al menos seis citoquinas. Las que tienen las funciones más importantes parecen ser la IL-17A y la IL-17F. De entre sus efectos biológicos destacan la regulación inmune y el reclutamiento de células inflamatorias (monocitos y neutrófilos). La producción de IL-17A por los linfocitos Th17 está influenciada por una gran variedad de citoquinas, entre ellas la IL-23.

Estudios de inmunohistoquímica han demostrado la presencia de células (sobre todo células T y macrófagos) positivas para IL-17 en la mucosa de pacientes con EC y CU. Además, también se han hallado niveles en sangre elevados de IL-17 en pacientes con ambas enfermedades (Roberts-Thomson et al., 2011).

- IL-23

La IL-23 pertenece a la familia de la IL-12 que a su vez pertenece a la superfamilia de la IL-6. Comparte una subunidad de 40-kDa con la IL-12 y una subunidad del receptor de la IL-12.

La siguiente figura (figura 1.3) ilustra la estructura de la familia de la IL-12 y sus receptores.

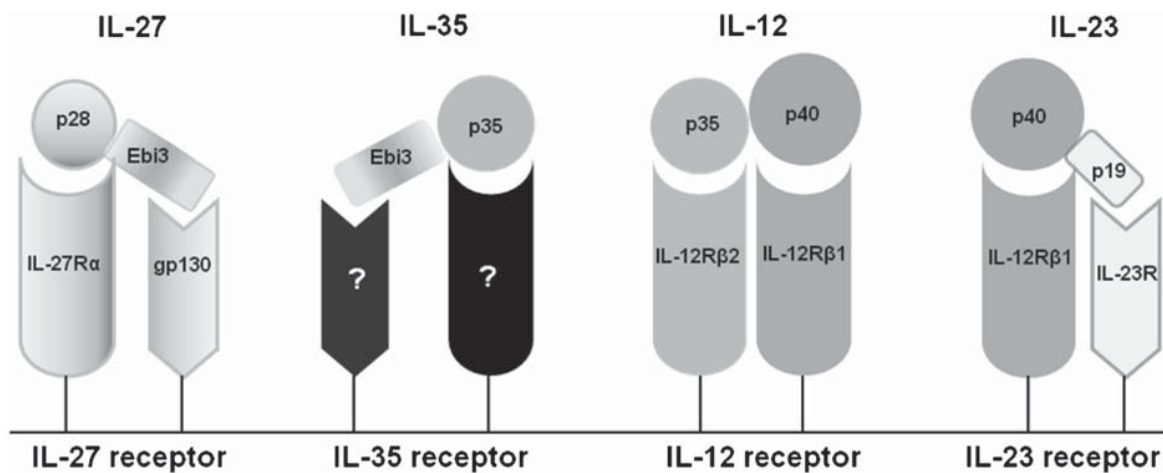


Figura 1.3. Estructura de la familia de la IL-12 y sus receptores (Duvallet et al., 2011).

La IL-23 es expresada principalmente por macrófagos y células dendríticas mientras que su receptor se encuentra en linfocitos T memoria, células *natural-killer*, macrófagos, células dendríticas y linfocitos T naïve. Sus efectos biológicos principales son la estimulación de la presentación de antígenos por las células dendríticas, la diferenciación de linfocitos T helper en Th17 y la producción de IFN-gamma. También puede actuar como citoquina efectora final ejerciendo una activación directa sobre los macrófagos.

En cuanto a su papel en la inflamación intestinal, se ha observado que los ratones deficientes en esta citoquina tienen menor inflamación intestinal. Además se han encontrado mutaciones del gen del receptor de la IL-23 (IL-23R) en algunos pacientes con EII. De hecho, estudios recientes han establecido que algunos polimorfismos de este receptor son un factor de riesgo tanto para EII como para psoriasis (Duvallet et al., 2011; Roberts-Thomson et al., 2011). Además, el AcM que bloquea la unidad p40 de la IL-12 e IL-23, ustekinumab, ha demostrado su eficacia en pacientes con EC moderada-severa impidiendo la interacción de ambas citoquinas con el receptor IL-2Rbeta1 (Sandborn et al., 2008).

1.4. CLINICA Y DIAGNOSTICO DE LA COLITIS ULCEROSA

1.4.1. Clínica

Los síntomas guía de la CU son diarrea mucosanguinolenta diurna y/o nocturna, dolor abdominal cólico, sangrado rectal, con o sin urgencia defecatoria, y tenesmo rectal. La diarrea asociada a la emisión de sangre en las heces es el síntoma más frecuente. El cuadro clínico puede ser muy variable estando relacionado con la extensión y gravedad de la actividad inflamatoria de la enfermedad. En los casos de inflamación rectal intensa, se produce la emisión de “pujos” rectales que consisten en la emisión escasa pero frecuente de moco y sangre asociada o no a la presencia de heces líquidas. La afectación rectal también es la responsable de la urgencia e incontinencia defecatoria que pueden presentar estos pacientes independientemente de que la afectación sea exclusivamente rectal o extensa. En el caso de colitis extensa, además de la diarrea sanguinolenta se pueden asociar rectorragia (que de forma infrecuente se acompañará de repercusión hemodinámica) y síntomas generales tales como el dolor abdominal, la fiebre o la pérdida

de peso.

La exploración física puede encontrarse dentro de la normalidad (en los casos menos extensos y con actividad leve) o se podrán evidenciar a nivel abdominal, signos tales como alteración de los ruidos hidroaéreos, distensión abdominal, timpanismo y/o dolor. En el tacto rectal se podrán hallar restos mucosanguinolentos, estenosis, o alteraciones en la inspección perianal. En los casos extensos y graves se podrán hallar signos de repercusión sistémica tales como fiebre, palidez cutáneo-mucosa secundaria a anemia, taquicardia, hipotensión arterial o deficiente estado nutricional.

El curso o patrón de la enfermedad consta de periodos de recaída clínica (denominados brotes) que alternan con otros de remisión. Sin embargo, un 5% de los casos presentarán un curso crónico continuo sin periodos de remisión (Stange et al., 2008).

1.4.2. Pruebas de laboratorio

A nivel analítico pueden existir ferropenia o anemia, leucocitosis, trombocitosis, hipoproteinemia, elevación de reactantes de fase aguda (considerados marcadores de actividad biológica) como velocidad de sedimentación (VSG) y/o proteína C reactiva (PCR). En algunos casos hay alteración de la bioquímica hepática, lo que obliga a descartar la asociación de colangitis esclerosante primaria, entre otras entidades. La PCR tiene una vida media corta y refleja cambios en la actividad inflamatoria de forma muy precoz pero es altamente inespecífica.

1.4.3. Calprotectina fecal

La calprotectina fecal (CF) es una proteína que está presente en el citoplasma del neutrófilo siendo su presencia en heces indicativa de migración de los mismos al intestino. Durante los últimos años se ha investigado la utilidad de la CF para evaluar la actividad de la enfermedad y capacidad para predecir los brotes de la misma, ya que sus concentraciones se correlacionan bien con el grado de actividad inflamatoria endoscópica e histológica. En lo que aún no se ponen de acuerdo los autores es en cuales son los valores de las concentraciones significativos, proponiéndose en la actualidad como medidas de corte para enfermedad activa entre 200 y 250 µg/g (D'Haens et al., 2012).

1.4.4. Estudios de heces

Es obligatorio descartar patología infecciosa tanto al debut de la enfermedad como en los siguientes brotes, por lo que se realizarán coprocultivos, estudio de parásitos en heces y estudio de la toxina del *clostridium difficile*.

1.4.5. Endoscopia

La ileocolonoscopia con toma de biopsias es la técnica de elección ya que permite estudiar la extensión y gravedad. Se observará inflamación de la mucosa de carácter continuo. La actividad inflamatoria puede ser leve (mucosa de superficie granular con edema, eritema, pérdida de brillo y ausencia de visualización de vascularización submucosa), moderada (microulceraciones, friabilidad al roce y exudado fibrinoso) o grave (úlceras mayores de 5 mm, confluentes, profundas y sangrado espontáneo). En 2005 se adoptaron los criterios de Montreal que clasifican la enfermedad según gravedad y extensión que se resumen en la siguiente tabla (tabla 1.5).

EXTENSION (E)	GRAVEDAD (S)
E1: proctitis ulcerosa	S0: colitis en remisión
E2: colitis distal (hasta el ángulo esplénico)	S1: colitis leve: igual o menos de 4 deposiciones al día con sangre
E3: colitis extensa: desde recto hasta pasado el ángulo esplénico	S2: colitis moderada
	S3: colitis grave: igual o más de 6 deposiciones al día y signos de toxicidad sistémica

Tabla. 1.5. Clasificación de Montreal (Silverberg et al ., 2005).

1.4.6. Anatomía Patológica

Está indicada la toma de biopsias de al menos cinco tramos intestinales incluyendo recto, colon e íleon. Desde un punto de vista macroscópico es característica la afectación continua de la mucosa desde recto (que puede no estar afectado en el caso de uso de medicación rectal). En casos graves de larga evolución se puede hallar acortamiento de colon con pérdida de distensibilidad y de haustración. Desde el punto de vista histológico, los hallazgos no son patognomónicos y están relacionados con la gravedad de la inflamación. Se identificará un infiltrado inflamatorio crónico en mucosa y submucosa a expensas sobre todo de células mononucleares y neutrófilos. Estos últimos pueden formar agregados en las bases de las criptas formando “abscesos crípticos”. Otros hallazgos frecuentes son la distorsión de la arquitectura glándular, edema y disminución de moco (Sans et al., 2007).

1.4.7. Criterios diagnósticos de colitis ulcerosa

No existe un hallazgo clínico o de las pruebas complementarias que sea patognomónico y que por tanto permita establecer el diagnóstico por sí mismo de colitis ulcerosa. Es por ello que en 1989 se propusieron unos criterios diagnósticos (criterios de Lennard-Jones) que permiten realizar el diagnóstico de la enfermedad excluyendo de forma razonable otras causas de colitis.

Criterios diagnósticos	Colitis Ulcerosa
Clínicos	Rectorragia, diarrea crónica, dolor abdominal, manifestaciones extraintestinales.
Radiológicos	Mucosa granular, úlceras espiculares, pseudopólipos. Estrechamiento de la luz, acortamiento del colon, pérdida de haustración.

<p>Endoscópicos</p>	<p>Mucosa eritematosa, granular, edematosa y/o friable, exudado o ulceraciones, hemorragia al roce o espontánea.</p> <p>Pólipos y pseudopólipos. Afectación mucosa continúa.</p> <p>Lesión casi constante del recto.</p>
<p>Anatomopatológicos</p>	<p>Mayores: inflamación exclusiva de la mucosa, úlceras superficiales, distorsión de las criptas, microabscesos, depleción de las células caliciformes.</p> <p>Menores: infiltrado inflamatorio crónico, aumento de la vascularización mucosa, metaplasia de las células de Paneth, atrofia mucosa, hiperplasia linfoide.</p>
<p>Enfermedad definida</p>	<p>2 criterios</p>

Tabla 1.6. Criterios de Lennard-Jones (Lennard-Jones et al., 1989).

1.5. CLINICA Y DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CROHN

1.5.1. Clínica

Los síntomas clásicos de presentación son dolor abdominal, pérdida de peso y diarrea crónica. Esta triada se da en el 25% de los casos al diagnóstico de la enfermedad. La diarrea es el síntoma más frecuente y puede ser multifactorial (secundaria a inflamación, sobrecrecimiento bacteriano, malabsorción de sales biliares, etc.). El tipo de dolor abdominal está relacionado con la localización de la enfermedad y patrón de la misma. Mientras que los pacientes con EC de íleon terminal y patrón estenosante presentaran dolor cólico en FID asociado a distensión abdominal, aquellos que presenten EC de localización

gastrointestinal alta referirán dolor de tipo ulceroso asociado a vómitos. La localización en colon suele provocar dolor de tipo continuo en hipogastrio. Si la enfermedad se complica con perforación intestinal, el dolor asociará signos de irritación peritoneal y fiebre. La pérdida de peso es más frecuente en la EC que la CU siendo la manifestación inicial en dos tercios de los pacientes pediátricos. Entre el 5 y el 10% de pacientes presentan enfermedad perianal al diagnóstico (este porcentaje sube al 20% a lo largo de la evolución del proceso, incluso al 40% si se trata de EC de localización colorrectal) y consiste en la aparición de fisuras anales atípicas y/o fístulas y abscesos perianales. La enfermedad perianal puede preceder a la aparición de síntomas intestinales en años. Respecto a la fiebre, esta suele ir acompañada de otros síntomas ya que suele deberse a actividad inflamatoria grave o complicaciones (Domenech et al., 2007).

En la exploración física se pueden hallar signos de afectación sistémica tales como taquicardia, fiebre o febrícula e hipotensión. La exploración abdominal puede mostrar distensión abdominal, timpanismo, auscultación de ruidos hidroaéreos anormales, palpación de masas, semiología de líquido libre intraperitoneal y/o signos de irritación peritoneal. Es preciso siempre realizar una inspección anal para detectar enfermedad perianal. En el tacto rectal se podrán hallar estenosis o masas palpables. Es necesario realizar una evaluación nutricional básica mediante peso, talla y determinación del índice de masa corporal (IMC).

En el fenotipo penetrante pueden existir síntomas de acuerdo al órgano afectado. Las fístulas externas aparecerán entre el segmento intestinal inflamado y la piel (fístulas enterocutáneas) y las fístulas internas, hacia estructuras generalmente intraabdominales o pélvicas (fístulas enteroenterales, enterocólicas, enterovesicales o uretrales, enterovaginales) (Stange et al., 2008).

1.5.2. Pruebas de laboratorio

Similar a lo comentado en el apartado de colitis ulcerosa.

1.5.3. Calprotectina fecal

Similar a lo comentado en el apartado de colitis ulcerosa.

1.5.4. Estudio de heces

Similar a lo comentado en el apartado de colitis ulcerosa.

1.5.5. Endoscopia

- Ileocolonoscopia: es la técnica de elección para el estudio de íleon terminal, recto y colon. Se observará afectación discontinua de la mucosa de carácter segmentario que afecta al íleon terminal y/o distintos segmentos colónicos. Las lesiones variaran desde aftas milimétricas rodeadas de mucosa edematosa y/o eritematosa a úlceras serpiginosas, de fondo fibrinoso y distintos tamaños, que pueden confluir dando lugar a la llamada mucosa “en empedrado”.

- Gastroscopia / Capsula endoscópica (CE): indicadas para el estudio de lesiones en otras localizaciones del tracto gastrointestinal. La gastroscopia permite el estudio hasta duodeno mientras que la CE permite el estudio de todo el intestino delgado. Es la técnica con mayor sensibilidad (83%) para el estudio de delgado aunque su especificidad es baja (53%).

- Enteroscopia: indicada para la toma de biopsias en los casos en los que no existen lesiones accesibles a la gastroscopia o ileocolonoscopia y se haya demostrado la existencia de lesiones en intestino delgado.

Los estudios endoscópicos permitirán establecer la gravedad y extensión de las lesiones para poder clasificar la enfermedad según los criterios de Montreal de 2005 que se resumen en la siguiente tabla (tabla 1.6).

Edad al diagnóstico (A)
A1: a los 16 años o antes
A2: entre los 17 y 40 años
A3: > 40 años
Localización de la enfermedad (L)
L1: íleon terminal

L2: colon
L3: íleon y colon
L4: se le añadirá a las anteriores si hay afectación proximal a íleon
Fenotipo (B)
B1: inflamatorio
B2: estenosante
B3: fistulizante
“p”: se añadirá a las anteriores si existe enfermedad perianal

Tabla.1.6. Clasificación de Montreal(Silverberg et al., 2005).

1.5.6. Anatomía Patológica

Desde un punto de vista macroscópico, en las piezas de resección quirúrgica, la afectación ileal, el engrosamiento de la pared y la afectación de la grasa orientan al diagnóstico de EC. A nivel microscópico son características la transmuralidad de las lesiones, la hiperplasia linfoide transmural, hiperplasia de las fibras nerviosas submucosas y la presencia de granulomas (en el 50%de los casos). Desde un punto de vista microscópico los hallazgos característicos son la inflamación crónica con infiltrado de linfocitos y células plasmáticas focal o parcheado, irregularidad focal de las criptas y existencia de granulomas no caseificantes (es el criterio mas característico aunque solo se detecta en el 10-30% de las biopsias). A nivel de íleon, además se hallarán alteraciones en la arquitectura de las vellosidades. Se recomienda tomar al menos 2 biopsias de 5 localizaciones diferentes para el estudio histológico (Domenech et al., 2007).

1.5.7. Radiología

Las técnicas radiológicas van a permitir completar el estudio de extensión iniciado con la endoscopia aportando sobre todo datos sobre el fenotipo o patrón de comportamiento de la enfermedad a la vez que descartan la existencia de complicaciones. De obligada realización al inicio del diagnóstico de la enfermedad, hoy en día los estudios baritados han quedado obsoletos realizándose ecografía abdominal (con estudio Doppler

y/o contraste intravenoso), entero-tomografía axial computerizada (enteroTAC) o enterorresonancia magnética (enteroRMN). La primera es una técnica barata e inocua. Su principal inconveniente es que es explorador-dependiente. Su utilidad principal radica en el estudio de íleon terminal y descartar complicaciones (abscesos, colecciones, etc.) Tanto la TAC como la RMN tienen una alta sensibilidad y especificidad. La ventaja de la TAC respecto a la RMN es la rapidez en su realización. La RMN es una exploración larga y no está disponible en todos los centros. Su principal ventaja es la ausencia de radiación ionizante (hecho muy relevante al tratarse de una enfermedad crónica que debuta a edades jóvenes). Ambas técnicas van a poder estimar la extensión, actividad inflamatoria, la presencia de estenosis y descartar complicaciones. Destacar que para el estudio de la enfermedad perianal, la RMN pélvica supera a la TAC permitiendo obtener un mapa de la fístula que ayude a planificar la cirugía (Stange et al., 2008).

1.5.8. Criterios diagnósticos

Dado que en la EC, al igual que en la CU, no existen unos hallazgos patognomónicos que permitan realizar el diagnóstico de la enfermedad, por los mismos motivos se desarrollaron también los criterios de Lennard-Jones para la EC que se detallan en la siguiente tabla (tabla 1.7).

Criterios diagnósticos	Enfermedad de Crohn
Clínicos	Dolor abdominal recurrente, diarrea, pérdida de peso, masa abdominal, fiebre, enfermedad perianal, fístulas, manifestaciones extraintestinales
Radiológicos	Úlceras aftoides, longitudinales, pólipos inflamatorios, edema de las válvulas conniventes. Estenosis, dilatación, fístulas, asimetría de las lesiones.
	Colon: aftas, ulceraciones lineales profundas o serpiginosas, aspecto en empedrado, estenosis, orificios fistulosos,

<p>Endoscópicos</p>	<p>pseudopólipos y pólipos; lesiones segmentarias, de extensión variable con recto preservado.</p> <p>Íleon: aftas, úlceras, estenosis.</p>
<p>Anatomopatológicos</p>	<p>Mayores: inflamación transmural, granulomas no caseificantes, agregados linfoides sin centro germinal.</p> <p>Menores: inflamación de carácter discontinuo, inflamación de la submucosa con arquitectura epitelial conservada, retención de moco con inflamación crónica, fisuras.</p>
<p>Enfermedad definida</p>	<p>Granulomas y otro criterio o ausencia de granulomas y tres criterios.</p> <p>Dos criterios en ausencia de granulomas.</p>

Tabla 1.7. Criterios de Lennard-Jones(Lennard-Jones et al., 1989).

1.6.MANIFESTACIONES EXTRAINTESTINALES (MEI)

La EII debe considerarse una enfermedad sistémica, ya que entre el 10 y el 50% de los casos, según las series, asocian manifestaciones secundarias a la afectación de otros órganos. Los órganos más frecuentemente afectados son las articulaciones, la piel, los ojos y la vía biliar. Se pueden clasificar atendiendo a su etiología en dos grupos: de origen inmune y de origen no inmune.

1.6.1. MEI de origen inmune

Se pueden dividir en dos grupos: reactivas a la EII (aparecen durante los brotes de actividad inflamatoria) y autoinmunes independientes de la EII.

- Reactivas: estomatitis aftosa, artritis, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, uveitis, iritis, etc.
- Independientes: espondilitis anquilopoyética, artritis reumatoide seropositiva, colangitis esclerosante primaria, alopecia areata, bronquiolitis obliterante, urticaria al frío, anemia hemolítica, púrpura de Schönlein-Henoch, diabetes mellitus tipo 1, pancreatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, polimiositis, fenómeno de Raynaud, síndrome de Sjögren, enfermedad tiroidea, psoriasis y vitiligo.

1.6.2. MEI no inmunes

Son aquellas que aparecen en el curso de la EII debidas a anomalías anatómicas o metabólicas relacionadas directamente con la EII o por efectos secundarios de los fármacos empleados en su tratamiento.

- Anomalías anatómicas o metabólicas: enfermedad tromboembólica, anemia, osteopatía metabólica, patología urológica, retraso del crecimiento, colelitiasis, hígado graso y amiloidosis.
- Efectos adversos de los fármacos: relacionados principalmente con las mesalacinas (dispepsia, nefritis intersticial, reactivación de EII), los esteroides (acné, estrías, hipertensión arterial, hiperglucemia, trastornos psíquicos, etc.), la azatioprina (pancreatitis aguda, mielotoxicidad, hepatotoxicidad), el metotrexate (fibrosis hepática y pulmonar, leucopenia), los inhibidores de la calcineurina (hipertensión, nefrotoxicidad, convulsiones, infecciones oportunistas) y las terapias biológicas (alergia, hipersensibilidad retardada, manifestaciones lupus-like, reactivación de tuberculosis, infecciones oportunistas, etc.) (Gonzalez-Huix et al., 2007).

1.7. TRATAMIENTO INMUNOMODULADOR

1.7.1. Tiopurinas

Las tiopurinas son el pilar del tratamiento inmunomodulador en EII. La evidencia

para su uso se remonta a la década de los 80 aunque estudios posteriores han demostrado su eficacia tanto en EC como CU (datos menos robustos). En un meta-análisis realizado por la *Cochrane Database* se describe una eficacia global del 54% y del 71% para inducir y mantener la remisión en EC respectivamente. Revisiones recientes indican que aproximadamente el 50% de los pacientes con EII son tratados con tiopurinas (Kopylov et al., 2014). La dosis recomendada por la *European Crohn's and Colitis Organization* (ECCO) es 1.5-2.5 mg/kg/día de azatioprina y 0.75-1.5 mg/kg/día de 6-mercaptopurina (6-MP) (Dignass et al., 2010). Desafortunadamente, hasta el 39% de los pacientes van a presentar efectos adversos que potencialmente pueden llevar a la suspensión del fármaco. Los efectos, tanto tóxicos, como terapéuticos son producidos por los metabolitos activos. Además, hasta el 9% son no respondedores primarios y una proporción de pacientes que varía entre el 25 y 40% van a perder respuesta a lo largo del tiempo considerándose refractarios al tratamiento. Los mecanismos de acción descritos para las tiopurinas incluyen la inhibición de la proliferación de linfocitos, apoptosis de células T e inhibición de la apoptosis mediada por el receptor del TNF y por la alfa-4-integrina de linfocitos T activados. Su comienzo de acción lento (aproximadamente 3 meses) se piensa que es debido a la depleción de células memoria.

El metabolismo de las tiopurinas es complejo. Una vez absorbida, la azatioprina es metabolizada a 6-mercaptopurina (6-MP) por una vía no enzimática. La 6-MP es metabolizada por 3 vías: por la xantin-oxidasa a ácido 6-tiourico (6-TU), por la enzima clave tiopuril-metil-transferasa (TPMT) a 6-metil-mercaptopurina (6-MMP) y por otras 3 enzimas a nucleótidos 6-tioguanina (6-TGN). En el siguiente esquema se resume el metabolismo de la azatioprina (figura 1.4).

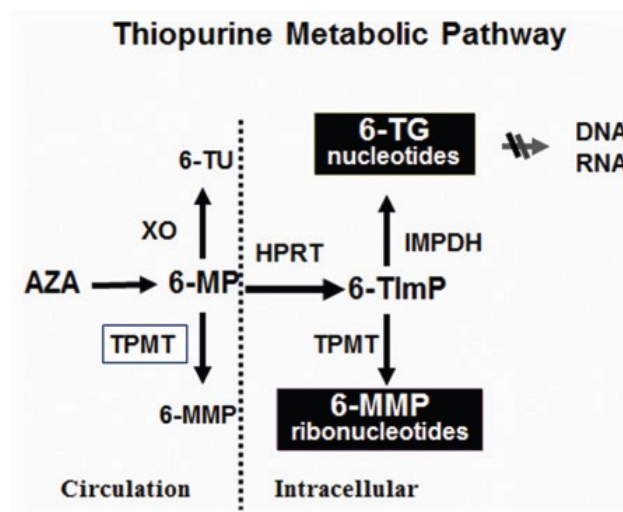


Figura. 1.4. Principales vías metabólicas de azatioprina (Kopylov et al., 2014).

El gen que codifica la TPMT se localiza en el brazo corto del cromosoma 6. Se han descrito polimorfismos de este gen que dan lugar a una distribución trimodal de la actividad de esta enzima en la población. La TPMT se estudia tanto identificando los alelos mutados (genotipo) como su actividad biológica en eritrocitos (fenotipo). La actividad puede ser, baja o ausente (en el 0.3% de la población), intermedia (en el 11% de la población) y normal o alta (en el 89% de la población). En el primer grupo se recomienda evitar el uso de azatioprina. En el segundo grupo se recomienda reducir la dosis un 30-70% de la estándar y en el tercer grupo se recomienda usar la dosis estándar (2.5 mg/k/día de azatioprina). Aunque la ECCO no considera obligatorio el estudio de la TPMT para iniciar el tratamiento con azatioprina, guiar la dosis por su actividad permite una respuesta más rápida al iniciar el tratamiento con la dosis óptima. Sin embargo, su medición no evita que haya que monitorizar la aparición de efectos adversos ya que parte de ellos son idiosincrásicos y la mielosupresión puede aparecer tanto al principio del tratamiento como a largo plazo (incluso al año, en el 25% de los casos) (Kopylov et al., 2014).

1.7.2. Metotrexate

El metotrexate (MTX) es un fármaco antifólico que fue diseñado como terapia antineoplásica. Sin embargo, se ha convertido en el fármaco inmunomodulador de referencia de la artritis reumatoide y es usado en otras enfermedades de base inmunológica como la EII y la psoriasis. El estudio que comprobó la eficacia de MTX en la EC fue publicado por Kozarek en 1989 (Kozarek et al., 1989) y aunque posteriormente se han publicado estudios observacionales y controlados confirmando su eficacia, su uso en EII es limitado.

El mecanismo de acción de MTX es complejo y no bien conocido. El MTX es metabolizado en los tejidos a poliglutamatos de MTX cuyos efectos resultan en la acumulación en los tejidos de adenosina que podría tener efectos antiinflamatorios. Por otro lado, la acumulación de adenosina podría ser la responsable de parte de la toxicidad de este fármaco, ya que podría estar implicada en la fibrosis hepática (Gomollon et al., 2015).

Los estudios que sentaron la indicación y las dosis de MTX en la inducción de la remisión en EC se publicaron en los 90. Recientemente la *Cochrane Database* ha publicado una revisión analizando la eficacia de MTX en este escenario clínico que se fundamenta en estos dos ensayos clínicos. En el primer estudio publicado por Feagan en

1995 se concluyó que MTX a dosis de 25 mg semanales era más eficaz que placebo en inducir la remisión: se mantuvieron en remisión libre de esteroides el 40% de pacientes frente al 16% de los controles en un periodo de seguimiento de 16 semanas. En el segundo estudio, que publicó el mismo autor en 2000 como continuación del anterior, se comprobó que los pacientes que habían mantenido la remisión durante 16 semanas, 15 mg semanales de MTX conseguían mantener la remisión mejor que placebo en un periodo de seguimiento de 40 semanas (McDonald et al., 2014).

La evidencia de la eficacia de MTX en colitis ulcerosa es mucho mas limitada. Hay algunos estudios que sugieren una posible eficacia pero son heterogéneos y de calidad variable (Gomollon et al., 2015).

Es conocido que el uso concomitante de tiopurinas y terapia anti-TNF de forma combinada es más eficaz que la monoterapia de cualquiera de los dos fármacos. En el único estudio controlado disponible hasta la fecha, la combinación de MTX con IFX no fue más eficaz que la monoterapia. Sin embargo, si hay evidencia que MTX reduce la inmunogenicidad de los anti-TNF del mismo modo que las tiopurinas por lo que su uso concomitante con anti-TNF está justificado (Gomollon et al., 2015).

La indicación actual mas aceptada es en la EC corticodependiente en la que, o bien las tiopurinas son ineficaces, o bien presentan efectos adversos. En la fase de inducción se recomiendan 25 mg semanales por vía parenteral durante 16 semanas. En la fase de mantenimiento se recomiendan 15 mg semanales por vía parenteral (no se recomienda la vía oral por su biodisponibilidad variable). Dada la alta tasa de pérdida de respuesta en la fase de mantenimiento podría mantenerse la dosis de 25 mg semanales durante al menos 1 año (Feagan et al., 2014).

Los efectos adversos de MTX en el contexto de EII son poco frecuentes. La mucositis y mielotoxicidad, que están en relación a su naturaliza antifólica son infrecuentes a las dosis recomendadas en EII limitando su uso solo en el 5% de los casos. Para reducir dichos efectos adversos se recomienda la administración de una dosis semanal de 5 mg de ácido fólico. El uso de MTX se asocia a fibrosis pulmonar, que es muy poco frecuente y habitualmente reversible al suspender el fármaco y asociar esteroides. En EII el factor limitante para el uso de MTX ha sido clásicamente el teórico riesgo de hepatotoxicidad secundaria a fibrosis hepática. Sin embargo, los datos en AR, donde el fármaco es ampliamente usado, muestran una muy baja tasa de hepatotoxicidad siendo la fibrosis

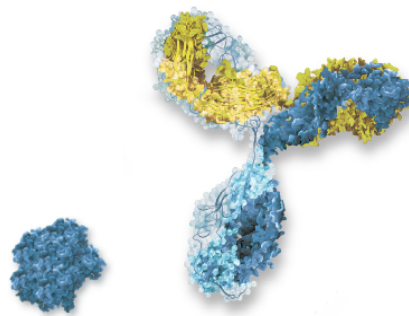
avanzada excepcional. En EII también se dispone de datos que describen una muy baja tasa de retirada del fármaco por este motivo (0,8/pacientes/mes). MTX es teratógeno debiendo suspenderse su uso en ambos sexos entre 3 y 6 meses antes de la concepción (Gomollon et al., 2015).

Dado que se trata de un fármaco inmunomodulador con los potenciales efectos adversos comentados y que su uso, si es bien tolerado y no pierde eficacia es indefinido, aunque no existen estudios controlados, en práctica clínica se recomienda realizar controles clínicos y analíticos periódicos que incluyen la realización de radiografía de tórax basal, bioquímica hepática y hemograma cada 3-6 meses y elastografía al menos cada 5 años (Gomollon et al., 2015).

1.8. TERAPIA ANTI-TNF

1.8.1. Concepto y estructura

Se llama tratamiento biológico a aquel que tiene un origen biotecnológico y surge a partir de proteínas derivadas de ADN y procesos de hibridación, los cuales, requieren de organismos vivos como parte fundamental del proceso de producción. Actualmente podríamos agrupar estos fármacos en 5 categorías: factores estimulantes de las colonias de granulocitos, hormonas folículo-estimulantes, eritropoyetinas, hormonas del crecimiento humanas y anticuerpos monoclonales, siendo estos últimos los fármacos biológicos más complejos y grandes como ilustra la siguiente figura (figura 1.5).



Eritropoyetina (30.400 Da) Anticuerpo monoclonal (150.000Da)

Figura.1.5. Diferencias de tamaño en Dalton entre eritropoyetina y un AcM

Estas inmunoglobulinas terapéuticas IgG están formadas por cuatro cadenas de polipéptidos que incluyen, dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas. Cada anticuerpo tiene dos regiones, la variable, denominada Fab (*antigen-binding-region*) que es específica para el antígeno diana, y la constante, denominada Fc (Ordás et al., 2012).

En la actualidad, hay cuatro AcM anti-TNF-alfa disponibles para el tratamiento de la EII. Infliximab (Remicade®) es un anticuerpo monoclonal quimérico bivalente IgG1 (Porción Fab murina unida a porción Fc de una anticuerpo IgG1 humano). Adalimumab (Humira®) y Golimumab (Simponi®) son anticuerpos totalmente humanizados bivalentes IgG1 y certolizumab (Cimzia®) es un fragmento Fab de un anticuerpo IgG1 totalmente humanizado monovalente unido a polietilenglicol. Al carecer de porción Fc no es capaz de ejercer las funciones efectoras de esa porción (que se comentan en el siguiente apartado) (Billiet et al., 2014). La siguiente imagen (figura 1.6) ilustra la estructura de los AcM mencionados.

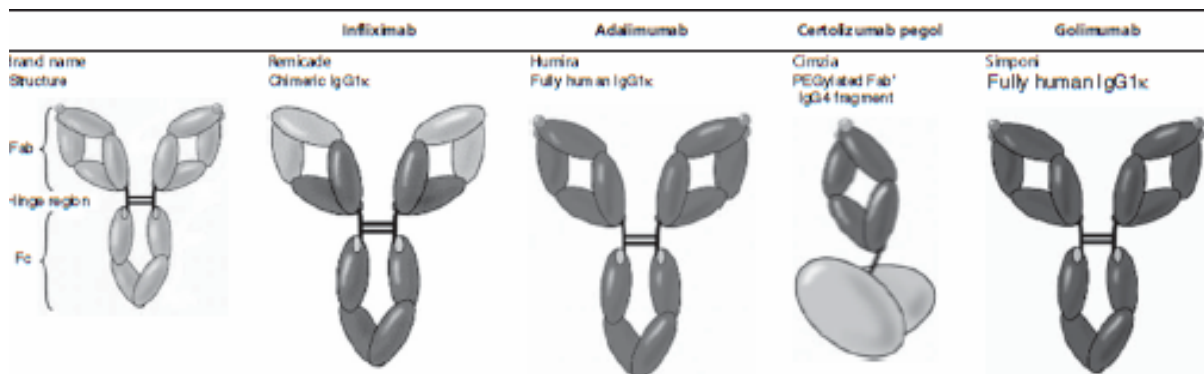


Figura 1.6. Estructura de los anti-TNF (infliximab, adalimumab, certolizumab pegol y golimumab) (Billiet et al., 2014).

1.8.2. Mecanismos de Acción

Todos los AcM son capaces de unirse tanto al sTNF-alfa (soluble) como al tmTNF-alfa (transmembrana) con alta afinidad, pero se sabe que la neutralización del mismo no es el único mecanismo por el que estos fármacos ejercen su acción. Se ha observado que infliximab reduce el número de células inflamatorias en la lámina propia mediante la apoptosis de aquellas que presentan tmTNF-alfa (linfocitos T y macrófagos) y como consecuencia también regula la producción de citoquinas proinflamatorias de estas células (ten Hove et al., 2002). Por otra lado se ha observado que también reduce el reclutamiento de células inflamatorias y hay evidencia in vitro de que la porción Fc ejerce acciones

inductoras de lisis celular a través del complemento y de citotoxicidad dependiente de anticuerpos (*antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*, ADCC) (Scallon et al., 1995).

1.8.3. Absorción

La vía de administración afecta al comportamiento farmacocinético de los AcM. La vía intravenosa (infiximab) permite la administración de mayor volumen de fármaco, la biodisponibilidad es menos variable y generalmente es menos inmunogénica. La vía subcutánea (adalimumab, certolizumab y golimumab) permite la administración solo de volúmenes pequeños, la fracción de fármaco que se absorbe es muy variable (del 50 al 100%) y es más inmunogénica (dado que la piel está altamente especializada en el procesamiento de antígenos) (Ordás et al., 2012).

1.8.4. Degradación y eliminación

Dado el tamaño de estas proteínas, su degradación y eliminación no es por vía hepática ni renal. Aunque el mecanismo no es conocido del todo, la ruta principal de aclaramiento de estos fármacos es el catabolismo proteico a través del sistema retículo endotelial (SRE). Existen dos tipos de receptores en la superficie de las células del sistema retículo endotelial con acciones antagónicas que modulan este aclaramiento. Por una parte, el receptor Brambell (FcRn), expresado en las células del SRE del endotelio vascular, que protege a los anticuerpos IgG y a la albúmina del catabolismo, prolongando así su vida media. Por otra, existe otra clase de receptores Fc denominados receptores Fc-gamma que son expresados en la superficie de macrófagos, células *natural-Killer*, células B y T y plaquetas (Fc-gammaRI, Fc-gammaRII y Fc-gammaRIII). Dentro de los endolisosomas, los complejos IgG-FcRn no se catabolizan mientras que los complejos IgG-Fc-gammaR son degradados (Mould et al., 2007). La siguiente figura (figura 1.7) ilustra el catabolismo de los AcM.

1. INTRODUCCIÓN

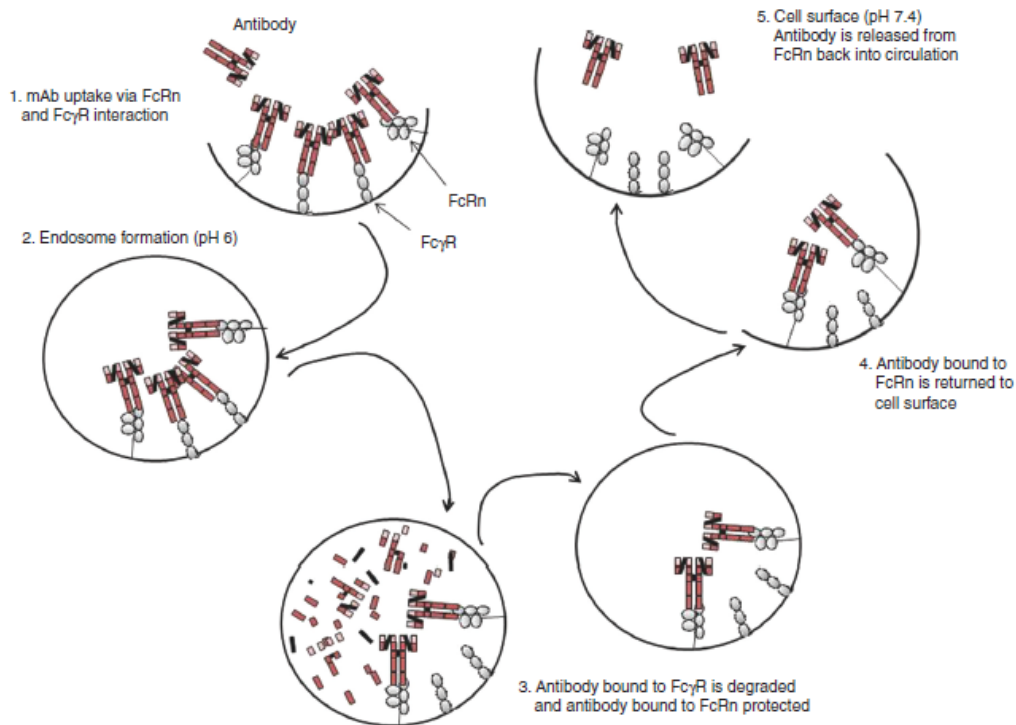


Figura. 1.7. Mecanismo de degradación de los AcM. (Ordás et al., 2012).

1.8.4.1. Receptores Fc-gamma

Esta familia de receptores está compuesta por tres subfamilias codificadas por ocho genes: *FCGR1A*, *FCGR1B*, *FCGR1C*, *FCGR2A*, *FCGR2B*, *FCGR2C*, *FCGR3A* y *FCGR3B*. Las células presentadoras de antígenos fagocitan y endocitan inmunocomplejos a través de esta familia de receptores. Se han descrito polimorfismos de un único nucleótido (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) en los genes que los codifican como posibles factores implicados en la respuesta a AcM a través de su posible influencia en su aclaramiento. Los SNPs consisten en cambios en una única base de un gen que ocurren con una frecuencia significativa en la población o bien en la repetición variable de una secuencia de bases (Mellor et al., 2013).

1.8.4.1.a. Receptor Fc-gammaRIIIa

Está codificado por el gen *FCGR3A* y está presente en la superficie de las células *natural-killer* y macrófagos. Su función es unirse a la porción Fc de inmunoglobulinas IgG sensibilizadas por antígenos para poner en marcha la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos (ADCC). Es por tanto un mecanismo efector en la erradicación de patógenos

intracelulares y células tumorales. Es uno de los mecanismos de acción descritos de los AcM anti-TNF si bien su importancia es desconocida.

Existen trabajos que han relacionado ciertos polimorfismos del *FCGR3A* con la respuesta clínica y biológica a los anti-TNF en la EII y artritis reumatoide. Louis et al, describe una asociación significativa entre la respuesta biológica a infliximab (medida por la PCR) y el polimorfismo de nucleótido simple (SNPs) rs396991 V158F en el gen *FCGR3A* (sustitución de valina por fenilalanina en la posición 158), detectando niveles menores de PCR en los pacientes portadores de este polimorfismo. En el análisis multivariante, en el subgrupo de pacientes con PCR elevada, se identificaron el uso de inmunosupresores y dicho polimorfismo como factores predictores de respuesta a infliximab (Louis et al., 2004). Este mismo autor, realizó un subanálisis del estudio ACCENT I (que se describe en el apartado de terapia anti-TNF en el tratamiento de EC) no hallando relación entre este polimorfismo y la respuesta clínica, a diferencia de otros AcM con los que si se ha encontrado relación. Sin embargo, los pacientes con linfoma no Hodgking con el genotipo VV responden mejor a rituximab (Cartron et al., 2002). Es probable que esto se deba a la influencia de variables subjetivas en los índices que evalúan la repuesta clínica en la EC y a la influencia de factores no relacionados con la actividad inflamatoria en la clínica como es el caso de las estenosis fibróticas.

Además, también se ha estudiado la influencia del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* en la farmacocinética de infliximab. Ternant, et al publicaron un trabajo en el que hallaron que los pacientes portadores del genotipo VV presentaban una tasa de eliminación de infliximab mayor, probablemente secundario a la mayor afinidad que presenta el receptor que codifica ese polimorfismo por la porción Fc de las IgG resultando a su vez en mayor actividad ADCC. Es decir, que se “consume” antes el fármaco pero presenta mayor citotoxicidad mediada por anticuerpos resultando en una mejor respuesta biológica (Ternant et al., 2015). Este hallazgo es importante, ya que es conocido que la tasa de repuesta clínica a infliximab se incrementa con las concentraciones del fármaco en EC (Maser et al., 2006). A pesar de estos hallazgos, hasta la fecha no es bien conocido si este polimorfismo contribuye al aclaramiento de los anti-TNF por lo que se precisan más estudios en este sentido.

1.8.4.1.b. Receptor Fc-gammaRIIa

Este receptor está expresado principalmente en la superficie de macrófagos y células dendríticas. El SNPs rs1801274 en el gen *FCGR2A* da lugar a la sustitución de arginina por histamina en la posición 131 (R131H). Este cambio en la secuencia de bases del receptor modifica su afinidad a diferentes subclases de IgGs. Por tanto, este polimorfismo podría influenciar la respuesta a terapias basadas en IgGs como los anti-TNF. Esta posible influencia está siendo foco de investigación reciente en pacientes con artritis reumatoide. Hasta la fecha se ha publicado un trabajo que ha demostrado que la asociación entre este polimorfismo en el gen *FCGR2A* y la respuesta clínica en estos pacientes podría depender del tipo de anti-TNF ya que se ha hallado una asociación significativa en el caso de infliximab pero no de etanercept (Avila-Pedretti et al., 2015). La posible influencia de este polimorfismo en pacientes con EII no ha sido investigada hasta la fecha.

1.8.4.2. Receptor FcRn

Está codificado por el gen *FCGRT* localizado en el brazo largo del cromosoma 19. Este receptor se une a la albúmina e inmunoglobulinas IgG con mayor afinidad a pH ácido permitiendo la recirculación de dichas proteínas. Debido a esta función, este receptor es una fuente potencial de variabilidad interindividual en la farmacocinética de los anti-TNF y su gen podría ser un marcador farmacogenético, de manera que polimorfismos en este gen podrían afectar a la función del receptor FcRn y secundariamente a la farmacocinética de los anti-TNF. Existen pocos datos acerca de polimorfismos en el *FCGRT* que sean de interés y estos son de tipo VNTR (*variable number tandem repeat*), es decir, de una repetición variable de una secuencia de bases. Passot et al, hallaron que en los pacientes homocigotos VNTR3/VNTR3 (el más común) el paso de cetuximab del compartimento periférico a central era más lento, posiblemente en relación a una mayor expresión de FcRn que “retenían” el fármaco de una manera más eficiente en los tejidos periféricos (células y tejido intersticial) (Passot et al., 2013).

1.8.5. Factores que influyen en la relación de la farmacocinética con la farmacodinamia de los anti-TNF

La farmacocinética (FC) es la rama de la Farmacología que estudia los mecanismos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación de un fármaco, mientras que la farmacodinamia (FD) estudia la relación entre la exposición a un fármaco y el efecto terapéutico del mismo. Por tanto, ambas están interrelacionadas. Los factores que pueden influir en la FC y por tanto en la FD de los AcM en la EII son múltiples y se describen a continuación.

1.8.5.1. Inmunogenicidad

Los AcM son proteínas exógenas, y por tanto pueden inducir una respuesta inmune que da lugar a la formación de anticuerpos contra el fármaco, (*anti-drug antibodies*, ADAs) que repercuten, por un lado en la eficacia del fármaco y por otro en su seguridad dando lugar a reacciones alérgicas infusionales. Los resultados de los ensayos clínicos que han evaluado la eficacia de los anti-TNF en EII han confirmado que tanto infliximab como adalimumab pueden provocar inmunogenicidad de una forma parecida. (Ordás et al., 2012). La tasa de ADAs descrita para infliximab se sitúa entre el 5 y el 18% y para adalimumab en torno a el 9.2% (Chaparro et al., 2012).

El desarrollo de ADAs se desencadena mediante el reconocimiento de péptidos ajenos al organismo por parte de linfocitos T que ponen en marcha la activación de linfocitos B (Steenholdt et al., 2013). Los ADAs pueden ser de diferentes isotipos (IgG, IgE o IgM) y pueden ir dirigidos contra diferentes epítomos de los AcM. Los ADAs dirigidos contra el idiotipo del AcM impiden al fármaco unirse al TNF-alfa denominándose anticuerpos neutralizantes ya que impiden la acción biológica del fármaco. Los ADAs dirigidos frente a epítomos del fragmento Fab no inhiben la acción biológica del fármaco, pero al formar inmunocomplejos ADAs-AcM disminuyen la vida media del AcM acelerando su aclaramiento en el SRE (ya que disminuyen la concentración libre de los AcM). Ambos hechos repercuten de manera negativa en la eficacia clínica ya que afectan a la biodisponibilidad, FC y FD de los AcM (Vande Casteele et al., 2013).

1. INTRODUCCIÓN

Evidencia reciente sugiere que los ADAs pueden ser transitorios o persistentes ya que diferentes trabajos han descrito que aproximadamente el 30% de los ADAs pueden desaparecer con el tratamiento continuado (Ordás et al., 2012).

Numerosos estudios han descrito la relación directa entre la presencia de ADAs y unos peores resultados afectando tanto a la eficacia como a la seguridad y concentraciones de anti-TNF. En la siguiente tabla (tabla 1.8) se resumen los resultados sobre la influencia de los ADAs de algunos de esos trabajos.

Autor	EII	anti-TNF	Seguridad	Eficacia	Niveles de anti-TNF
Baert	EC	IFX	SÍ	SÍ	SÍ
Farrell	EC	IFX	SÍ		
Farrell	EC	IFX	SÍ	SÍ	
Hanauer (ACCENT)	EC	IFX	SÍ	NO	SÍ
Vermeire	EC	IFX			SÍ
Ainsworth	EC	IFX		SÍ	
Maser	EC	IFX	SÍ	NO	
Van Assche	EC	IFX		NO	
Ben-Horin	EC	IFX	SÍ	SÍ	
West	EC	ADM		SÍ	
Karmiris	EC	ADM	NO	SÍ	SÍ
Seow	CU	IFX	SÍ		SÍ
Ferrante	CU	IFX		NO	

Tabla 1.8. Influencia sobre la seguridad, eficacia y concentraciones de anti-TNF (Chaparro et al., 2012).

1.8.5.2. SRE y gravedad de la enfermedad

La gravedad de la enfermedad puede influir en la eliminación de los AcM a través del SRE. En relación a este hecho, se ha descrito que los pacientes con mayores niveles de PCR y menores niveles de albúmina tienen acelerado el aclaramiento de los fármacos (Fasanmade et al., 2009; Wolbink et al., 2005). Según esta hipótesis, los pacientes con enfermedad mas grave pueden requerir mayor dosis de anti-TNF para unos resultados óptimos.

1.8.5.3. TNF-alfa

Una carga inflamatoria alta basal se asocia con concentraciones altas de TNF-alfa en suero y tejidos. Los pacientes con mayor grado de inflamación sistémica pueden requerir mayor dosis de fármaco para neutralizar ese exceso de TNF-alfa. Es decir, cuanto mayor sea el TNF-alfa basal, mayor dosis de anti-TNF se precisa para obtener una respuesta farmacodinámica adecuada. Ainsworth, et al evaluaron en 33 pacientes de EC (que clasificaron según su nivel de respuesta a infliximab) la presencia de ADAs y la afinidad de unión al TNF-alfa. Concluyeron que el grupo de pacientes sin respuesta primaria presentaban mayor afinidad para unirse al TNF-alfa en suero que los que habían perdido la respuesta sugiriendo que precisaban dosis mas elevadas de anti-TNF para neutralizarlo (Ainsworth et al., 2008).

1.8.5.4. Tipo de enfermedad

Parecen existir diferencias farmacocinéticas entre la EC y la CU a la vista de los resultados de diferentes trabajos, entre ellos dos amplios estudios randomizados y controlados, en los que se ha concluido que las tasas de remisión tras la inducción con adalimumab son menores en pacientes con CU que EC. Se piensa que esta diferencia es debida a la mayor cantidad de superficie intestinal afectada en la CU que supondría, por un lado, mayores concentraciones de TNF-alfa y por otro mayor pérdida de fármaco en la luz intestinal resultando en un mayor aclaramiento del fármaco respecto a la EC (Reinisch et al., 2012; Sandborn et al., 2012).

1.8.5.5. Factores del huésped

Existen factores del huésped que pueden influenciar el aclaramiento de los anti-TNF. Se ha descrito mayor aclaramiento en hombres, en pacientes obesos y en pacientes con baja concentración basal de albúmina (Ordás et al., 2012).

En resumen, la relación FC-FD de los AcM parece que está fuertemente influenciada por factores tanto del huésped como características de la enfermedad y del fármaco. Una mejor comprensión de esos factores sería crucial y deseable para establecer regímenes de tratamiento individualizados para cada paciente. La siguiente tabla (tabla 1.9) resume los factores que influyen en la FC.

Aumentan el aclaramiento	Disminuyen el aclaramiento
Mayor IMC	Inmunosupresores concomitantes
Presencia de anticuerpos frente al fármaco	Albúmina sérica normal
Niveles TNF-alfa elevados	
Hombres	
PCR basal elevada	

Tabla 1.9. Factores que influyen en la FC de los anti-TNF

1.8.6. Terapia anti-TNF en el tratamiento de la EC

Existen numerosos ensayos clínicos pivotaes que han demostrado la eficacia de la terapia biológica anti-TNF en la EC. Para evaluar la actividad clínica de la EC de forma homogénea, en estos estudios se ha usado la definición que la ECCO hace de la actividad de la EC según el índice de actividad CDAI (*Crohn's Disease Activity Index*) (Anexo 2). La EC leve es aquella con unos valores de CDAI entre 150-220 puntos, moderada entre 220-450 puntos y grave mayor de 450 puntos. Se considera que hay respuesta clínica cuando el CDAI desciende entre 70 y 100 puntos del CDAI basal o hay una mejoría del 25% en el valor basal. Se ha definido la remisión clínica como un CDAI inferior a 150 puntos.

1.8.6.1. Infliximab

El estudio ACCENT I (randomizado y controlado con placebo) fue el estudio que validó la eficacia de infliximab en la EC luminal. Con un tamaño muestral de 573 pacientes, demostró que infliximab podía inducir y mantener la remisión en pacientes con EC luminal moderada-grave (con CDAI entre 220 y 400 puntos). La tasa de pacientes en remisión a la semana 30 fue del 39% para el brazo de infliximab a dosis de 5 mg/kg y del 21% para el brazo placebo con diferencias estadísticamente significativas. Al año de seguimiento, en los pacientes en tratamiento de mantenimiento con infliximab, la proporción de pacientes libre de esteroides era el triple (29%) que en aquellos que estaban en el brazo placebo (9%) con diferencia estadísticamente significativa. Respecto a su eficacia en enfermedad perianal, Present et al publicaron en 1999 los resultados del primer ensayo clínico controlado en 94 pacientes. El objetivo primario del estudio (reducción mayor o igual al 50% en el drenaje de las fístulas) se alcanzó en el 69% de los pacientes que recibieron infliximab (5 mg/Kg en las semanas 0, 2 y 6) y en el 29% de los que recibieron placebo. El cierre completo de las fístulas, ocurrió en el 55% y 13% respectivamente. (Present et al., 1999). Estos resultados se han confirmado en estudios posteriores como el ACCENT II que fue diseñado para evaluar el efecto a largo plazo de infliximab en el mantenimiento del cierre de las fístulas. Entre aquellos pacientes que habían presentado respuesta a la inducción, el 46% la mantenían en la semana 54 versus 23% con placebo. De los que habían presentado cierre completo, el 36% lo mantenían vs el 19% al final del periodo de seguimiento (Sands et al., 2004).

1.8.6.2. Adalimumab

La evidencia para el uso de adalimumab en EC luminal moderada-severa se obtuvo en los estudios pivotaes CLASSIC, CHARM y GAIN. El CLASSIC I, diseñado para pacientes con EC activa moderada-severa naïve a terapia anti-TNF, fue el estudio para hallar la dosis de inducción. Se concluyó que la tasa de respuesta en el grupo 160 mg seguidos de 80 mg a las 2 semanas, comparada con las obtenidas en el grupo 80 mg seguidos de 40 mg a las 2 semanas y en el grupo placebo fue superior (36%) que en los otros dos brazos (24% y 12%) con diferencia estadísticamente significativa. Los estudios CLASSIC II y CHARM demostraron la eficacia en el mantenimiento de la remisión en pacientes de las mismas características que el CLASSIC I. El estudio GAIN demostró la eficacia de este fármaco en pacientes intolerantes o no respondedores a infliximab aunque

con tasas de respuesta menores que el CLASSIC I (21 vs 36% respectivamente). Hay menor evidencia para el uso de adalimumab en la enfermedad perianal, y la disponible se basa en estudios post-hoc de los ensayos clínicos pivotaes (Billiet et al., 2014).

1.8.7. Terapia anti-TNF en el tratamiento de la CU

En el caso de la colitis ulcerosa, el índice usado en los ensayos clínicos para evaluar tanto la gravedad de la enfermedad como la respuesta a los tratamientos es el índice de Mayo (Anexo 3) que combina parámetros clínicos y endoscópicos. Se considera CU leve aquella con un índice Mayo entre 3 y 5 puntos, moderada entre 6 y 10 puntos y grave entre 11 y 12 puntos.

1.9.7.1. Infliximab

Los ensayos clínicos pivotaes ACT1 y ACT2 evaluaron la eficacia y seguridad de infliximab en pacientes con CU moderada-grave. En ambos estudios, 364 pacientes fueron randomizados a recibir infliximab 5mg/kg, 10 mg/kg o placebo en las semanas 0, 2 y 6 y después cada 8 semanas de mantenimiento hasta 22 semanas en el ACT 2 y 46 semanas en el ACT1. Estos estudios demostraron que los pacientes en tratamiento con infliximab tenían mayores tasas de respuesta y remisión clínica además de mayor posibilidad de suspender esteroides y mayores tasas de curación mucosa. Al final de los estudios las tasas de remisión clínica respecto placebo fueron del 34.7% vs 16.5% (con diferencia estadísticamente significativa) para el ACT1 y del 25.6% vs 10.6% (con diferencia estadísticamente significativa) para el ACT2. Un subanálisis de estos estudios concluyó que la incidencia acumulada de colectomía en la semana 54 fue del 10% para los grupos de infliximab y del 17% para el grupo placebo (Billiet et al., 2014).

1.8.7.2. Adalimumab

En el caso de adalimumab los estudios que establecieron la indicación para el uso de adalimumab en CU fueron los ULTRA1 y ULTRA2 para la inducción y mantenimiento de la remisión. En el ULTRA1 fueron incluidos pacientes naïve a terapia anti-TNF. A la semana 8, las tasas de remisión en el grupo 160 mg seguidos de 80 mg en la semana 2 fueron del

18.9% vs 9.2% en el grupo placebo (con diferencia estadísticamente significativa). En el ULTRA2 las tasas de remisión a la semana 52 fueron del 17.3% vs 8.5% (con diferencia estadísticamente significativa) en el grupo placebo usando las mismas dosis de inducción que en el ULTRA1, pero a diferencia de este, en el ULTRA2 el 40% de los pacientes no eran naïve a terapia anti-TNF (Billiet et al., 2014).

1.8.8. Indicaciones y posología de terapia anti-TNF en EII

Indicaciones de infliximab en EII:

- EC en adultos: enfermedad activa de moderada a grave o activa fistulizante en pacientes que no han respondido a pesar de un curso de terapia completa y adecuado con tratamiento convencional (corticoides y/o inmunomoduladores) o pacientes que sean intolerantes o presenten contraindicaciones médicas a dichas terapias.
- EC en pediatría (entre 6-17 años de edad): enfermedad activa grave que no haya respondido a terapia convencional (incluidos corticoides, inmunomoduladores y terapia nutricional primaria) o pacientes que sean intolerantes o presenten contraindicaciones a dichas terapias.
- CU en adultos: enfermedad activa moderada o grave que haya presentado una respuesta inadecuada a terapia convencional (corticoides y/o inmunomoduladores) o pacientes que sean intolerantes o presenten contraindicaciones a dichas terapias.
- CU en pediatría (entre 6-17 años de edad): enfermedad activa grave que no haya respondido a terapia convencional (incluidos corticoides e inmunomoduladores) o pacientes que sean intolerantes o presenten contraindicaciones a dichas terapias.

Infliximab se administra por vía intravenosa a dosis de 5 mg/kg de peso. Inicialmente se administran 3 dosis a las 0, 2 y 6 semanas (que se denomina fase de inducción) y posteriormente cada 8 semanas como tratamiento de mantenimiento.

Indicaciones de adalimumab en EII:

- EC en adultos: enfermedad activa de moderada a grave en pacientes que no hayan respondido a terapia convencional completa y adecuada (corticoides y/o

inmunomoduladores), o pacientes que sean intolerantes o tengan contraindicaciones a dichas terapias.

- EC en pediatría (entre 6-17 años de edad): enfermedad activa grave en pacientes que no hayan respondido a terapia convencional (incluidos corticoides, inmunomoduladores y terapia nutricional primaria) o pacientes que sean intolerantes o presenten contraindicaciones a dichas terapias.
- CU en adultos: enfermedad activa de moderada a grave en pacientes que hayan presentado una respuesta inadecuada a terapia convencional (corticoides e inmunomoduladores) o pacientes intolerantes o que presentan contraindicación para dichas terapias.

Se administra por vía subcutánea cada 15 días. Inicialmente se administran 2 dosis de 160 mg (1ª dosis) y 80 mg (2ª dosis) como tratamiento de inducción seguidas de 40 mg a partir de la 3ª dosis como tratamiento de mantenimiento.

1.8.9. Terapia combinada

Se llama terapia combinada al uso concomitante de terapia anti-TNF e inmunomoduladora. Los mecanismos por los que la terapia combinada es más eficaz que la monoterapia son desconocidos. Por un lado se piensa que se debe a la suma de efectos de ambos fármacos y por otro a los efectos que sobre la inmunogenicidad de los anti-TNF parecen tener los inmunomoduladores influyendo en la formación de ADAs.

Las razones por las que se realiza terapia combinada con inmunomoduladores se basan en observaciones de los ensayos ACCENT. Aunque estos estudios no fueron diseñados para ello, se observó que los pacientes en terapia combinada tuvieron mayores tasas de respuesta y remisión clínica y una menor incidencia de anticuerpos anti-infliximab comparado con los pacientes en monoterapia con infliximab (Hanauer et al., 2002). Posteriormente, otros estudios han confirmado estos hallazgos. En el caso de la EC, el estudio SONIC evaluó la tasa de remisión clínica libre de esteroides en 508 pacientes con EC naïves tanto a azatioprina como a infliximab que fueron randomizados a recibir azatioprina mas placebo, infliximab más placebo o azatioprina mas infliximab durante 54 semanas. Las tasas de remisión fueron del 30.6%, 44.4% y 56.8% respectivamente a la semana 26 (Colombel et al., 2010). Un dato interesante de este estudio fue el hecho de que

esta ventaja solo se observase en pacientes con PCR basal elevada y lesiones endoscópicas previas al tratamiento.

Un estudio de similares características fue diseñado por Panaccione, et al para pacientes con CU naïves a azatioprina e infliximab (UC SUCCESS trial). Las tasas de remisión clínica libre de esteroides fueron del 24%, 22% y 40% en los brazos azatioprina en monoterapia, infliximab en monoterapia y terapia combinada respectivamente concluyendo que la terapia combinada es superior (Pannaccione et al., 2014).

La evidencia científica respecto a que la terapia combinada de metotrexate con infliximab o de azatioprina/metotrexate y adalimumab es más eficaz en términos de respuesta clínica es menos robusta ya que hay menos estudios en este sentido. Si se ha demostrado que metotrexate también reduce la inmunogenicidad de infliximab por lo que por extensión se ha recomendado su uso (Gomollon et al., 2015).

Un aspecto que no es bien conocido es cuanto tiempo hay que mantener esa combinación. El único estudio que ha intentado dar respuesta a esta pregunta hasta la fecha es el estudio realizado por Van Assche et al, que evaluó en 80 pacientes de EC la influencia de la retirada de azatioprina tras 6 meses de terapia combinada. Aunque los autores concluyeron que a partir de los 6 meses no hay beneficio de la terapia combinada frente a la monoterapia con infliximab, señalan que en el grupo de pacientes al que se les suspendió la azatioprina, la concentración de PCR fue mas elevada y las concentraciones de infliximab mas bajas aunque las tasas de curación mucosa fueron similares (Van Assche et al., 2008).

1.8.10 Optimización del tratamiento anti-TNF

A pesar del impacto que han tenido los anti-TNF en el tratamiento de la EII, hay una proporción de pacientes que no responde tras la inducción (no respondedores primarios) y sobre todo, una proporción de pacientes que responde inicialmente pero pierde la respuesta con el paso del tiempo (no respondedores secundarios). Sus causas y estrategias de tratamiento son diferentes.

1.8.10.1. No respondedores primarios

Entre el 10 y 30% de los pacientes no responderán tras las dosis de inducción. Se han sugerido varios posibles mecanismos siendo el más plausible que en estos pacientes el TNF-alfa no tenga un papel principal. Diferentes trabajos han descrito como posibles factores predictores de fallo de respuesta primaria la duración larga de la enfermedad, edad avanzada, afectación ileal, tabaquismo y PCR basal normal. Se han propuesto dos estrategias de tratamiento ante esta situación: cambiar a un AcM dirigido contra otra diana (en el caso de que se tratara de un efecto de clase) o cambiar a otro anti-TNF ya que se han descrito tasas de respuestas de entre el 50-65%. Aunque similares, las mínimas diferencias de estructura y las diferentes propiedades farmacocinéticas de cada anti-TNF puede influenciar la respuesta primaria (Billiet et al., 2014).

1.8.10.2. No respondedores secundarios (pérdida de respuesta)

Aproximadamente la presentan el 40% de los pacientes que respondieron inicialmente. Se ha estimado que el riesgo anual de pérdida de respuesta es del 13% para infliximab y 24% para adalimumab. Una vez descartados que los síntomas se deban a otra patología diferente de la EII, (por ejemplo, colon irritable) o a patología no inflamatoria relacionada con la EII (por ejemplo, suboclusión intestinal por estenosis fibrótica) se pueden presentar varios escenarios diferentes. El primero, que el paciente tenga concentraciones de anti-TNF adecuadas. La principal hipótesis que explica este fenómeno es el cambio de la enfermedad a otra vía de la inflamación no medida por el TNF-alfa, por lo que se recomienda el cambio a otro AcM contra otra diana. El segundo, que el paciente tenga concentraciones de anti-TNF bajas. Si es en ausencia de ADAs, se recomienda intensificar el tratamiento. Si el paciente presenta ADAs se recomienda cambiar a otro anti-TNF (Miheller, et al., 2012). Estos escenarios y sus recomendaciones, que a priori parecen tan claros, se complican si tenemos en cuenta que los ADAs pueden ser transitorios por lo que se han propuesto algoritmos de tratamiento que tienen en cuenta el título de ADAs y que se detallan en próximos apartados.

1.8.11. Monitorización terapéutica de la terapia anti-TNF

Actualmente el manejo en práctica clínica de la pérdida de respuesta se realiza de forma empírica. Una vez demostrada la actividad de la enfermedad mediante herramientas objetivas (endoscopia, técnicas de imagen o marcadores analíticos de actividad biológica como la PCR o calprotectina fecal) se puede intensificar la dosis de anti-TNF (acortando intervalo de administración preferentemente), cambiar a otro anti-TNF o bien cambiar a otro biológico con otra diana terapéutica (opción limitada en el caso de la EII a pocos fármacos, algunos de los cuales aún están en investigación). Lo habitual es que primero se intensifique el tratamiento y en el caso de no obtener respuesta se cambie a otro anti-TNF. Esta estrategia no es eficaz y da lugar a resultados subóptimos exponiendo al paciente de forma innecesaria a tratamientos de coste elevado y efectos adversos potencialmente graves. Los pacientes con ADAs neutralizantes no van a responder a la intensificación de dosis. Además de ser una estrategia costosa, el paciente está expuesto a reacciones de tipo alérgico. Por otro lado, aunque la intensificación pueda resolver la situación en pacientes que no hayan desarrollado ADAs (o los presenten a títulos bajos), esta estrategia no es coste-eficiente ya que no se detecta a los pacientes que estén sobredosificados (con el consiguiente mayor riesgo de efectos adversos y coste innecesario) ni a los que continúan con actividad inflamatoria a pesar de concentraciones terapéuticas (que lo que precisan es un cambio a un biológico con otra diana). Es por ello que en la actualidad se recomienda que la monitorización terapéutica del tratamiento anti-TNF esté guiada por las concentraciones de fármaco y los títulos de ADAs (Ordás et al., 2012).

1.8.11.1 Métodos de determinación

Se han desarrollado diferentes métodos para medir las concentraciones séricas de anti-TNF y los títulos de ADAs pero en la actualidad no hay definido un gold estándar. Un aspecto crucial en las mediciones de concentraciones de fármaco y ADAs es que los métodos de determinación sean precisos y capaces de medir anti-TNF bioactivo con capacidad de neutralizar TNF-alfa y ADAs neutralizantes que alteren la biodisponibilidad del fármaco. La heterogenicidad de los métodos que actualmente son usados (que en la actualidad adolecen de comparabilidad) y la falta de estandarización y de niveles de referencia hace que los resultados no sean extrapolables entre los estudios (Steenholdt et al., 2013).

- ELISA (*enzyme-linked immunoabsorbent assay*)

El ELISA en fase sólida ha sido el método más usado en los ensayos clínicos por su sencillez, pero tiene una serie de inconvenientes: es poco específico ya que puede detectar otros anticuerpos IgG frente a otras proteínas tales como el factor reumatoide o anticuerpos frente a haplotipos que interfieren en la cuantificación de las concentraciones del fármaco y títulos de ADAs y por otro lado, no puede detectar ADAs IgG4. El mayor inconveniente es que no puede detectar ADAs si hay niveles detectables de anti-TNF dando como resultado falso negativo (también llamado no concluyente). Esto se debe a la formación de inmunocomplejos ADAs-anti-TNF en suero. Este problema, parece que está resuelto en los ELISAs de nueva generación en fase líquida mejorando la precisión de la técnica, pero aún hay poca experiencia (Chaparro et al., 2012).

- RIA (*radioimmunoassay*)

Es más sensible y específico ya que no interactúa con otras inmunoglobulinas como el factor reumatoide, es capaz de detectar todos los isótopos de ADAs y cuantificar sus títulos en presencia de anti-TNF. Entre sus desventajas, que es más complejo y precisa el uso de radioisótopos. Además, ha sido poco empleado en ensayos clínicos (Chaparro et al., 2012).

- *Mobility shift assay*

Es una técnica de cromatografía que compara el movimiento electroforético de los inmunocomplejos antígeno-anticuerpo vs antígeno libre (Ordás et al., 2012).

1.8.11.2 Medición de las concentraciones de anti-TNF

Las concentraciones detectables de anti-TNF pueden interferir con la cuantificación de títulos de ADAs con los métodos de medición que más se han usado hasta ahora. Ese es el motivo por el que hasta la fecha se miden concentraciones valle de anti-TNF (concentración del fármaco cuando es esperable que sea mínima, es decir justo antes de la administración de la siguiente dosis). La mayoría de los estudios han usado las concentraciones valle de anti-TNF, (Chaparro et al., 2012), pero se está investigando si medir las concentraciones en otro momento del tratamiento (por ejemplo, nivel pico) sería más acertado desde el punto de vista farmacocinético.

Las concentraciones valle de anti-TNF se han asociado con remisión clínica y endoscópica. Los pacientes con EC con concentraciones valle de infliximab detectables han presentado mejores tasas de remisión, menores niveles de PCR y menor actividad endoscópica. En pacientes con CU, concentraciones valle de infliximab detectables predicen la remisión clínica, la mejoría endoscópica y menores tasas de colectomía. De hecho, la concentración valle detectable de infliximab es el factor más fuerte asociado con la predicción de la respuesta a la terapia anti-TNF independientemente de la actividad de la enfermedad tanto en EC como CU. Sin embargo, a pesar de estos datos, la utilidad clínica de medirlas no está clara como se comentará más adelante. Además, cual es el mejor momento para medirlas a lo largo del tratamiento del paciente no es bien conocido. Se cree que los momentos más útiles son durante la fase de inducción y ante pérdida de respuesta durante la fase de mantenimiento. (Guerra et al., 2011). Un reciente análisis post-hoc del estudio ACCENT I ha concluido que el presentar concentraciones de infliximab en la semana 14 de tratamiento por encima de 3.5 µg/ml predice una respuesta sostenida en el tiempo por lo que se recomienda medir los niveles de forma precoz tras la inducción y reajustar la dosis si es preciso (Vermiere et al., 2013).

En cuanto a los valores aceptados de referencia, la concentración mínima eficaz es desconocida y los valores de corte (*cut-off levels*) para considerar la concentración valle en rango terapéutico no están claramente establecidos, sin embargo, según los datos publicados, no se asume una misma exposición óptima para las diferentes enfermedades autoinmunes. En EC y CU los trabajos de diferentes autores han descrito una concentración mínima eficaz de IFX superior a 3 µg/mL (Santacana-Juncosa et al, 2015). Para adalimumab, diferentes autores han propuesto una concentración mínima eficaz entre 4.5 y 5.5µg/mL (Imaeda et al., 2014; Roblin et al., 2014). Tradicionalmente, con los métodos de medida iniciales (ELISA en fase sólida) los ADAs no podían ser medidos en presencia de niveles detectables de fármaco por la formación de inmunocomplejos no detectables, de manera que cuando se detectaban ADAs, independientemente de los niveles séricos de anti-TNF se considera un positivo verdadero. Sin embargo, cuando los ADAs eran negativos se precisaba conocer las concentraciones de anti-TNF: si eran detectables, el resultado se consideraba inconcluyente. Si las concentraciones de anti-TNF eran indetectables se consideraba un negativo verdadero (Guerra et al., 2011). Con los ELISA de nueva generación, este inconveniente se ha mejorado ya que se pueden romper los inmunocomplejos para medir ADAs en presencia de anti-TNF.

1.8.11.3. Utilidad de la monitorización del tratamiento en práctica clínica: revisión de la evidencia científica.

Aunque en múltiples trabajos se ha descrito la relación entre concentraciones de anti-TNF terapéuticas y respuesta clínica, y la relación entre la existencia de ADAs y la pérdida de respuesta, en la actualidad no ha sido suficientemente evaluado la utilidad de medir niveles de anti-TNF y ADAs en práctica clínica.

En 2010 Afif et al comunicaron los resultados de un estudio retrospectivo en el que evaluaron la utilidad en práctica clínica de medir concentraciones de fármaco y ADAs de pacientes con EII en tratamiento anti-TNF. Los autores midieron concentraciones de fármaco y ADAs en 155 pacientes de los que el 49% presentaban pérdida de respuesta secundaria, el 22% eran no respondedores primarios y el 10% habían presentado reacciones alérgicas/autoinmunidad. Se identificaron ADAs en el 23% de los pacientes y concentraciones terapéuticas de infliximab en el 33%. En el grupo de pacientes con ADAs el cambio a otro anti-TNF se asoció a una respuesta completa o parcial en el 92% de los casos, mientras que la intensificación de dosis obtuvo una respuesta en el 17%. En el grupo de pacientes con concentraciones de infliximab subterapéuticas, la intensificación de la dosis se asoció con respuesta completa o parcial del 86%, mientras que el cambio a otro anti-TNF obtuvo una respuesta del 33%. En el grupo de pacientes sintomáticos con concentraciones terapéuticas de infliximab se continuó el tratamiento a la misma dosis en el 76% de los casos (la mayoría de estos pacientes no mostraron actividad inflamatoria en la endoscopia o pruebas radiológicas). Los autores concluyeron que los resultados de las concentraciones de fármaco y ADAs afectaron a las decisiones de tratamiento en el 73% de los casos. Este estudio está limitado por su naturaleza retrospectiva, la falta de un estándar en la evaluación de la actividad y sobre todo por la falta de un grupo control en el que las decisiones de tratamiento se hubieran tomado de forma empírica para saber si el resultado en estos pacientes hubiera sido diferente. En cualquier caso representó un primer paso hacia la terapia anti-TNF individualizada en EII (Afif et al., 2010).

En la actualidad, se está llevando a cabo un estudio randomizado prospectivo, el estudio TAXIT, (*The Trough Level Adapted Infliximab Treatment Trial*), del que se han comunicado los resultados de la fase de optimización. El objetivo de este estudio es investigar la utilidad clínica del tratamiento con infliximab individualizado basado en la monitorización mediante concentraciones del fármaco. Se randomizaron 275 pacientes de EII en tratamiento de mantenimiento con infliximab en remisión clínica en dos grupos: grupo

1, ajuste de dosis basado en niveles (entre 3 y 7 µg/mL) y grupo 2, ajuste de dosis basado en síntomas. El objetivo primario del estudio es la tasa de remisión clínica y biológica (PCR < 5 mg/L) al año de randomización. Antes de la randomización se realizó una fase de optimización del tratamiento en la que la dosis de infliximab fue ajustada en todos los pacientes para tener unas concentraciones entre 3 y 7 µg/mL. De los 275 pacientes en remisión 120 (44%) tenían concentraciones entre 3 y 7 mg/mL no precisando ajuste. 72 (26%) tenían concentraciones superiores a 7 mg/mL y el intervalo de infusión de infliximab fue prolongado. 59 (21%) tenían concentraciones detectables pero inferiores a 3 mg/mL y 24 (9%) concentraciones indetectables, de los que 18 (75%) tenían ADAs. A estos dos grupos se les intensificó la dosis excluyendo del estudio a 6 pacientes con ADAs a títulos elevados. Los pacientes con concentraciones inferiores a 3 µg/mL tenían niveles de PCR más elevados (media de 2.7 mg/L) respecto al grupo con concentraciones superiores a 3 µg/ml (media 1.5 mg/L, $p < 0.001$) y respecto al grupo con concentraciones superiores a 7 µg/ml (media 1.2 mg/L, $p < 0.001$). Los autores concluyeron en esta fase de optimización que solo el 44% de los pacientes en remisión tenían concentraciones terapéuticas y que el 26% tenían concentraciones supraterapéuticas. Llamaron la atención que el 9% de los pacientes tenían concentraciones indetectables a pesar de estar en remisión. Además confirman que la concentración de infliximab se correlaciona de forma inversa con los niveles de PCR. Los resultados de la siguiente fase del estudio están investigando si el ajuste de dosis a largo plazo basado en concentraciones es una estrategia superior a la empírica (Vande Casteele et al., 2015).

Se publicaron los resultados de un meta-análisis en 2013 que evaluó el impacto de los ADAs anti-infliximab en el resultado clínico y en las concentraciones del fármaco. Para ello se evaluaron los resultados de 13 estudios que incluían a un total de 1.378 pacientes de EII. El riesgo relativo global de pérdida de respuesta clínica a infliximab en pacientes con ADAs fue del 3.2 (IC 95% 2.0-4.9, $p < 0.0001$) comparado con pacientes sin ADAs. En 3 de los artículos (243 pacientes) describen las concentraciones de infliximab respecto a la presencia de ADAs; la diferencia media de concentraciones valle de infliximab entre los dos grupos fue de -0.8 (IC 95% -1.2, -1.4, $p < 0.0001$). Los autores concluyeron que la presencia de ADAs se asocia con un mayor riesgo de pérdida de respuesta clínica y menores concentraciones valle de infliximab en pacientes con IBD. No obstante, los autores llaman la atención sobre la falta de uniformidad entre los estudios y el alto riesgo de sesgo en todos ellos (Nanda et al., 2013).

Para concluir, es preciso llamar la atención sobre el volumen de evidencia cada vez mayor que muestra una fuerte correlación entre las concentraciones valle de anti-TNF y la eficacia clínica. Estudios tanto en EC como en CU han mostrado que los pacientes con mayores concentraciones de infliximab o adalimumab consiguen mejores resultados. Además, concentraciones detectables de infliximab se han asociado a mayores tasas de mejoría endoscópica. Todos estos resultados ponen de manifiesto el potencial de la monitorización del tratamiento guiada por concentraciones de fármaco en la optimización de la terapia anti-TNF para hacer un tratamiento a medida en cada paciente con los objetivos de aumentar la eficacia, la seguridad y la efectividad de estas terapias. Se precisan estudios prospectivos para determinar en que momento del tratamiento se deben medir las concentraciones valle, si se deben medir en combinación con los niveles de ADAs o no, cual es el valor de referencia óptimo, si la dosis se debe ajustar a que el paciente consiga este nivel y si todas estas estrategias mejoraran la calidad de vida del paciente, su productividad y son coste-efectivas.

Se han propuesto múltiples algoritmos para la optimización de la terapia anti-TNF basada en las concentraciones y ADAs. El propuesto por Billiet, et al tiene en cuenta tanto las concentraciones valle de anti-TNF como la presencia de ADAs (a que títulos, ya que estos pueden ser transitorios y desaparecer con la intensificación del tratamiento) y la terapia concomitante con inmunomoduladores. El siguiente esquema (figura 1.8) es un algoritmo de tratamiento que se propone para la monitorización de la terapia anti-TNF en práctica clínica.

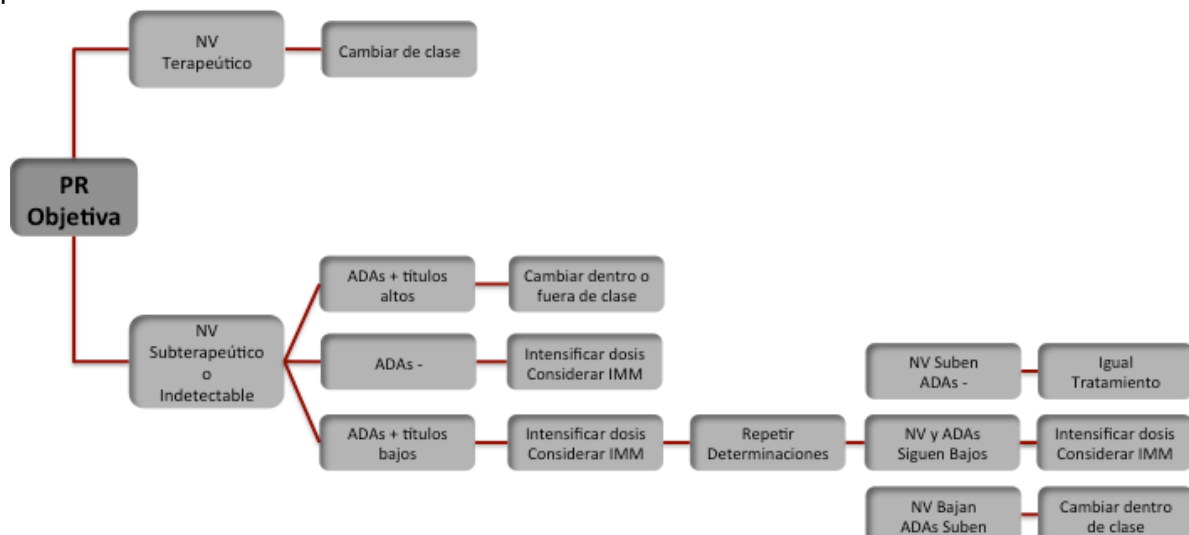


Figura 1.8. Algoritmo de monitorización de terapia anti-TNF. PR: pérdida de respuesta. NV: nivel o concentración de TNF. IMM: inmunomodulador. ADAs: anticuerpos anti-fármaco (Billiet et al., 2014).



2. OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Dado el incremento del uso de la terapia biológica en EII, y el creciente interés en su optimización por su coste y no estar exenta de efectos adversos potencialmente graves, es sumamente interesante investigar si existe algún marcador genético (mediante la determinación de polimorfismos tipo SNPs) que pueda ayudar en el manejo de dicha terapia en práctica clínica aplicando la Farmacogenética (ciencia que estudia el efecto de la variabilidad genética en la respuesta a determinados fármacos).

Se han comunicado múltiples trabajos respecto a las variables que influyen en las concentraciones de anti-TNF y en la formación de anticuerpos frente a estas terapias. En este estudio se va a investigar la relación de variables del paciente, su enfermedad y su respuesta al tratamiento con las concentraciones de anti-TNF y desarrollo de ADAs en nuestra población de estudio.

2.2. OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal de este estudio es investigar si los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) en los genes de los receptores implicados en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (*FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A*) ejercen una influencia en la concentración valle de IFX y ADM en pacientes con EII.

2.3. OBJETIVOS SECUNDARIOS

Estudiar la influencia de los SNPs en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A* en la formación de anticuerpos frente a IFX y ADM (ADAs).

Evaluar el posible efecto de los SNPs en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A* en las concentraciones de TNF-alfa.

Estudiar la relación entre el polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* en las concentraciones de albúmina.

2. OBJETIVOS

Valorar las posibles diferencias entre EC y CU en cuanto a la formación de ADAs y a la distribución de los genotipos de los polimorfismos anteriormente mencionados.

Evaluar la influencia del uso concomitante de inmunosupresores en la formación de ADAs y en las concentraciones valle de anti-TNF.

Estudiar el efecto de las concentraciones de TNF-alfa en las concentraciones valle de anti-TNF como expresión de la carga inflamatoria de la enfermedad.

Investigar si existe relación entre las concentraciones de albúmina o proteína C reactiva con las concentraciones valle de IFX y ADM.

Valorar posibles asociaciones entre el tipo de enfermedad, el peso y el sexo del paciente con las concentraciones valle de anti-TNF.

Averiguar si el tiempo en tratamiento en terapia anti-TNF influye en las concentraciones valle de anti-TNF y en la formación de ADAs.

Estudiar la influencia de los ADAs en las concentraciones valle de anti-TNF.

Evaluar si el tipo de anti-TNF es un factor influyente en las concentraciones valle de anti-TNF.

Valorar las posibles diferencias entre pacientes en tratamiento anti-TNF a dosis estándar y a dosis intensificada en cuanto a los genotipos en los polimorfismos anteriormente mencionados, concentraciones de TNF-alfa y concentraciones valle de anti-TNF.

Evaluar si el tiempo de pérdida de respuesta a la terapia anti-TNF es diferente en los pacientes en tratamiento con infliximab respecto a los pacientes en tratamiento con adalimumab.

Z



3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGIA

3.1. TIPO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio con reclutamiento prospectivo y consecutivo y valoración transversal para evaluar la asociación entre los polimorfismos mencionados y las concentraciones de anti-TNF.

3.2. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

En este trabajo se ha decidido no correlacionar los marcadores genéticos con la respuesta clínica medida mediante índices de actividad, porque en el caso concreto de la EC, dichos índices tienen en cuenta una serie de síntomas que pueden no estar relacionados con la actividad inflamatoria ni con la propia enfermedad (como en el caso de la existencia de estenosis fibróticas o la asociación con síntomas funcionales) habiéndose obtenido resultados equívocos en la bibliografía (Louis et al., 2004).

3.3. POBLACIÓN DEL ESTUDIO

Se han incluido a todos los pacientes diagnosticados de EC y CU procedentes de la Consulta Monográfica de EII del Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena (HUSL) en tratamiento con IFX o ADM que cumplieron con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: pacientes diagnosticados de EC y de CU procedentes del Servicio de Digestivo del HUSL con participación voluntaria en el estudio previo consentimiento informado (anexo 1) en tratamiento con IFX o ADM en fase de mantenimiento.

Criterios de exclusión: pacientes diagnosticados de EC y CU en tratamiento con IFX o ADM durante la fase de inducción y pacientes que denegaran su autorización para su participación en el estudio.

3. METODOLOGÍA

Los pacientes han sido agrupados atendiendo al fármaco en dos grupos:

Grupo 1: pacientes con EC o CU en tratamiento con IFX.

Grupo 2: pacientes con EC o CU en tratamiento con ADM.

El periodo de estudio ha estado comprendido entre febrero de 2014 y mayo de 2015.

Han sido incluidos en el estudio 103 pacientes (80 con EC y 23 con CU). Las características basales de ambos grupos se detallan a continuación.

3.3.1. Grupo infliximab

Se incluyeron 66 pacientes en tratamiento de mantenimiento con infliximab, de los que el 74.2% padecían EC y el 25.7% CU. El tiempo medio que llevaban los pacientes en tratamiento fue 4.2 años (\pm SD 2.28). En la siguiente tabla (tabla 2.1) se detallan el resto de características del grupo.

SEXO	
Hombres	36 (54.5%)
Mujeres	30 (45.4%)
EDAD	
Media \pm SD	44.06 años (\pm 14.59)
ENFERMEDAD	
EC	49 (74.2%)
CU	17 (25.7%)
NAÏVE	
SI	54 (81.8%)
NO	12 (18.1%)
INMUNOMODULADOR	
AZA	23 (34.8%)
MCP	2 (3%)
MTX	3 (4.5%)
NO	38 (57.5%)
INTENSIFICACION	

SI	23 (34.8%)
NO	43 (65.1%)
T° MEDIO TRATAMIENTO	
Media ± SD	4.2 años (± 2.28)

Tabla 2.1. Características basales del grupo infliximab.

3.3.2. Grupo adalimumab

Se incluyeron 37 pacientes en tratamiento de mantenimiento con adalimumab, de los que el 83.7% padecían EC y el 16.2% CU. El tiempo medio que llevaban los pacientes en tratamiento fue 3.6 años (± SD 1.58). En la siguiente tabla (tabla 2.2) se detallan el resto de características del grupo.

SEXO	
Hombres	13 (35.1%)
Mujeres	24 (64.8%)
EDAD	
Media ± SD	43.22 años(± 11.80)
ENFERMEDAD	
EC	31 (83.7%)
CU	6 (16.2%)
NAÏVE	
Si	20 (54%)
No	17 (16.5%)
INMUNOMODULADOR	
AZA	13 (35.1%)
MCP	1 (0.9%)
MTX	2 (5.4%)
NO	21 (20.8%)
INTENSIFICACION	
Si	10 (27%)
No	27 (26.2%)
T° MEDIO TRATAMIENTO	
Media ± SD	3.6 años (± 1.58)

Tabla 2.2. Características basales del grupo adalimumab.

3.4. MATERIAL Y MÉTODOS

3.4.1. Determinación de la concentración de TNF-alfa

A cada paciente se le extrajo el día de la administración de IFX o ADM una muestra de sangre para la determinación de la concentración de TNF-alfa. El TNF-alfa se midió en muestras de suero mediante un ensayo inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida en el analizador IMMULITE 1000 (Siemens, Alemania) empleando el Kit TNF-a siguiendo las instrucciones del fabricante.

3.4.2. Determinación de las concentraciones valle de IFX y ADM

- Principio del test

Las concentraciones valle de anti-TNF se han determinado de forma cuantitativa en muestras de suero mediante el inmunoensayo ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent assay*) Promonitor® (Proteomika, CA, EEUU). Se realizaron dos diluciones de las muestras para aumentar la sensibilidad en el caso de concentraciones de biológico bajas. Este kit utiliza fragmentos Fab humanos (anticuerpos) contra IFX o ADM permitiendo una detección específica sin reacciones cruzadas entre fármacos. Estas porciones Fab se han diseñado de manera que no compiten con el TNF-alfa por la unión al biológico. El ELISA que se ha usado mide la biodisponibilidad, es decir, la fracción de fármaco libre en la circulación sistémica.

Son Kits de ELISA tipo sándwich en formato de 96 pocillos. Las tiras de ELISA de estos kits vienen recubiertas con un anticuerpo monoclonal humano anti-IFX o anti-ADM. Durante el ensayo se han añadido los calibradores prediluidos, controles y las muestras de los pacientes a pocillos separados según instrucciones del fabricante. El IFX o ADM presente en las muestras se unen a los anticuerpos anti-IFX o anti-ADM pre-inmovilizados en la placa. Tras la incubación, la fracción de fármaco no unida se lava y se añade un segundo anticuerpo monoclonal anti-IFX o anti-ADM conjugado a HRP (peroxidasa de rábano) a cada pocillo. Una segunda incubación permite que el anticuerpo anti-IFX o anti-ADM se una al fármaco (IFX o ADM) pegado a los pocillos. Tras un segundo lavado se retira el exceso de HRP unido al anticuerpo anti-IFX o anti-

ADM y se mide la actividad de la enzima HRP en la placa mediante un sustrato cromogénico en el autoanalizador de ELISA TRITURUS® (Grifols, España). La señal obtenida es proporcional a la cantidad de fármaco presente en la muestra del paciente.

La siguiente figura (figura 2.3) ilustra los pasos de la técnica.

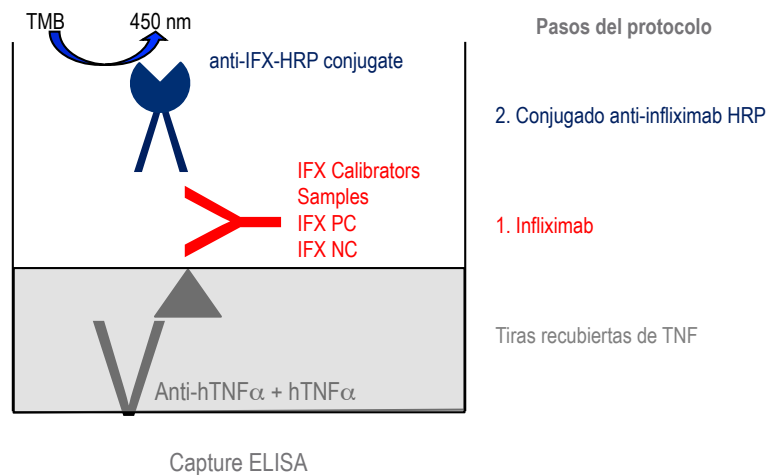


Figura. 2.3. Pasos de la técnica. IFX: infliximab, HRP: peroxidasa de rábano.

- Interpretación de resultados

Existen dos tipos de resultados diferentes:

Cut-point:(punto de corte) es el nivel de respuesta del ensayo por encima del cual una muestra se considera positiva a IFX o ADM y por debajo del cual una muestra se considera negativa a IFX o ADM. El cut-point de promonitor® para IFX es de 0.035 $\mu\text{g/mL}$ y para ADM de 0.024 $\mu\text{g/mL}$. Por tanto concentraciones superiores se consideran positivas.

Cut-off:(valor a partir del cual la concentración se considera dentro de rango terapéutico) se define como la concentración de fármaco clínicamente relevante. Ese valor es diferente para cada tipo de patología inflamatoria y cada laboratorio puede establecer su propio rango. Basándonos en la bibliografía disponible, para este trabajo se ha considerado cut-off para IFX de 3 $\mu\text{g/mL}$ (Santacana-Juncosa et al, 2015) y para ADM 5 $\mu\text{g/ml}$ (Imaeda et al., 2014; Roblin et al., 2014).

3.4.3. Determinación de anticuerpos anti-fármaco (ADAs)

- Principio del test

La determinación de los títulos de anticuerpos frente al biológico se ha realizado de forma cuantitativa mediante el inmunoensayo ELISA Promonitor® (Proteomika, CA, EEUU) en muestras de suero. Este kit mide los anticuerpos de unión al fármaco libres. No detecta inmunocomplejos que puedan haberse formado entre el biológico y los anticuerpos anti-fármaco. Se trata de un ELISA puente cuyas tiras se suministran recubiertas de IFX o ADM. Este tipo de ensayo utiliza los dos brazos de la IgG de tipo 1, 2 y 3 para entrecruzar el IFX o ADM unidos a la placa. Durante el ensayo se han añadido los calibradores prediluidos, controles y las muestras de los pacientes a pocillos separados según instrucciones del fabricante. Tras una primera incubación, los anticuerpos anti-biológico presentes en las muestras se unen al IFX o ADM previamente inmovilizado en la placa. La fracción de muestra no unida se lava y los anticuerpos anti-biológico se detectan mediante unión a un conjugado de IFX o ADM marcado con HRP. Una segunda incubación permite que el IFX o ADM marcado se una a los anticuerpos anti-biológico inmovilizados en el pocillo. Tras un segundo paso de lavado se retira el exceso de conjugado. La actividad de HRP en la placa se ha medido mediante un sustrato cromogénico en el autoanalizador de ELISA TRITURUS® (Grifols, España). La señal obtenida es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra del paciente. La siguiente figura (figura 3.4) ilustra los pasos de la técnica.

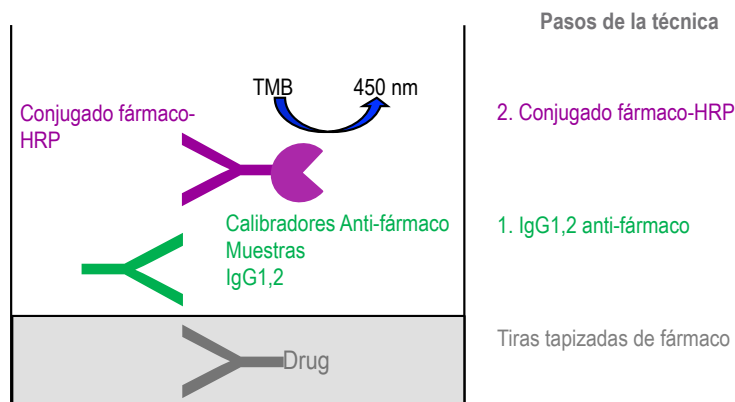


Figura 2.4. Pasos de la técnica. HRP: peroxidasa de rábano.

- Interpretación de los resultados

En el caso de los anticuerpos frente a biológico se interpreta solo el cut-point (es el nivel de respuesta del ensayo por encima del cual una muestra se considera positiva o negativa a anticuerpos anti-biológico) que para el kit promonitor®, en el caso de IFX es de 2 UA/mL y en el caso de ADM es de 3.5 UA/mL.

3.4.4. Estudios genéticos

- Extracción de ADN y cuantificación

Se realizó la extracción de ADN de las muestras a partir de la capa leucoplaquetar empleando dos métodos, el método del Salting-out, utilizando el sistema de extracción automática de DNA Maxwell 16 y el kit de extracción de DNA para muestras de sangre (cat: AS1010) (Promega, Madison, EEUU) y el método de purificación en columna Qiagencon con el kit Quiamp DNA mini kit (Qiagen, Hilden, Alemania) en 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 absorbancia ultravioleta utilizando el espectrofotómetro Biophotometer de Eppendorf (Hamburgo, Alemania).

- Genotipado

Genotipado del gen ***FCGR3A***

El genotipado del SNPs V158F en el gen *FCGR3A* (rs396991) fue llevado a cabo por reacción de cadena de la polimerasa (RCP) anidada usando los primers descritos por Kim HM (Kim et al., 2006), seguido de digestión con 5 µL de la endonucleasa de restricción Nla-III (Fermentas, Vilnius, Lituania). 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 DNA polimerasa. La temperatura de hibridación para esta primera RCP fue de 57°C. 1 µL del producto de la primera RCP fue amplificado bajo las mismas condiciones de la primera RCP, excepto por la temperatura de hibridación que fue de 64°C y los primers. Todos los reactivos usados eran de

3. METODOLOGÍA

Promega (Promega, Madison, EEUU). 5 µL del amplicón obtenido de la segunda RCP 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'-GGGGGGCCCCGGGGGTGATGTTACAGTCTGAGAAGACACATTTTTACTCCCTAC-3' y para el alelo específico F, 5'-AGACACATTTTTACTCCCATA-3'. Los polimorfismos en el gen FCGR3A en la posición V158F son FF (genotipo salvaje), FV y VV. La siguiente figura (figura 2.5) muestra los resultados del genotipado y el electrofograma de un paciente homocigoto FF:

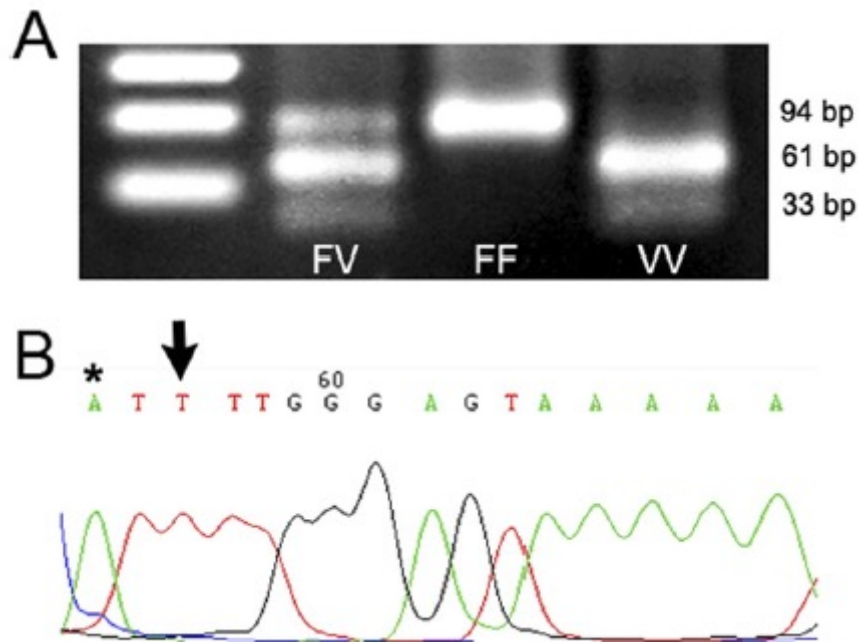


Figura 2.5. A: Genotipo FF (94 base pair), FV (94, 61 y 33 base pair), VV (61 y 33 base pair). B: electrofograma de un homocigoto FF (Conesa-Zamora et al., 2010).

Genotipado del gen **FCGR3A**

La detección del polimorfismo VNTR (*variable number tandem repeat*) del gen **FCGR3A** fue llevada a cabo por reacción de cadena de la polimerasa (RCP) usando los primers descritos por Sachs UJ (Sachs et al., 2006). Los 20 µL de la mezcla para la reacción contenía 1 µL de DNA genómico, 300 nM de cebador directo (5'-GGA GCG AGG CTG AAG GGA AC-3') y de cebador reverso (5'-CCC CTG AAC TGG ATC TCA GTT G-3'), 200 µM de cada dNTP (Promega, M830B), 1.5 mM de MgCl₂ y 0.05 U/µl de Taq polimerasa Hot-start de Promega (Promega, Madison,

3. METODOLOGÍA

EEUU). Las condiciones de la RCP consistieron en 5 minutos a 94°C seguido de 40 ciclos. Cada ciclo consistió en 3 etapas a 94 °C durante 1 minuto, 64,4 °C durante otro minuto y 72°C durante 40 segundos. La extensión completa de la RCP se alcanzó a los 5 minutos a 72°C. Esta amplificación se realizó en el ciclador térmico Veriti (AppliedBiosystems, CA, EEUU). Los fragmentos de DNA se visualizaron mediante electroforesis usando la matriz de separación de DNA QiAxcell de alta resolución (cat929002) en el dispositivo para la medición de QiAxcell (Qiagen, Hildem, Germany).

Los polimorfismos en el gen FCGRT de tipo VNTR consisten en la diferente repetición en tandem de una secuencia de bases. Los posibles genotipos que se han obtenido son VNTR3/VNTR3 (genotipo mayoritario), VNTR2/VNTR3, VNTR3/VNTR2, VNTR3/VNTR4, VNTR2/ VNTR2, VNTR1/VNTR2, VNTR2/VNTR1. La siguiente figura (figura 2.6) muestra un ejemplo de los resultados obtenidos con nuestra técnica.

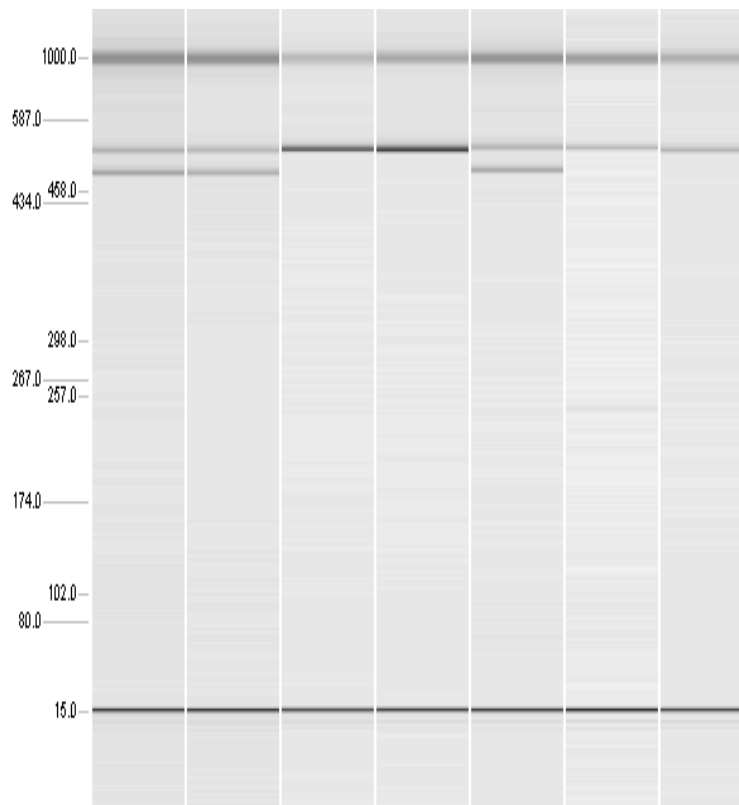


Figura 2.6. Los casos que muestran dos bandas son heterocigotos y corresponden al genotipo VNTR2/VNTR3 y los que tienen una banda al genotipo mayoritario VNTR3/VNTR3.

Genotipado del gen **FCGR2A**

El genotipado del SNP H131R en el gen *FCGR2A* (rs1801274) se determinó mediante discriminación alélica por RCP usando la mezcla maestra TaqManGTXpress Master Mix (AppliedBiosystems, CA, USA). La mezcla para la reacción contenía 10 µL y se usó una placa de 96 pocillos según protocolo FAST. Las condiciones de la RCP consistieron en 20 segundos a 95°C seguidos de 40 ciclos. Cada ciclo consistió en dos etapas, la primera de 3 segundos a 95°C y la segunda de 30 segundos a 60°C. Esta amplificación se realizó en el ciclador térmico Veriti (AppliedBiosystems, CA, EEUU) a tiempo real 7500F. Basado en la intensidad de la fluorescencia FAM y VIC, el software SDS de AppliedBiosystems asignó las muestras a los siguientes genotipos HH, HR y RR. Los fragmentos de DNA se visualizaron mediante electroforesis usando la matriz de separación de DNA QiAxcell de alta resolución (cat929002) en el dispositivo para la medición de QiAxcell (Qiagen, Hilden, Germany).

La siguiente figura (2.6) muestra los pasos de la técnica.

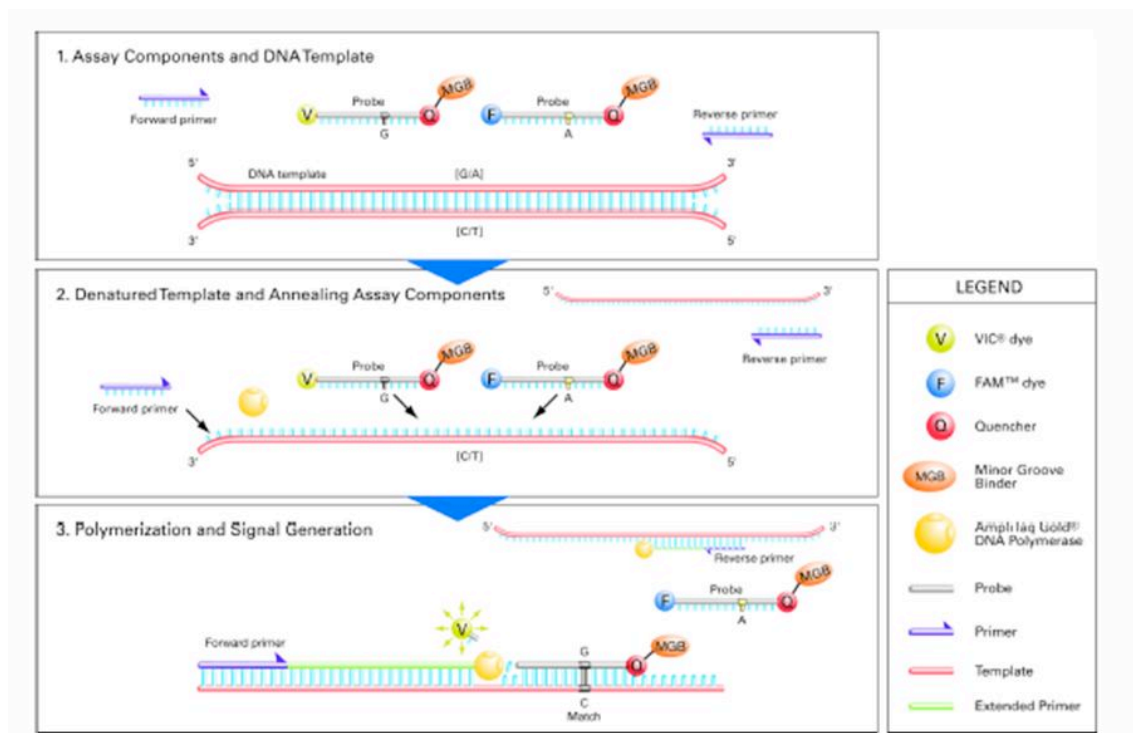


Figura 2.6. Genotipado mediante sonda TaqMan.

3.4.5. Variables demográficas

Los factores demográficos y ambientales en todos los grupos de pacientes se han obtenido mediante la revisión de la historia clínica.

3.4.6. Determinaciones de laboratorio

A cada paciente se le extrajo el día de la administración de IFX o ADM una muestra de sangre para la determinación de PCR y albúmina.

La PCR se determinó mediante un método inmunoturbidimétrico con látex en una plataforma automatizada ADVIA 2400 (Siemens Health, Alemania). El reactivo de látex para PCR es una suspensión de partículas de látex de poliestireno uniformes recubiertas con anticuerpos anti-PCR. Al mezclar suero o plasma que contengan PCR con el reactivo de látex tiene lugar un proceso de aglutinación que da lugar a un aumento de la turbidez. Esta turbidez se mide a 571 nm. La concentración de PCR en el suero o plasma se determina a partir de una curva de calibración generada con dos calibradores.

La albúmina se determinó mediante técnica colorimétrica verde de bromocresol a 596/694 nm en una plataforma automatizada ADVIA 2400 (Siemens Healthcare, Alemania).

3.4.7. Metodología estadística

Realizamos un estudio descriptivo en el que las variables numéricas se resumieron como media, desviación típica, valores máximos y mínimos y las variables cualitativas con frecuencias y porcentajes. Esto lo hicimos tanto para la población general como para los grupos infliximab y adalimumab.

Para los contrastes de hipótesis, tras estudiar la normalidad en la distribución de las variables continuas mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff usamos la T-Student en caso de normalidad y test no paramétricos en caso contrario (U-Mann-Whitney).

3. METODOLOGÍA

Para las variables cualitativas usamos el test de la Chi-Cuadrado con la corrección de Yates en caso de ser necesario y un estudio de residuos tipificados para analizar la dirección de las asociaciones.

Para el estudio de las relaciones entre las variables continuas hicimos un análisis de correlación, tanto para estudiar las asociaciones lineales (Pearson) como no lineales (Spearman).

Todos los resultados se considerarán significativos para un nivel alfa <0.05 . Los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS versión 19.0 (IBM, EEUU)



4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. ANALISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS

4.1.1. Características basales de los pacientes

- Población total del estudio

En el estudio han participado 103 pacientes de los que 80 padecían EC (77.7%), y 23 CU (23.3%). De los 103 pacientes, 66 estaban en tratamiento con infliximab (64.1%) y 37 con adalimumab (35.9%).

El resto de características basales se detallan a continuación en la siguiente tabla (tabla. 4.1.)

SEXO (n=103)	
Hombres	49 (47.5%)
Mujeres	54 (52.4%)
EDAD (n=103)	
Mínimo	18
Máximo	77
Media ± SD	43.7 ± 13.6
NAÏVE (n=103)	
Si	74 (71.8%)
No	29 (28.2%)
INTENSIFICACION (n=103)	
Si	33 (32%)
No	70 (68%)
INMODULADORES CONCOMITANTES (n=103)	
AZA	36 (35%)
MCP	3 (2.9%)
MTX	5 (4.9%)
No	59 (57.3%)
PESO (Kg)(n=89)	

4. RESULTADOS

Mínimo	47.0
Máximo	127.0
Media ± SD	70.2 ± 15.2
Tº MEDIO TRATAMIENTO (AÑOS) (n=103)	
Mínimo	0.7
Máximo	9.5
Media	4 ± 2.07

Tabla 4.1. Características basales de la población del estudio

- Pacientes en tratamiento con infliximab

De los 103 pacientes incluidos, 66 estaban en tratamiento con infliximab, de los que 49 (74.2%) padecían EC y 17 (25.8%) padecían CU. El resto de características basales de este grupo se detalla en la siguiente tabla (tabla 4.2.).

SEXO (n=66)	
Hombres	36 (54.5%)
Mujeres	30 (45.5%)
EDAD (n=66)	
Mínimo	18
Máximo	77
Media ± SD	44.06 ± 14.59
NAÏVE (n=66)	
Si	54 (81.8%)
No	12 (18.2%)
INTENSIFICACION DEL TRATAMIENTO (n=66)	
Si	23 (34.8%)
No	43 (65.2%)
INMODULADORES CONCOMITANTES (n=66)	
AZA	23 (34.8%)
MCP	2 (3%)
MTX	3 (4.5%)
No	38 (57.6%)
PESO (Kg)(n=56)	

4. RESULTADOS

Mínimo	49.0
Máximo	127.0
Media \pm SD	70.4 \pm 15.04
Tº MEDIO TRATAMIENTO (AÑOS) (n=66)	
Mínimo	1
Máximo	9.5
Media \pm SD	4.2 \pm 2.28

Tabla 4.2. Características basales de los pacientes en tratamiento con infliximab.

- Pacientes en tratamiento con adalimumab

De los 103 pacientes incluidos, 37 estaban en tratamiento con adalimumab, de los que 31 (83.8%) padecían EC y 6 (16.2%) padecían CU. El resto de características basales de este grupo se detalla en la siguiente tabla (tabla 4.3.).

SEXO (n=37)	
Hombres	13 (35.1%)
Mujeres	24 (64.9%)
EDAD (n=37)	
Mínimo	23
Máximo	69
Media \pm SD	43.22 \pm 11.80
NAÏVE (n=37)	
Si	20 (54.1%)
No	17 (45.9%)
INTENSIFICACION DEL TRATAMIENTO (n=37)	
Si	10 (27%)
No	27 (73%)
INMODULADORES CONCOMITANTES (n=37)	
AZA	13 (56.8%)
MCP	1 (2.7%)
MTX	2 (5.4%)
No	21 (56.8%)
PESO (Kg) (n=33)	

Mínimo	47.0
Máximo	108.0
Media \pm SD	70.0 \pm 15.70
T° MEDIO TRATAMIENTO (AÑOS) (n=37)	
Mínimo	0.7
Máximo	7.1
Media \pm SD	3.6 \pm 1.58

Tabla 4.3. Características basales de los pacientes en tratamiento con adalimumab.

4.1.2. Variables analíticas

- Población total del estudio

Las variables analíticas medidas por métodos de laboratorio convencionales (albúmina y PCR) no se han podido determinar en los 103 pacientes del estudio no haber suficiente muestra en algunos casos y por mala calidad de la muestra en otros (hemólisis).

Las concentraciones de TNF-alfa se han medido en 99 de los 103 pacientes. En 4 casos no hubo muestra suficiente. En la siguiente tabla (tabla 4.4) se resumen los valores mínimos, máximos y media \pm SD de las variables descritas. Para cada variable se describe, entre paréntesis, el número de pacientes en los que se pudieron determinar las concentraciones.

Población Total	Mínimo	Máximo	Media \pm SD
Albúmina (g/dL) (n=82)	2.40	4.80	3.95 \pm 0.49
PCR (mg/dL) (n=103)	0.30	9.60	0.78 \pm 1.12
TNF-alfa (pg/mL) (n=99)	4.00	4017.00	341.10 \pm 470.97

Tabla 4.4. Concentraciones de albúmina, hemoglobina, PCR y TNF-alfa en la población total.

- Pacientes en tratamiento con infliximab

En la siguiente tabla (tabla 4.5) se resumen los valores mínimos, máximos, media y SD de las concentraciones de albúmina, PCR y TNF-alfa del grupo de pacientes en tratamiento con infliximab. Para cada variable se comenta el número de pacientes en los que se pudieron determinar las concentraciones entre paréntesis.

Grupo IFX	Mínimo	Máximo	Media \pm SD
Albúmina (g/dL) (n=51)	2.40	4.80	3.86 \pm 0.51
PCR (mg/dL) (n=66)	0.30	9.60	0.86 \pm 1.31
TNF-alfa (pg/mL) (n=63)	4.00	4017.00	283.10 \pm 516.59

Tabla 4.5. Concentraciones de albúmina, hemoglobina, PCR y TNF-alfa en el grupo IFX

- Pacientes en tratamiento con adalimumab

En la siguiente tabla (tabla 4.6) se resumen los valores mínimos, máximos y media y \pm SD de las concentraciones de albúmina, PCR y TNF-alfa del grupo de pacientes en tratamiento con adalimumab. Para cada variable se comenta el número de pacientes en los que se pudieron determinar las concentraciones entre paréntesis.

Grupo ADM	Mínimo	Máximo	Media \pm SD
Albúmina (g/dL) (n= 31)	3.10	4.70	4.10 \pm 0.41
PCR (mg/dL) (n=37)	0.30	3.50	0.64 \pm 0.63
TNF-alfa (pg/mL) (n=36)	7.09	1960.00	442.60 \pm 362.88

Tabla 4.6. Concentraciones de albúmina, hemoglobina, PCR y TNF-alfa en el grupo ADA.

4.1.3. Concentraciones valle de anti-TNF

Los resultados de las concentraciones valle de anti-TNF se comentan para cada grupo de pacientes según el fármaco en tratamiento. Se describen tanto los valores de las concentraciones mínimas, máximas y medias \pm SD como el porcentaje de pacientes que estaban dentro y fuera del rango terapéutico.

- Pacientes en tratamiento con infliximab

Las concentraciones valle de infliximab se midieron en los 66 pacientes del grupo infliximab según la técnica comentada previamente. La concentración mínima detectable de infliximab con el kit Promonitor es de 0.035 μ g/mL. Las concentraciones inferiores a dicho valor se han codificado en el estudio para su análisis estadístico como 0.034 μ g/mL. Aunque aún en investigación, en la actualidad se acepta en la literatura como cut-off (punto de corte para rango terapéutico) mayor o igual a 3 μ g/mL en el contexto de EII.

De los 66 pacientes, 54 (81.8%) presentaron concentraciones inferiores al punto de corte para rango terapéutico y 12 (18.2%) presentaron concentraciones dentro del rango terapéutico, con una concentración media de 2.80 µg/mL. En la siguiente tabla (tabla 4.7) se resumen los resultados obtenidos.

Grupo IFX	Mínimo	Máximo	Media ± SD
Concentraciones valle (µg/mL)	< 0.035	16.80	2.80 ± 3.10

Tabla 4.7. Concentraciones valle mínima, máxima y media ± SD de IFX.

- Pacientes en tratamiento con adalimumab

Las concentraciones valle de adalimumab se midieron en los 37 pacientes del grupo adalimumab según la técnica comentada previamente. La concentración mínima detectable de adalimumab con el kit Promonitor es de 0.024 µg/mL. Las concentraciones inferiores a dicho valor se han codificado en el estudio para su análisis estadístico como 0.023 µg/mL. Aunque aún en investigación, en la actualidad se acepta en la literatura como cut-off (punto de corte para rango terapéutico) mayor o igual a 5 µg/mL en el contexto de EII.

De los 37 pacientes, 5 (13.5%) presentaron concentraciones inferiores al punto de corte para rango terapéutico y 32 pacientes (86.5%) presentaron concentraciones dentro del rango terapéutico, con una concentración media de 5.86 µg/mL.

En la siguiente tabla (tabla 4.8) se resumen los resultados obtenidos.

Grupo ADM	Mínimo	Máximo	Media ± SD
Concentraciones valle (µg/mL)	< 0.024	14.90	5.86 ± 3.78

Tabla 4.8. Concentraciones valle mínimas, máximas y media ± SD de IFX.

4.1.4. Distribución de los polimorfismos en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A*

- Población total del estudio

- *FCGRT*

El estudio del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* se realizó en 101 de los 103 pacientes. No se pudo realizar en 2 de ellos porque la calidad del ADN no era óptima. De los 101 pacientes, 74 (71.8%) eran portadores del genotipo VNTR3/VNTR3, 16 (15.5%) eran portadores del genotipo VNTR2/VNTR3 y 11 (10.7%)

eran portadores de un pool de genotipos poco frecuentes (VNTR3/VNTR4, VNTR2/VNTR1, VNTR1/VNTR2 y VNTR2/VNTR2).

- *FCGR2A*

El estudio del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* se realizó en 102 de los 103 pacientes. No se pudo realizar en 1 paciente por la baja calidad del ADN. De los 102 pacientes, 30 (29.1%) eran portadores del genotipo AA, 46 (44.7%) eran portadores del genotipo AG y 26 (25.2%) eran portadores del genotipo GG.

- *FCGR3A*

El estudio del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* se realizó en 103 pacientes de la población en estudio. Del total de pacientes, 40 (38.8%) eran portadores del genotipo FF, 47 (44.6%) eran portadores del genotipo FV y 16 (15.5%) eran portadores del genotipo VV.

- Pacientes en tratamiento con infliximab

- *FCGRT*

El estudio del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* se realizó en 64 de los 66 pacientes en tratamiento con IFX. De los 64 pacientes, 47 (71.2%) eran portadores del genotipo VNTR3/VNTR3, 10 (15.2%) eran portadores del genotipo VNTR2/VNTR3 y 7 (10.6%) eran portadores del pool de genotipos poco frecuentes (VNTR3/VNTR4, VNTR2/VNTR1, VNTR1/VNTR2 y VNTR2/VNTR2).

- *FCGR2A*

El estudio del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* se realizó en 65 de los 66 pacientes en tratamiento con IFX. De los 65 pacientes, 23 (34.8%) eran portadores del genotipo AA, 27 (40.9%) eran portadores del genotipo AG y 15 (22.7%) eran portadores del genotipo GG.

- *FCGR3A*

El estudio del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* se realizó en los 66 pacientes en tratamiento con IFX. Del total de pacientes, 21 (31.8%) eran portadores del genotipo FF, 33 (50%) eran portadores del genotipo FV y 12 (18.2%) eran portadores del genotipo VV.

- Pacientes en tratamiento con adalimumab**- FCGR1**

El estudio del polimorfismo VNTR en el gen *FCGR1* se realizó en los 37 pacientes en tratamiento con ADA. De los 37 pacientes, 27 (73%) eran portadores del genotipo VNTR3/VNTR3, 6 (16.2%) eran portadores del genotipo VNTR2/VNTR3 y 4 (10.8%) eran portadores de un pool de genotipos poco frecuentes (VNTR3/VNTR4, VNTR2/VNTR1, VNTR1/VNTR2 y VNTR2/VNTR2).

- FCGR2A

El estudio del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* se realizó en los 37 pacientes en tratamiento con ADA. De los 37 pacientes, 7 (18.9%) eran portadores del genotipo AA, 19 (51.4%) eran portadores del genotipo AG y 11 (29.7%) eran portadores del genotipo GG.

- FCGR3A

El estudio del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* se realizó en los 37 pacientes en tratamiento con adalimumab. Del total de pacientes, 19 (51.4%) eran portadores del genotipo FF, 14 (37.8%) eran portadores del genotipo FV y 4 (10.8%) eran portadores del genotipo VV.

La siguiente tabla (tabla 4.9) resume la distribución de los polimorfismos en los tres genes en los dos grupos de tratamiento y la población total.

Genes	Genotipos	Población Total	Grupo IFX	Grupo ADM
<i>FCGR1</i>	VNTR3/VNTR3	74 (71.8%)	47 (71.2%)	27 (73%)
	VNTR2/VNTR3	16 (15.5%)	10 (15.2%)	6 (16.2%)
	Otros	11 (10.7%)	7 (10.6%)	4 (10.8%)
<i>FCGR2A</i>	GG	26 (25.8%)	15 (22.7%)	11 (29.7%)
	AG	46 (44.7%)	27 (40.9%)	19 (51.4%)
	AA	30 (29.1%)	23 (34.8%)	7 (18.9%)
<i>FCGR3A</i>	FF	40 (38.8%)	21 (31.8%)	19 (51.4%)
	FV	47 (44.6%)	33 (50%)	14 (37.8%)
	VV	16 (15.5%)	12 (18.2%)	4 (10.8%)

Tabla 4.9. Distribución de los genotipos en la población total y los grupos de IFX y ADM.

4.1.5. Estudio descriptivo de las variables de confusión entre los grupos infliximab y adalimumab

Se ha realizado un análisis comparativo de los grupos infliximab y adalimumab respecto a las variables que podrían influir en las concentraciones valle de anti-TNF mediante una prueba para la igualdad de medias. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos para las variables analizadas excepto para la albúmina cuyas concentraciones fueron superiores en el grupo ADM respecto al grupo IFX (4.10 vs 3.86, $p=0.03$). En el grupo ADM hubo mayor número de pacientes mujeres que en el grupo IFX sin alcanzar significación estadística. En las siguientes tablas (tabla 4.10 y tabla 4.11) se muestran los resultados y los valores de significación.

Variables	Fármaco	n	Media	D. Típica	p
TNF-alfa (pg/mL)	ADA	36	442.60	262.88	p=0.10
	IFX	63	283.10	516.59	
Hb (g/dL)	ADA	37	13.80	1.47	p=0.32
	IFX	66	13.48	1.63	
PCR (mg/dL)	ADA	37	0.64	0.63	p=0.35
	IFX	66	0.86	1.31	
Peso (kg)	ADA	33	70.019	15.708	p=0.90
	IFX	56	70.403	15.040	
Edad (años)	ADA	37	43.22	11.80	p=0.76
	IFX	66	44.06	14.59	
Tiempo de Tratamiento (años)	ADA	37	3.61	1.58	p=0.15
	IFX	66	4.22	2.28	

Tabla 4.10. Análisis de igualdad de medias para variables de confusión numéricas

Fármaco	IMM		Sexo	
	SI	No	H	M
ADM	16 (43.2%)	21 (56.8%)	13 (35.1%)	24 (64.9%)
IFX	28 (42.4%)	38 (57.6%)	36 (54.5%)	30 (45.4%)
p	0.93		0.05	

Tabla 4.11. Análisis de igualdad de medias para variables de confusión categóricas (se expresan el número de pacientes y el porcentaje que representan respecto al total del fármaco). H: hombres. M: mujeres.

4.2. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

4.2.1. Influencia del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* en las concentraciones valle de anti-TNF

- Influencia del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* en las concentraciones valle de infliximab.

Para estudiar la asociación entre las concentraciones valle de infliximab y el polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* se analizaron los resultados de las concentraciones valle de IFX de los 66 pacientes incluidos en este grupo y de los resultados del genotipo obtenido en 64 pacientes.

Se observó que los pacientes portadores del genotipo mayoritario VNTR3/VNTR3 (47 pacientes) presentaron una concentración valle media de IFX de 2.57 $\mu\text{g/mL}$ (\pm SD 2.74). Los pacientes con el genotipo VNTR2/VNTR3 (10 pacientes) presentaron una concentración valle media de 2.28 $\mu\text{g/mL}$ (\pm SD 2.45). Los pacientes con el resto de genotipos menos comunes (7 pacientes) presentaron una concentración valle media de 4.90 $\mu\text{g/mL}$ (\pm SD 5.36). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.15$).

<i>FCGRT</i>	Concentración valle de IFX media ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD	p
VNTR3/VNTR3	2.57 \pm 2.74	0.15
VNTR3/VNTR2	2.28 \pm 2.45	
Otros	4.90 \pm 5.36	

Tabla.4.12. Concentraciones valle de IFX según genotipo del gen *FCGRT*.

- Influencia del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* en las concentraciones valle de adalimumab.

En el caso del fármaco adalimumab, se analizaron los resultados de las concentraciones valle de ADM y los resultados de genotipo en todos los pacientes de este grupo (37 pacientes).

4. RESULTADOS

Se observó que los pacientes portadores del genotipo mayoritario VNTR3/VNTR3 (27 pacientes) presentaron una concentración valle media de ADM de 6.54 µg/mL (\pm SD 2.74). Los pacientes con el genotipo VNTR2/VNTR3 (6 pacientes) presentaron una concentración valle media de 4.50 µg/mL (\pm SD 2.72). Los pacientes con el resto de genotipos menos comunes (4 pacientes) presentaron una concentración valle media de 3.30 µg/mL (\pm SD 2.54). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.17$).

<i>FCGRT</i>	Concentración valle de ADM media (µg/mL) \pm SD	p
VNTR3/VNTR3	6.54 \pm 2.74	0.17
VNTR3/VNTR2	4.50 \pm 2.72	
Otros	3.30 \pm 2.54	

Tabla.4.13. Concentraciones de ADM según genotipo del gen *FCGRT*.

- Estudio comparativo de las diferencias de distribución del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* entre el grupo de pacientes con concentraciones valle de anti-TNF dentro y fuera de rango terapéutico

Nos ha parecido interesante corroborar los hallazgos mediante el análisis de la distribución de los genotipos en toda la población de estudio no agrupada por tipo de fármaco sino atendiendo a si la concentración de anti-TNF estaba dentro o fuera del rango terapéutico. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la distribución de los genotipos en estos dos grupos ($p=0.79$). En la siguiente tabla (4.14) se detallan el número de pacientes dentro y fuera de rango por genotipos y el porcentaje que representan del total del genotipo.

<i>FCGRT</i>	DR	FR	Total	p
VNTR3/VNTR3	33 (44.6%)	41 (55.4%)	74	0.79
VNTR3/VNTR2	6 (37.5%)	10 (62.5%)	16	
Otros	4 (36.4%)	7 (63.6%)	11	

Tabla 4.14. Distribución de los genotipos en el gen *FCGRT* en los subgrupos DR (dentro de rango) y FR (fuera de rango).

4.2.2. Influencia del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* en las concentraciones de anti-TNF

- Influencia del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* en las concentraciones de infliximab

Para estudiar la asociación entre las concentraciones valle de infliximab y el polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* se analizaron los resultados de las concentraciones valle de IFX de los 66 pacientes incluidos en este grupo y de los resultados de genotipo obtenidos en 65 pacientes.

Se observó que los pacientes portadores del genotipo AA (23 pacientes) presentaron una concentración valle media de 2.80 µg/mL (\pm SD 3.60). Los pacientes portadores del genotipo heterocigoto AG (27 pacientes) presentaron una concentración valle media de 3.23 µg/mL (\pm SD 3.07) y los pacientes con el genotipo GG (15 pacientes) presentaron una concentración valle media de 2.16 µg/mL (\pm SD 2.39). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.56$).

<i>FCGR2A</i>	Concentración valle de IFX media (µg/mL) \pm SD	p
AA	2.80 \pm 3.60	0.56
AG	3.23 \pm 3.07	
GG	2.16 \pm 2.39	

Tabla.4.15. Concentraciones de IFX según genotipo del gen *FCGR2A*.

- Influencia del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* en las concentraciones de adalimumab

En el caso del fármaco adalimumab, se analizaron los resultados de las concentraciones valle de ADM y los resultados de genotipo en todos los pacientes de este grupo (37 pacientes).

Se observó que los pacientes portadores del genotipo homocigoto AA (7 pacientes) presentaron una concentración valle media de 8.08 µg/mL (\pm SD 4.97). Los pacientes portadores del genotipo heterocigoto AG (19 pacientes) presentaron una concentración valle media de 5.31 µg/mL (\pm SD 3.50). Los pacientes con el genotipo

GG (11 pacientes) presentaron una concentración valle media de 5.57 $\mu\text{g/mL}$ (\pm SD 3.10). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.23$).

<i>FCGR2A</i>	Concentración valle de ADM media ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD	p
AA	8.08 \pm 4.97	0.23
AG	5.31 \pm 3.50	
GG	5.57 \pm 3.10	

Tabla.4.16. Concentraciones de ADM según genotipo del gen *FCGR2A*.

- Estudio comparativo de las diferencias de distribución del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* entre el grupo de pacientes con concentraciones valle de anti-TNF dentro y fuera de rango terapéutico

Al igual que con el gen *FCGRT*, hemos analizado la distribución de los genotipos en el gen *FCGR2A* en toda la población de estudio atendiendo a si las concentraciones valle de anti-TNF estaban dentro o fuera del rango terapéutico.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la distribución de los genotipos en estos dos grupos ($p=0.84$). En la siguiente tabla (4.17) se detallan el número de pacientes dentro y fuera de rango por genotipos y el porcentaje que representan del total del genotipo.

<i>FCGR2A</i>	DR	FR	Total	p
AA	8 (26.7%)	22 (73.3%)	30	0.84
AG	22 (47.8%)	24 (47.8%)	46	
GG	14 (53.8%)	12 (46.2%)	26	

Tabla 4.17. Distribución de los genotipos en el gen *FCG2A* en los subgrupos DR (dentro de rango) y FR (fuera de rango).

4.2.3. Influencia del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* en las concentraciones de anti-TNF

- Influencia del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* en las concentraciones de infliximab

En el análisis de los resultados de la asociación entre las concentraciones valle de IFX y el polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* se incluyeron los resultados de

4. RESULTADOS

las concentraciones valle medias de IFX y de los genotipos obtenidos en los 66 pacientes de este grupo.

Se observó que los pacientes portadores del genotipo homocigoto mayoritario FF(21 pacientes) presentaron una concentración valle media de 2.37 µg/mL (± SD 1.92). Los pacientes heterocigotos FV (33 pacientes) presentaron una concentración valle media de 3.45 µg/mL (± SD 3.91). Los pacientes con el genotipo VV (12 pacientes) presentaron una concentración valle media de 1.76 µg/mL (± SD 1.67). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas (p=0.20).

FCGR3A	Concentración valle de IFX media (µg/mL) ± SD	p
FF	2.37 ± 1.92	0.20
FV	3.45 ± 3.91	
VV	1.76 ± 1.67	

Tabla.4.18. Concentraciones de IFX según genotipo del gen FCGR3A.

- Influencia del polimorfismo rs396991 en el gen FCGR3A en las concentraciones de adalimumab

En el caso del fármaco adalimumab, también se analizaron los resultados de las concentraciones valle de ADM y los resultados de genotipo en todos los pacientes de este grupo (37 pacientes). Se observó que los pacientes portadores del genotipo mayoritario FF (19 pacientes) presentaron una concentración valle media de 6.28 µg/mL (± DS 3.79). Los pacientes con el genotipo heterocigoto FV (14 pacientes) presentaron una concentración valle media de 5.01 µg/mL (± DS 3.81). Los pacientes con el genotipo VV (4 pacientes) presentaron una concentración valle media de 3.37 µg/mL (± DS 3.52). Al analizar los datos por comparación de medias no se observaron diferencias estadísticamente significativas (p=0.38).

FCGR3A	Concentración valle de ADM media (µg/mL) ± SD	p
FF	6.28 ± 3.79	0.38
FV	5.01 ± 3.81	
VV	3.37 ± 3.52	

Tabla.4.19. Concentraciones de ADM según genotipo del gen FCGR3A.

- Estudio comparativo de las diferencias de distribución del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* entre el grupo de pacientes con concentraciones valle de anti-TNF dentro y fuera de rango terapéutico

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los genotipos en el gen *FCGR3A* entre los pacientes dentro y fuera de rango terapéutico ($p=0.70$). En la siguiente tabla (4.20) se detallan el número de pacientes dentro y fuera de rango por genotipos y el porcentaje que representan del total del genotipo.

<i>FCGR3A</i>	DR	FR	Total	p
FF	21 (52.5%)	19 (47.5)	40	0.70
FV	20 (42.6%)	27 (57.4%)	47	
VV	3 (18.8%)	13 (81.3%)	16	

Tabla 4.20. Distribución de los genotipos en el gen *FCGR3A* en los subgrupos DR (dentro de rango) y FR (fuera de rango).

4.2.4. Influencia de los polimorfismos en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A* en la concentración de TNF-alfa

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en la concentración media de TNF-alfa entre los diferentes genotipos de los genes estudiados como se muestra en la siguiente tabla (4.21). Para el análisis estadístico se ha realizado transformación logarítmica (\ln) de la variable por los valores que tomaba.

Gen	Genotipo	TNF-alfa(pg/mL) (\ln) media \pm SD	p
<i>FCGRT</i>	VNTR3/VNTR3	5.15 (\pm 1.32)	0.39
	VNTR2/VNTR3	5.17 (\pm 1.55)	
	Otros	5.66 (\pm 0.73)	
<i>FCGR2A</i>	AA	5.17 (\pm 1.44)	0.67
	AG	5.29 (\pm 1.13)	
	GG	5.08 (\pm 1.49)	
<i>FCGR3A</i>	FF	5.42 (\pm 1.37)	0.36
	FV	5.09 (\pm 1.28)	
	VV	4.93 (\pm 1.17)	

Tabla 4.21. Concentraciones medias \pm SD de TNF-alfa por genotipos y niveles de significación.

4.2.5. Estudio de los factores que influyen en la formación de ADAs

- Influencia de los polimorfismos en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A* en la formación de ADAs.

De los 103 pacientes incluidos en el estudio, 13 desarrollaron ADAs (11 anti-infliximab y 2 anti-adalimumab) sin diferencias estadísticamente significativas respecto al tipo de fármaco ($p=0.08$).

Se ha observado que los pacientes con el genotipo VV en el gen *FCGR3A* tienen mayor riesgo de desarrollar ADAs que los pacientes que presentan otros genotipos de este gen ($p=0.004$). Sin embargo, no se ha hallado relación entre el resto de genotipos de los otros dos genes estudiados y la formación de ADAs. En la siguiente tabla (4.22) se expone el número de pacientes con ADAs por genotipo y el nivel de significación estadística.

Gen	Genotipo	Nº pacientes con ADAs +	p
<i>FCGRT</i>	VNTR3/VNTR3	9/74	0.71
	VNTR2/VNTR3	3/16	
	OTROS	1/11	
<i>FCGR2A</i>	GG	4/26	0.85
	AG	5/46	
	AA	4/30	
<i>FCGR3A</i>	FF	2/40	0.004
	FV	5/47	
	VV	6/16	

Tabla 4.22. Relación entre los genotipos y el desarrollo de ADAs. (se expresa la razón entre el número de pacientes con ADAs del total de pacientes que presentan ese genotipo)

En el siguiente gráfico (figura 4.1) se representa el número de pacientes que desarrolló ADAs (en color burdeos) y con ADAs negativos (en color gris) de cada uno de los genotipos del gen *FCGR3A*.

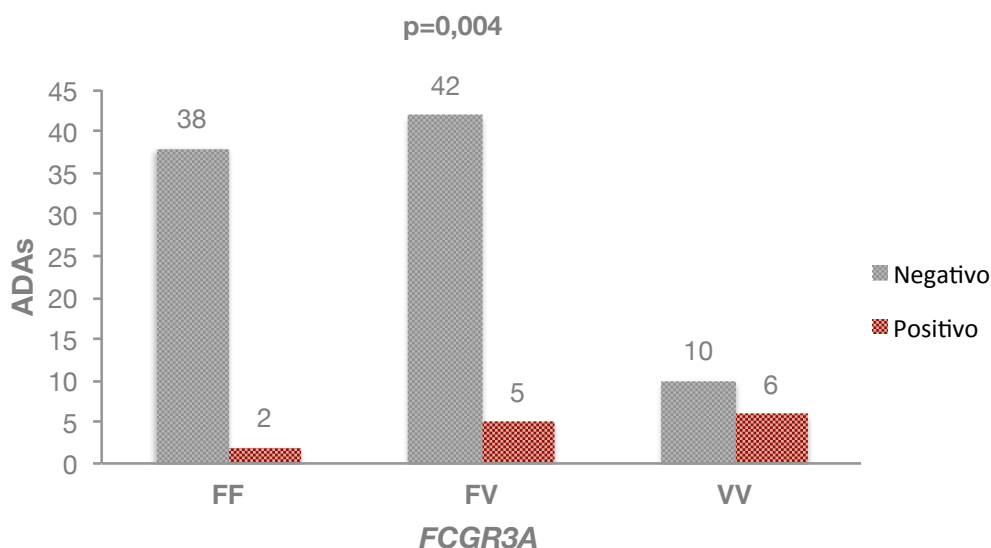


Figura 4.1. Número de pacientes con ADAs positivos de los tres genotipos del gen FCGR3A

- Influencia del uso concomitante de inmunomoduladores en la formación de ADAS

De los 13 pacientes en los que se detectaron ADAs, 10 no estaban en tratamiento concomitante con inmunomoduladores, 1 estaba en tratamiento con azatioprina, 1 estaba en tratamiento con mercaptopurina y 1 estaba en tratamiento con metotrexate. De los pacientes que desarrollaron ADAs el 76.9% no estaban tomando terapia inmunomoduladora frente al 23.1% que sí estaba en terapia combinada. A pesar de la tendencia observada no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.12$). Es posible que la no significación estadística esté en relación al pequeño número de casos con ADAs detectables.

En el siguiente gráfico (figura 4.2) se muestra el porcentaje de pacientes con tratamiento inmunomodulador (en color burdeos) y sin tratamiento inmunomodulador (en color gris) que desarrollaron ADAs.

4. RESULTADOS

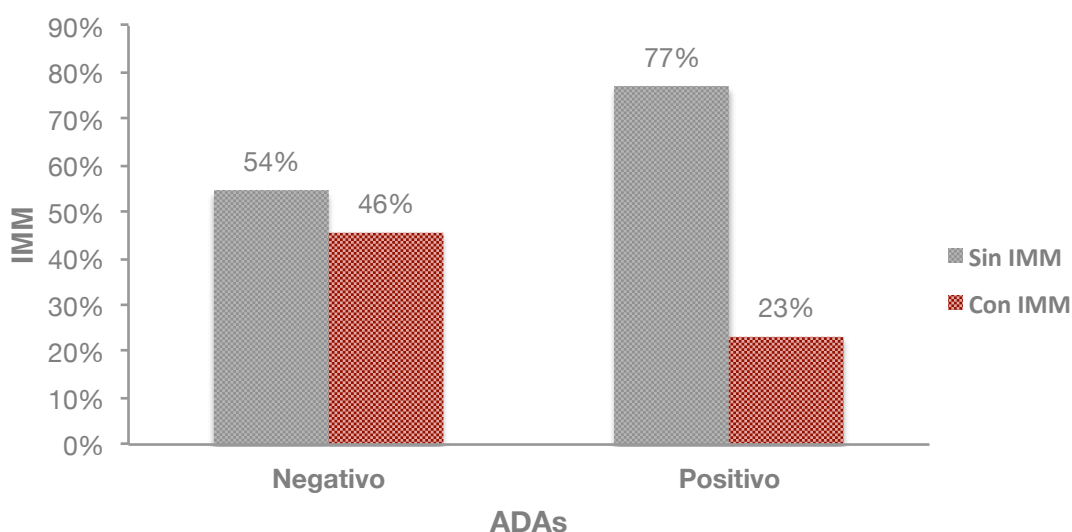


Figura. 4.2. Proporción de pacientes con y sin tratamiento inmunomodulador que desarrolló ADAs.

- Influencia del tipo de enfermedad (EC y CU) en la formación de ADAs

No se han hallado diferencias en la formación de ADAs entre los pacientes con enfermedad de Crohn (11 pacientes) y los pacientes con colitis ulcerosa (2 pacientes) ($p=0.52$).

- Influencia del tiempo en tratamiento en terapia anti-TNF en la formación de ADAs.

Se ha analizado la influencia del tiempo que el paciente llevaba en terapia anti-TNF en el desarrollo de ADAs no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ($p=0.42$). En la siguiente tabla (tabla 4.22) se muestra el número de pacientes que han desarrollado o no ADAs y el tiempo medio que llevaban en tratamiento expresado en años (\pm SD)

	ADAs	n	Media (\pm SD) (años)	p
Tiempo medio en tratamiento (años)	Negativos	90	3.93 (\pm 2.10)	0.42
	Positivos	13	4.52 (\pm 1.79)	

Tabla. 4.22. Tiempo medio de tratamiento según el desarrollo de ADAs.

4.2.6. Estudio de las diferencias en los polimorfismos en los genes *FCGTR*, *FCGR2A* y *FCGR3A* entre EC y CU

- Estudio de la distribución del polimorfismo VNTR en el gen *FCGTR* en EC y CU

No se han hallado diferencias en la distribución del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* entre pacientes con EC y CU ($p=0.50$).

Gen	Genotipo	EC	CU	p
<i>FCGRT</i>	VNTR3/VNTR3	58 (74.4%)	16 (69.4%)	0.50
	VNTR2/VNTR3	13 (16.7%)	3 (13%)	
	Otros	7 (9%)	4 (17.4%)	

Tabla 4.23. Distribución del polimorfismos VNTR en el gen *FCGRT* según el tipo de enfermedad. Se expresa el porcentaje respecto al total de cada enfermedad.

- Estudio de la distribución del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* en EC y CU

En el caso del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* tampoco se han hallado diferencias en la distribución entre pacientes con EC y CU ($p=0.79$).

Gen	Genotipo	EC	CU	p
<i>FCGR2A</i>	AA	22 (27.8%)	8 (34.8%)	0.79
	AG	36 (45.6%)	10 (43.5%)	
	GG	21 (26.6%)	5 (21.7%)	

Tabla 4.24. Distribución del polimorfismo rs 1801274 en el gen *FCGR2A* según el tipo de enfermedad. Se expresa el porcentaje respecto al total de cada enfermedad.

- Estudio de la distribución del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* en EC y CU

Al igual que con los dos genes anteriores, en el caso del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* tampoco se han hallado diferencias en la distribución entre pacientes con EC y CU ($p=0.85$).

Gen	Genotipo	EC	CU	p
<i>FCGR3A</i>	FF	30 (37.5%)	10 (43.5%)	0.85
	FV	37 (46.3%)	10 (45.5%)	
	VV	13 (16.3%)	3 (13%)	

Tabla 4.25. Distribución del polimorfismo rs 396991 en el gen *FCGR3A* según el tipo de enfermedad. Se expresa el porcentaje respecto al total de cada enfermedad

4.2.7. Estudio de otras variables que pueden influenciar las concentraciones valle de anti-TNF

Para cada variable que se comenta a continuación se han analizado los datos con respecto a las concentraciones de anti-TNF fuera y dentro de rango (no considerando el tipo de fármaco) y también con respecto a las concentraciones valle de ADM e IFX (se ha analizado si existe correlación lineal y no lineal)

- Influencia de las concentraciones de TNF-alfa en las concentraciones valle de anti-TNF

Se han hallado diferencias estadísticamente significativas ($p=0.001$) entre las concentraciones de TNF-alfa que presentan los pacientes dentro y fuera de rango terapéutico. Los pacientes dentro de rango tuvieron concentraciones de TNF-alfa significativamente superiores respecto a los pacientes fuera de rango (5.71 ± 1.01 vs 4.79 ± 1.37 , $p<0.001$).

4. RESULTADOS

Variable	Concentración de anti-TNF	n	Media ± SD	p
TNF-alfa (ln)	DR	43	5.71± 1.01	0.001
	FR	56	4.79± 1.37	

Tabla. 4.26. Concentraciones de TNF-alfa. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

No se ha hallado correlación entre las concentraciones de TNF-alfa y las concentraciones de ADM ($p=0.86$, coef. de Pearson 0.02; $p=0.26$, coef. de correlación 0.13). Sin embargo, sí se ha hallado correlación no lineal directa entre las concentraciones de TNF-alfa y las concentraciones valle de IFX ($p=0.85$, coef. de Pearson 0.02; $p=0.007$, coef. de correlación 0.23).

- Influencia de las concentraciones de albumina en las concentraciones valle de anti-TNF

No se han hallado diferencias en las concentraciones medias de albúmina entre los grupos de pacientes dentro y fuera de rango terapéutico ($p=0.90$).

Variable	Concentración de anti-TNF	n	Media ± SD	p
Albúmina (g/dL)	DR	35	4.09± 0.48	0.90
	FR	47	3.85 ± 0.48	

Tabla. 4.27. Concentraciones de albúmina. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

No se ha hallado correlación lineal entre las concentraciones de albúmina y las concentraciones valle de ADM ($p=0.58$, coef. de Pearson -0.34) ni de IFX ($p=0.36$, coef. de Pearson 0.13); sin embargo si se ha hallado una correlación no lineal inversa entre las concentraciones de albúmina y las concentraciones de ADM ($p=0.47$, coeficiente de correlación de -0.26).

- Influencia de la concentración de PCR en las concentraciones valle de anti-TNF

No se han hallado diferencias en las concentraciones medias de PCR entre los grupos de pacientes dentro y fuera de rango terapéutico ($p=0.13$).

4. RESULTADOS

Variable	Concentración de anti-TNF	n	Media ± SD	p
PCR (mg/dL)	DR	44	0.64± 0.73	0.13
	FR	59	0.89± 1.33	

Tabla. 4.28. Concentraciones de PCR. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

Tampoco se ha hallado correlación entre las concentraciones de PCR y las concentraciones de ADM ($p=0.27$, coef. de Pearson -0.18 ; $p=0.73$, coef. de correlación).

Sí se ha hallado correlación no lineal inversa entre las concentraciones de PCR y las concentraciones valle de IFX ($p=0.039$, coef. de correlación -0.19).

- Influencia del sexo del paciente en las concentraciones valle de anti-TNF.

No se han hallado diferencias significativas entre las concentraciones dentro y fuera de rango terapéutico de hombres y mujeres ($p=0.28$). Tampoco se ha hallado correlación entre el sexo y las concentraciones valle de ADM ($p=0.13$) ni de IFX ($p=0.08$).

Variable	Concentración de anti-TNF	DR	FR	p
Sexo	H	19 (43.2%)	30 (50.8%)	0.28
	M	25 (56.8%)	29 (49.2%)	

Tabla. 4.30. Distribución del sexo. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

- Influencia del peso del paciente en las concentraciones valle de anti-TNF

No se han observado diferencias en el peso de los pacientes cuyas concentraciones de anti-TNF estaban dentro y fuera de rango terapéutico ($p=0.37$).

4. RESULTADOS

Variable	Concentración de anti-TNF	n	Media ± SD	p
Peso (kg)	DR	40	70.50± 1.53	0.37
	FR	49	70.05± 1.61	

Tabla. 4.31. Distribución del peso. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

No se ha hallado correlación entre el peso de los pacientes y las concentraciones valle de IFX ($p=0.42$, coef. de Pearson 0.11; $p=0.06$, coef. de correlación 0.17).

Sí se ha hallado correlación no lineal de tipo inverso entre el peso y las concentraciones de ADM ($p=0.10$, coef. de Pearson -0.29; $p=0.19$, coef. de correlación -0.29).

- Influencia del tipo de enfermedad (EC, CU) en las concentraciones valle de anti-TNF

El hecho de padecer EC o CU no ha ejercido una influencia en las concentraciones dentro y fuera de rango terapéutico ($p=0.26$).

Variable	Concentración de anti-TNF	DR	FR	p
Enfermedad	EC	36 (81.8%)	44 (74.6%)	0.26
	CU	8 (18.2%)	15 (25.4%)	

Tabla. 4.32. Distribución del tipo de enfermedad. DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

Tampoco se ha observado correlación entre el tipo de enfermedad y las concentraciones valle de ADM ($p=0.93$) ni IFX ($p=0.80$).

- Influencia del tiempo en tratamiento en terapia anti-TNF en las concentraciones valle de anti-TNF

El tiempo medio que el paciente llevaba en tratamiento anti-TNF (expresado en años) no ha influido en el hecho de que el paciente presentara concentraciones valle de anti-TNF dentro o fuera de rango terapéutico ($p=0.26$).

Variable	Concentración de anti-TNF	n	Media \pm SD	p
Tiempo en tratamiento (años)	DR	44	3.93 \pm 1.93	0.26
	FR	59	4.05 \pm 2.18	

Tabla. 4.33. . DR: dentro de rango terapéutico. FR: fuera de rango terapéutico.

Tampoco se ha hallado correlación entre el tiempo en tratamiento y las concentraciones valle de ADM ($p=0.27$, coef. de Pearson 0.18; $p=0.25$, coef. de correlación 0.13) ni de IFX ($p=0.24$, coef. de Pearson 0.14; $p=0.89$, coef. de correlación -0.11).

- Influencia del uso concomitante de inmunomoduladores en las concentraciones valle de anti-TNF

El hecho de que el paciente estuviera en terapia combinada o monoterapia anti-TNF no ha influido en que presentara concentraciones de anti-TNF dentro o fuera de rango terapéutico ($p=0.62$).

Variable	Concentración de anti-TNF	DR	FR	p
IMM concomitantes	Si	20 (45.5%)	24 (54.5%)	0.26
	No	24 (40.7%)	35 (59.3%)	

Tabla. 4.34. Influencia del tratamiento con inmunomoduladores.

No se ha hallado correlación entre el uso concomitante de inmunomoduladores y las concentraciones valle de IFX ($p=0.28$), sin embargo, si se ha hallado correlación con las concentraciones valle de ADM siendo estas superiores entre los pacientes en tratamiento concomitante con inmunomoduladores (7.71 vs 4.54, $p=0.009$).

- Influencia de la presencia de ADAs en las concentraciones valle de anti-TNF

Los pacientes que desarrollaron ADAs tenían concentraciones fuera de rango terapéutico respecto a los que no desarrollaron ADAs con diferencias estadísticamente significativas ($p=0.006$). Doce de los trece pacientes que desarrollaron ADAs presentaron concentraciones fuera de rango terapéutico. El siguiente gráfico (figura 4.3) representa el número de pacientes con concentraciones valle de anti_TNF dentro (en color burdeos) y fuera (en color gris) de rango terapéutico que habían desarrollado ADAs.

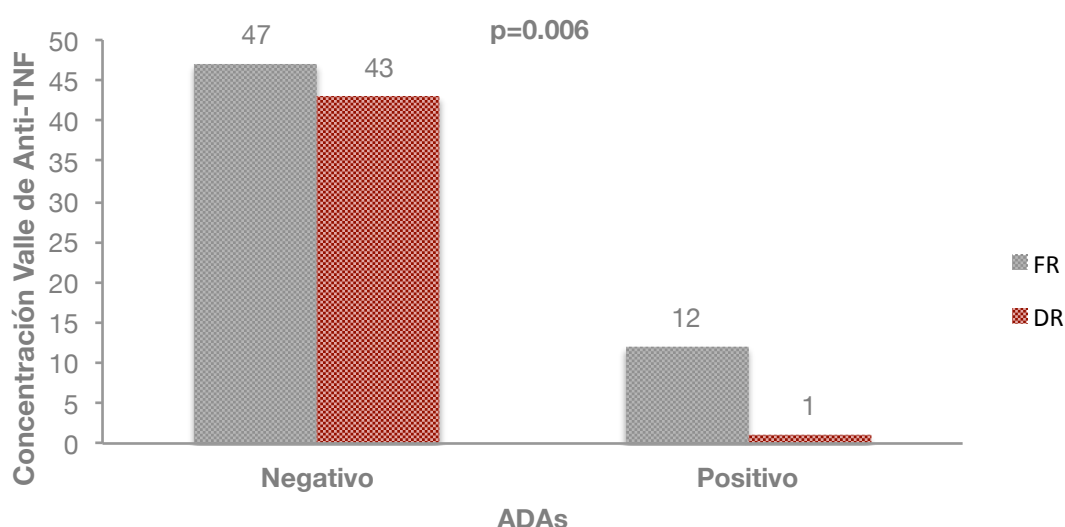


Figura 4.3. Número de pacientes con concentraciones dentro (DR) y fuera (FR) de rango terapéutico según la presencia de ADAs.

No se han podido analizar los datos en el grupo de pacientes en tratamiento con adalimumab porque solo presentaron ADAs 2 de los 37 pacientes no pudiendo hacer comparaciones.

Al analizar los datos en el grupo IFX se ha observado que los pacientes que presentaban ADAs tenían menores concentraciones valle de IFX ($0.61 \pm 1.65 \mu\text{g/mL}$ vs $3.24 \pm 3.15 \mu\text{g/mL}$, $p=0.009$).

El siguiente gráfico (figura 4.4) muestra las concentraciones valle medias de IFX (\pm SD) de los pacientes que habían desarrollado ADAs (en color burdeos) y con ADAs negativos (en color gris).

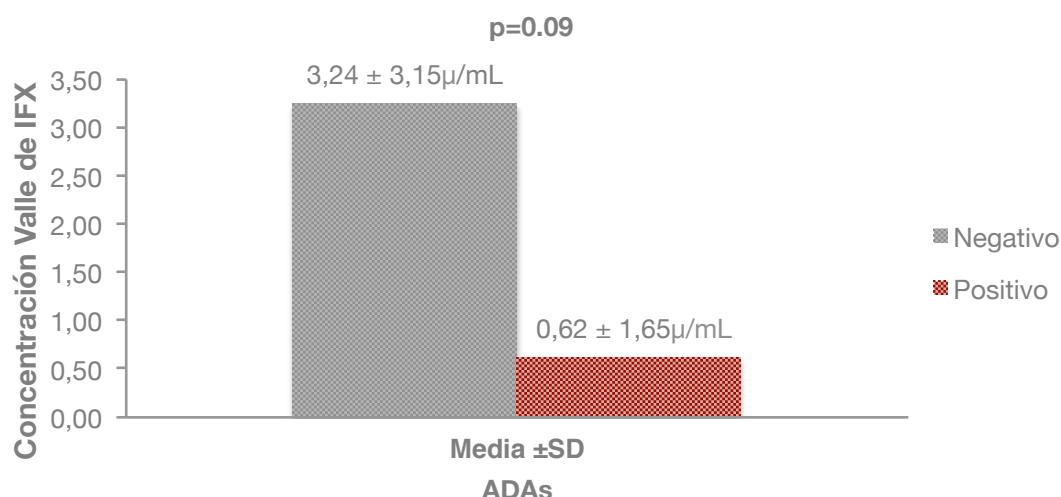


Figura 4.4. Concentraciones valle medias de anti-TNF según la presencia de ADAs

- Influencia del tipo de fármaco en las concentraciones valle de anti-TNF

La proporción de pacientes con concentraciones valle de anti-TNF dentro y fuera de rango terapéutico ha sido diferente según el fármaco empleado ($p=0.001$). Estaban dentro de rango terapéutico el 86.5% de pacientes en tratamiento con adalimumab respecto al 18.2% de los pacientes en tratamiento con infliximab.

Fármaco	DR	FR	p
ADM	32 (86.5%)	5 (13.5%)	0.001
IFX	12 (18.2%)	54 (81.8%)	

Tabla. 4.35. Porcentajes de pacientes dentro y fuera de rango por fármaco.

4.2.8. Influencia del polimorfismo en el gen *FCGRT* en las concentraciones de albúmina

No se han hallado diferencias en las concentraciones medias de albúmina entre los pacientes portadores de los tres genotipos del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* ($p=0.97$).

Gen	Genotipo	Albúmina (g/dL) media \pm SD	p
<i>FCGRT</i>	VNTR3/VNTR3	3.95 \pm 0.52	0.97
	VNTR2/VNTR3	3.98 \pm 0.39	
	Otros	3.96 \pm 0.27	

Tabla. 4.36. Concentraciones de albúmina según genotipos del gen *FCGRT*.

4.2.9. Estudio de las diferencias de comportamiento de las variables entre los pacientes en terapia anti-TNF a dosis estándar y a dosis intensificada

- Diferencias en la distribución de los polimorfismos en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A* entre el grupo de pacientes en tratamiento anti-TNF a dosis estándar y dosis intensificada.

No se han hallado diferencias en la distribución del polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* ($p=0.07$) ni en la distribución del polimorfismo rs1801274 en el gen *FCGR2A* ($p=0.28$) entre los pacientes en tratamiento a la dosis estándar e intensificada.

La proporción de pacientes en tratamiento anti-TNF a dosis intensifica fue mayor en los portadores del genotipo VV del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* ($p=0.03$).

En la siguiente tabla se muestran el número de pacientes a dosis estándar e intensificada portadores de cada genotipo y el porcentaje que representan respecto al total de los pacientes intensificados.

Gen	Genotipo	Dosis estandar	Dosis intensificada	p
<i>FCGRT</i>	VNTR3/VNTR3	54 (79.4%)	20 (60.6%)	0.07
	VNTR2/VNTR3	7 (10.3%)	9 (27.3%)	
	Otros	7 (10.3%)	4 (12.1%)	
<i>FCGR2A</i>	GG	18 (26.1%)	8 (24.2%)	0.28
	AG	34 (49.3%)	12 (36.4%)	
	AA	17 (24.6%)	13 (39.4%)	
<i>FCGR3A</i>	FF	31 (45.7%)	9 (27.3%)	0.03
	FV	32 (44.6%)	15 (45.5%)	
	VV	7 (10%)	9 (27.3%)	

Tabla. 4.37. Distribución de los genotipos entre pacientes a dosis estándar e intensificada.

4. RESULTADOS

En el siguiente gráfico (figura 4.5) se representa el número de pacientes a dosis estándar (en color gris) y a dosis intensificada (en color burdeos) de terapia anti-TNF de cada uno de los genotipos del gen *FCGR3A*.

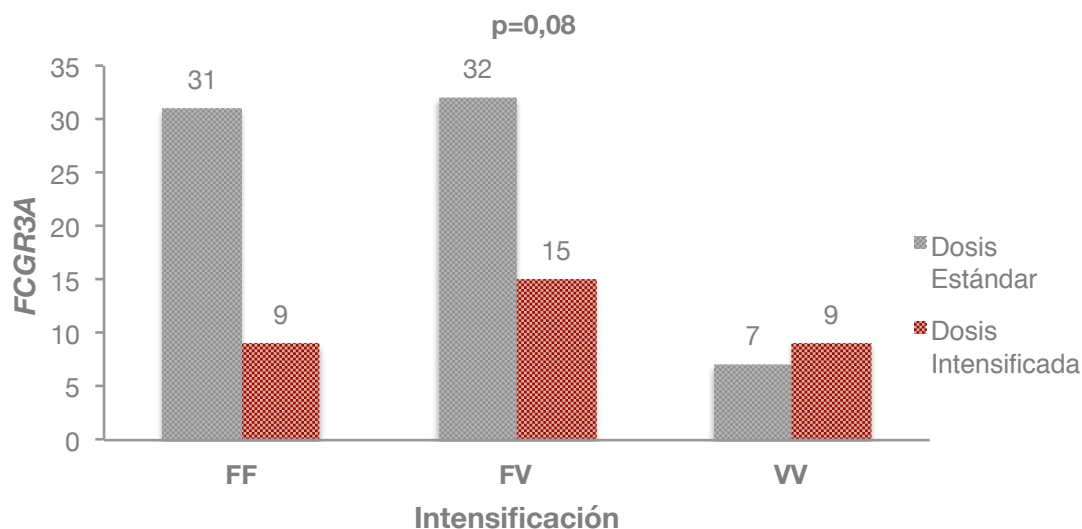


Figura 4.5. Número de pacientes a dosis estándar e intensificada de terapia anti-TNF por genotipos del gen *FCGR3A*

- Diferencias en la concentración de TNF-alfa entre el grupo de pacientes en tratamiento anti-TNF a dosis estándar y dosis intensificada.

No se han hallado diferencias estadísticamente significativas en la concentración de TNF-alfa entre los pacientes en tratamiento a dosis estándar y a dosis intensificada ($p=0.19$).

Variable	Dosis	n	Media TNF-alfa \pm SD	p
TNF-alfa (ln)	Estandar	68	5.25 \pm 1.21	0.19
	Intensificada	31	5.08 \pm 1.50	

Tabla. 4.38. Relación del ln de TNF-alfa entre pacientes a dosis estándar e intensificada.

- Diferencias en la concentración valle de anti-TNF entre el grupo de pacientes en tratamiento anti-TNF a dosis estándar y dosis intensificada.

La proporción de pacientes cuyas concentraciones de anti-TNF estaban dentro o fuera de rango terapéutico no ha sido diferente entre los pacientes en tratamiento anti-TNF a la dosis estándar e intensificada ($p=0.64$). Tampoco se han hallado

diferencias al analizar las concentraciones valle de ADM e IFX por separado en estos dos subgrupos de pacientes.

Variable		DR	FR	p
Intensificación	Si	13 (39.4%)	20 (60.6%)	0.64
	No	31 (44.3%)	39 (55.7%)	

Tabla. 4.39. Porcentaje de pacientes dentro y fuera de rango según dosis de fármaco. Se expresa el porcentaje de pacientes respecto del total de intensificados.

Fármaco	Concentración valle anti-TNF ($\mu\text{g/mL}$) media \pm SD		p
	Dosis estandar	Dosis intensificada	
	ADM	5.46 \pm 3.45	
IFX	2.56 \pm 3.07	2.87 \pm 3.22	0.89

Tabla. 4.40. Concentraciones de ADA e IFX según la dosis empleada.

4.2.10. Estudio de las diferencias en el tiempo de pérdida de respuesta a infliximab y adalimumab.

No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en el tiempo medio (expresado en años) que el paciente tarda desde que inicia la terapia anti-TNF hasta que precisa que la dosis sea intensificada entre ambos fármacos ($p=0.88$). El tiempo medio de pérdida de respuesta a ADM ha sido de $2.37 \pm \text{SD } 1.50$ años. En el caso de IFX ha sido de $2.27 \pm \text{SD } 1.81$ años.



5. DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

La terapia anti-TNF es eficaz para inducir y mantener la remisión en pacientes con EC (Present et al., 1999; Sands et al., 2004; Billiet et al., 2014) y CU (Billiet et al., 2014). Sin embargo, no todos los pacientes responden a esta terapia y los que lo hacen pierden la respuesta a lo largo del tiempo de tratamiento en una proporción considerable (Vermeire et al., 2013). Estos fallos de tratamiento (cuyas causas no son bien conocidas y son objeto de investigación actual) suponen un reto para el clínico ya que no existe consenso en la actualidad sobre cual sería el manejo óptimo de este escenario clínico.

Las causas de estos fracasos son desconocidas; se incluyen mecanismos inmunogénicos (debido a la formación de ADAs) así como farmacocinéticos, farmacodinámicos y específicos de cada tipo de anti-TNF (Ordás et al., 2012; Vermeire et al., 2013). Dado que estas terapias son caras, no están exentas de efectos adversos potencialmente graves y el número de pacientes en tratamiento es creciente, es de sumo interés encontrar biomarcadores que sean útiles como herramientas de ayuda en la toma de decisiones para poder tratar a los pacientes de forma individualizada, evitando la estrategia “ensayo-error” seguida en la actualidad.

IFX y ADM son IgGs tipo 1. Tienen una porción constante (Fc) que se puede unir a la familia de receptores FcγR entre otros. Esta familia de receptores de superficie, presente en las células del sistema inmune, reconocen inmunocomplejos activando la inmunidad innata y adquirida. Existen otros tipos de receptores que también se pueden unir a las IgGs. El más relevante es el FcRn (codificado en el gen *FCGR2*) cuya función es la de prolongar la vida media de las IgGs ya que las rescata de la orina, de la luz intestinal y de la degradación intracelular devolviéndolas al compartimento intracelular. Se han descrito polimorfismos en los genes que codifican estos receptores que tendrían implicaciones funcionales ya que modularían su afinidad por las IgGs influyendo en el aclaramiento del fármaco, lo que, en último término, podría repercutir en la respuesta a la terapia anti-TNF. (Montes et al., 2015).

En nuestro estudio no hemos encontrado asociación significativa entre ninguno de los polimorfismos en los tres genes estudiados y las concentraciones valle de IFX y ADM en EC y CU, por lo que no podemos concluir que dichos polimorfismos puedan

ser considerados biomarcadores de la respuesta a terapia anti-TNF en EII. Sí hemos observado, como se comenta más adelante, que la proporción de pacientes que ha precisado ajuste de la dosis es mayor en los portadores del genotipo VV del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A* aunque sin encontrar diferencias significativas al comparar con las concentraciones valle de cada uno de los anti-TNF.

El SNPs V158F en el gen *FCGR3A* (rs396991) es el SNPs que más ampliamente ha sido estudiado en el contexto de diferentes enfermedades y terapias biológicas. El primer trabajo que investigó la influencia de este polimorfismo en la eficacia de rituximab en el contexto del tratamiento del linfoma no Hodgkin concluyó que los pacientes portadores homocigotos VV mostraron mejor respuesta clínica y biológica sugiriendo, que en estos casos, la lisis de células linfomatosas mediada por ADCC era más eficaz (Cartron et al., 2002). La hipótesis más atractiva que explicaría esta asociación sería una destrucción más eficiente de las células que expresan TNF-alfa en su membrana por citotoxicidad celular mediada por anticuerpos.

Los trabajos publicados que evalúan la influencia de este polimorfismo en la eficacia de la terapia anti-TNF en EII son escasos y presentan resultados contradictorios. Hasta la fecha, no se han realizado trabajos en colitis ulcerosa ni se ha evaluado su influencia en la eficacia de adalimumab en EII. Louis E.J et al. ha publicado dos trabajos en este campo; en 2004 publicó que los pacientes con EC y genotipo VV tenían una mejor respuesta biológica (medida por el descenso en las concentraciones de PCR) pero no una mejor respuesta clínica a infliximab (Louis et al., 2004). Aunque las células presentadoras de estos receptores en su superficie (macrófagos, células natural-killer, etc.) están involucradas en la ADCC, y este mecanismo ha sido identificado como mecanismo de acción de infliximab *in vitro*, la importancia relativa de la citotoxicidad celular mediada por anticuerpos de infliximab *in vivo* es desconocida. De hecho, este autor publicó en 2006 los resultados de un subanálisis del estudio ACCENT I en el que, como en el estudio anterior, no encontró asociación con la respuesta clínica a infliximab en EC y además no se pudo demostrar una influencia en la respuesta biológica (medida como descenso de PCR) a pesar de ser un estudio con una población de 573 pacientes (Louis et al., 2006).

Este polimorfismo también ha sido estudiado en artritis reumatoide y otras espondiloartropatías. Recientemente, se han publicado los resultados de un meta-análisis que descarta que este polimorfismo sea un biomarcador en la respuesta a

infiximab en AR como sugerían estudios anteriores. Al analizar los trabajos previos publicados se observó que 4 de los 5 estudios de menor tamaño describían una asociación significativa que no se halló en ninguno de los 4 estudios de mayor tamaño. Esta sobre-representación de asociación significativa en los estudios pequeños es indicativa de sesgo de publicación como se demostró en el análisis estadístico de este meta-análisis. Además, estos mismos autores tampoco hallaron una influencia significativa de este polimorfismo ni en la respuesta clínica (medida mediante índices de actividad a los 3, 6 y 12 meses de tratamiento) ni en el descenso de PCR en pacientes con AR en tratamiento con infiximab (Montes et al., 2015).

Estudios retrospectivos han demostrado que las concentraciones valle de anti-TNF dentro de rango terapéutico de forma sostenida se relacionan con mejores tasas de curación mucosa y con un mejor resultado clínico a largo plazo (Maser et al., 2006; Seow et al., 2010; Afif et al., 2010). A pesar de que ello, hasta la fecha, sólo se ha publicado un estudio que investigue la influencia de este polimorfismo en la farmacocinética de infiximab en lugar de en la respuesta clínica (Ternant et al., 2015). En este estudio se midieron los niveles de infiximab en 111 pacientes de EC en remisión a los que se les suspendió la terapia. Mediante un modelo poblacional monocompartimental se estudio el efecto de este polimorfismo en la farmacocinética de infiximab. Se observó que los pacientes portadores del genotipo VV tenían una tasa de eliminación de IFX mayor. En nuestro trabajo no se ha realizado un modelo farmacocinético sino que se han comparado las concentraciones valle de infiximab y adalimumab de pacientes con EC y CU en terapia de mantenimiento en remisión clínica no hallando asociación alguna con este polimorfismo, aunque si hemos hallado que los portadores del genotipo VV del polimorfismo V158F en el gen *FCGR3A* (rs396991) han precisado mayor ajuste de dosis anti-TNF. Creemos que además es el primer trabajo que ha explorado la posibilidad de la influencia de este polimorfismo como biomarcador de la respuesta a adalimumab en EII.

Los trabajos que han investigado la influencia del SNPs H131R en el gen *FCGR2A* (rs 1801274) en la respuesta clínica a la terapia anti-TNF en enfermedades autoinmunes son escasos. Hasta la fecha, hay publicados trabajos en AR con infiximab, (Ávila-Pedretti et al., 2015; Cañete et al., 2015) pero no se había estudiado en el contexto de EII. En nuestro trabajo, no hemos hallado asociación entre las concentraciones valle de infiximab y adalimumab y ninguno de los genotipos de este polimorfismo. Como se ha comentado en las limitaciones de este estudio, no hemos

investigado la asociación con la respuesta clínica debido a la influencia de variables subjetivas en los índices de actividad que se usan para medirla que han dado lugar a resultados equívocos en la literatura. Dada la relación directa entre concentraciones valle de anti-TNF y respuesta clínica (Vermeire et al., 2013), estas se podrían considerar una medida indirecta de la respuesta clínica.

En el caso de la AR, hay una creciente evidencia de la asociación de este polimorfismo con una mejor respuesta clínica a terapia anti-TNF. En este sentido, es interesante comentar los resultados de un trabajo español publicado en 2015 que investigó su influencia en la respuesta a infliximab, adalimumab y etanercept en 348 pacientes con AR. No hallaron asociación cuando se analizaron los resultados agrupando a los pacientes como respondedores o no respondedores sin tener en cuenta el tipo de fármaco. Cuando analizaron los resultados de cada uno de los anti-TNF, solo hallaron asociación entre el genotipo GG y una mejor respuesta clínica a adalimumab. Es muy interesante resaltar que cuando analizaron por separado a los pacientes con y sin anticuerpos anti-péptido citrulinado, hallaron asociación también con infliximab pero no con etanercept (Ávila-Pedretti et al., 2015). Los anticuerpos anti-péptido citrulinado forman inmunocomplejos en el líquido sinovial que son unos potentes activadores del sistema inmune. El receptor codificado por el gen *FCGR2A* es clave en la internalización de inmunocomplejos en las células fagocíticas. Es por tanto plausible que las diferencias entre la asociación de este genotipo con la respuesta clínica a adalimumab e infliximab en AR y la ausencia de asociación entre las concentraciones valle de ambos fármacos en EII de nuestro estudio estén en relación a las diferencias en la inmunopatología de estas enfermedades.

La investigación de la influencia del polimorfismo VNTR del gen *FCGRT* en la respuesta clínica a la terapia anti-TNF en enfermedades autoinmunes es también reciente, y hasta la fecha no hay trabajos publicados en EII. En nuestro estudio no hemos hallado asociación entre los genotipos de este polimorfismo y las concentraciones valle de infliximab y adalimumab en EII. En 2013 se publicaron los resultados de un estudio que evaluó la influencia de este polimorfismo en la farmacocinética de cetuximab (anticuerpo monoclonal quimérico IgG dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico usado en el tratamiento de diferentes neoplasias). En este trabajo, que incluyó a 94 pacientes, se encontró asociación entre el genotipo mayoritario VNTR3/VNTR3 y un menor aclaramiento del fármaco. En estos pacientes, el paso de cetuximab del compartimento periférico al central fue mas lento,

quedando el fármaco “retenido” más tiempo en los tejidos periféricos (Passot et al., 2013). Dado que ni el fármaco usado ni las patologías en las que se usaron son comparables no podemos extraer conclusiones respecto a nuestros resultados. Sin embargo, este polimorfismo sí ha sido estudiado en patología articular autoinmune, y en el estudio publicado por Montes A. et al. en 2015 no se halló asociación entre ninguno de los genotipos de este polimorfismo y la respuesta clínica de pacientes con AR en tratamiento con infliximab, adalimumab y etanercept a los 3, 6 y 12 meses de seguimiento (Montes et al., 2015). A pesar de que la hipótesis de que este receptor podría estar implicado en la farmacocinética de los anticuerpos monoclonales IgG es muy atractiva (dado que su función es prolongar la vida media de este tipo de inmunoglobulinas), hasta la fecha no se ha encontrado relación entre este polimorfismo y la respuesta clínica a estas terapias ni en EII ni en AR. Una posible explicación de estos resultados podría estar en que este sistema de recirculación se saturara ante altas concentraciones de IgGs dando lugar a una relación inversa entre concentración y vida media. Es plausible que los niveles elevados de IgGs endógenas, como ocurre en enfermedades inflamatorias crónicas, podrían acortar o al menos no alargar la vida media de los AcM (Ordás et al., 2012). Se necesitarían mas estudios en este sentido antes de abandonar esta vía de investigación aunque hasta la fecha no parece ser un biomarcador útil para el manejo de estas terapias.

El receptor FcRn también se une a la albúmina permitiendo su recirculación, por lo que, a priori, cabría esperar una asociación entre el polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* y las concentraciones de albúmina. Sin embargo en nuestro trabajo las concentraciones de albúmina no han mostrado diferencias significativas entre los diferentes genotipos de este polimorfismo. Es probable que este hecho esté relacionado con la estabilidad clínica de los pacientes del estudio (en tratamiento de mantenimiento) mostrando niveles normales de albúmina en la mayoría de los casos. Sería interesante investigar en futuros trabajos si este polimorfismo ejerce una influencia en la concentración de albúmina de los pacientes durante la fase del tratamiento de inducción.

Hemos analizado la distribución de los polimorfismos en los tres genes objeto de nuestra investigación en los pacientes con EC y CU sin hallar diferencias significativas entre estos dos grupos de pacientes. Con respecto a lo descrito en la población sana, hemos encontrado datos en la bibliografía de la distribución de los polimorfismos en los genes *FCGRT* y *FCGR3A*. El polimorfismo VNTR en el gen

FCGRT se distribuye de la siguiente manera: el genotipo mayoritario VNTR3/VNTR3 se da en el 80% de los casos, el VNTR2/VNTR3 en el 16.2% y los genotipos menos frecuentes suponen el 3.8% (Passot et al., 2013). En nuestra población, este genotipo se ha distribuido de forma similar sin hallar diferencias entre EC y CU. Respecto a la distribución del polimorfismo V158F en el gen *FCGR3A* (rs396991) en población sana, el genotipo mayoritario FF supone entre el 40 y 50%, el heterocigoto FV entre el 35 y 45% y el homocigoto VV entre el 1 y 20% (Tutuncu et al., 2005). Nuestros datos en pacientes con EII también concuerdan con los descritos en población sana sin diferencias entre EC y CU. No hemos encontrado datos en la bibliografía de la distribución del polimorfismo H131R en el gen *FCGR2A* (rs1801274) en población sana por lo que desconocemos si su distribución es parecida a la de nuestra población de estudio.

Dado que el TNF-alfa ejerce funciones tanto proinflamatorias como inmunorreguladoras (Tracey et al., 2008) a través de la formación de inmunocomplejos (al unirse a sus receptores soluble y transmembrana en células del sistema inmune) y que los receptores tanto de la familia FcγR como FcRn reconocen inmunocomplejos pudiendo activar la inmunidad innata y adquirida, hemos creído interesante estudiar si existe una asociación entre ambos fenómenos del sistema inmune (Billiet et al., 2014; Montes et al., 2015). En nuestro trabajo, las concentraciones valle de TNF-alfa no han mostrado asociación con los genotipos en los tres genes estudiados. Al igual que lo comentado con la albúmina, sería interesante estudiar si existe asociación en los pacientes en brote con actividad inflamatoria activa (la población de nuestro trabajo estaba en fase de remisión en la mayoría de los casos).

Tanto infliximab como adalimumab son inmunoglobulinas exógenas con capacidad para inducir una respuesta inmune que da lugar a la formación de anticuerpos anti-fármaco (ADAs) (Present et al., 1999). La tasa de ADAs descrita para infliximab se sitúa entre el 5 y 18% y para adalimumab en torno al 9.2% (Chaparro et al., 2012). En nuestra población, el 16.6% de los pacientes en tratamiento con infliximab (11 pacientes) y el 5.4% de los pacientes en tratamiento con adalimumab (2 pacientes) desarrollaron ADAs (sin diferencias significativas). Hemos investigado cuatro posibles factores que pudieran estar implicados en su desarrollo: los polimorfismos en los 3 genes objeto de nuestra investigación, el uso concomitante de

terapia inmunomoduladora, el tipo de enfermedad y el tiempo en tratamiento biológico anti-TNF.

Con respecto al primer punto, nos ha parecido interesante investigar su relación dado que estos receptores reconocen IgGs e inmunocomplejos. No hemos hallado asociación entre los polimorfismos en los genes *FCGRT* ni *FCGR2A* en el desarrollo de ADAs, sin embargo sí hemos encontrado una asociación significativa entre la formación de ADAs y el genotipo VV del polimorfismo V158F (rs396991) en el gen *FCGR3A*. Este hallazgo nos ha parecido muy relevante. En primer lugar, porque hasta la fecha, creemos que es el primer trabajo en investigar la asociación de estos anticuerpos con los genotipos funcionales de los receptores relacionados con la ADCC, y en segundo lugar porque el genotipo que ha mostrado un mayor riesgo de generar ADAs es el genotipo relacionado con un aumento de afinidad por las IgGs del receptor que codifica (Louis et al., 2004; Montes et al., 2015). La presencia de ADAs está relacionada con unos peores resultados, ya que impacta, por un lado en la seguridad (mayor riesgo de reacciones de tipo alérgico) y por otro lado en la eficacia (afecta a la biodisponibilidad al aumentar el aclaramiento de los anti-TNF), (Chaparro et al., 2012; Vande Casteele et al., 2013). De hecho, en nuestro trabajo, como ya se ha comentado, han sido precisamente por portadores de este genotipo los que han precisado mayor ajuste de la dosis de anti-TNF.

Aunque de mecanismo desconocido, se ha descrito que los pacientes en terapia combinada (anti-TNF asociado a inmunomodulador) tienen menor incidencia de ADAs que los que están solo en monoterapia anti-TNF. Esta evidencia es mayor para la combinación azatioprina-infliximab que para el resto de posibilidades, y ha sido explorada tanto en EC como CU (Hanauer et al., 2002; Colombel et al., 2010; Pannaccione et al., 2014). En nuestro trabajo, no hemos hallado diferencias significativas en la formación de ADAs entre los pacientes en monoterapia o tratamiento combinado, en muy probable relación al bajo número de casos con ADAs positivos (13 de 103 pacientes incluidos). En cualquier caso, nos gustaría resaltar, que aunque sin diferencias significativas, de los casos que desarrollaron ADAs, el 76.9% estaban en monoterapia anti-TNF sin tratamiento inmunomodulador frente al 23.1% que estaban en terapia combinada.

Puesto que de forma clásica se ha defendido que la inmunopatología de la EC y CU son diferentes, considerándose que en la EC prevalecía una respuesta tipo Th1

y en la CU una respuesta Th2 (Wallace et al., 2014), hemos analizado si existen diferencias entre los pacientes con EC y CU a la hora de desarrollar ADAs. Nuestros resultados muestran que los pacientes de EI padecen el mismo riesgo de desarrollarlos. Este hecho apoya la teoría etiopatogénica actual en la que se rompe con el paradigma Th1-EC, TH2-CU ya que por un lado está implicada la inmunidad innata y por otro la subpoblación de linfocitos Th17 entre otros hechos (Zhang et al., 2014).

Finalmente, no hemos encontrado diferencias en el tiempo en tratamiento anti-TNF entre los pacientes que han desarrollado anticuerpos y los que no.

Las razones de la pérdida de respuesta a la terapia anti-TNF es objeto de investigación intensa actual. Pueden ser de diferente índole e incluyen tanto mecanismos de tipo inmunológico (debido a la formación de ADAs) como mecanismos de tipo farmacocinético y farmacodinámico (Vermeire et al., 2013). El objetivo de los estudios poblacionales farmacocinéticos es identificar factores que influyen en la relación entre la dosis administrada y la concentración sérica alcanzada, de manera que en el caso de que esta última sea menor de la deseable, la dosis pueda ser ajustada en base a estos factores. Desafortunadamente el perfil farmacocinético de los AcM no es bien conocido, sobre todo lo relacionado con las covariables que influyen en el aclaramiento de los mismos. Además de la inmunogenicidad, existen otros factores que pueden afectar a la farmacocinética de los anti-TNF como son el uso concomitante de terapia inmunomoduladora, la concentración de albúmina, el peso y sexo del paciente, el tipo de enfermedad, la carga inflamatoria de la misma y diferencias estructurales entre los diferentes AcM (Vermeire et al., 2013; Ordás et al., 2012). A continuación se van a comentar los resultados obtenidos en nuestro estudio respecto a las variables estudiadas y la evidencia disponible en la actualidad en la literatura.

Una posible explicación de la falta de respuesta primaria a la terapia anti-TNF es el bloqueo incompleto del TNF-alfa cuando la actividad inflamatoria es severa por concentraciones de anti-TNF insuficientes para bloquear ese exceso de TNF-alfa. Esta situación se ha descrito sobre todo en el caso de brotes graves de CU durante la fase de inducción (Seow et al., 2010). En nuestro estudio no hemos tenido la posibilidad de medir la concentración de TNF-alfa basal antes de comenzar la terapia anti-TNF porque se trata de pacientes en fase de mantenimiento. En cualquier caso, nos ha

parecido interesante explorar si las concentraciones de TNF-alfa en el paciente en remisión influyen en las concentraciones valle de IFX y ADM en la fase de mantenimiento. En nuestro trabajo, los pacientes dentro de rango terapéutico presentaron concentraciones significativamente superiores de TNF-alfa. No se ha hallado correlación entre las concentraciones de TNF-alfa y las concentraciones valle de ADM pero si se ha hallado una correlación no lineal directa con las concentraciones valle de IFX. No se han encontrado diferencias en las concentraciones de TNF-alfa al analizar los resultados según el pacientes estuviese en tratamiento a la dosis estándar o a dosis intensificada.

Se postula que los pacientes con mayor actividad inflamatoria, que habitualmente mostrarían mayor concentración de PCR y menor concentración de albúmina sérica, tendrían acelerado el aclaramiento de los AcM por mecanismos relacionados con el SRE (Ordás et al., 2012). Los valores de PCR y albúmina de nuestros pacientes se han obtenido durante la fase de mantenimiento el día de la extracción de las concentraciones valle de anti-TNF. Sus concentraciones no han sido diferentes entre aquellos pacientes con concentraciones valle de anti-TNF dentro y fuera de rango terapéutico. Sin embargo, analizados los resultados por comparación de medias para cada fármaco hemos hallado una correlación no lineal inversa entre la concentración de albúmina y la concentración valle de adalimumab (a menor albúmina mayor concentración de adalimumab) y una correlación no lineal inversa entre las concentraciones de PCR y las concentraciones de infliximab (a menor PCR mayor concentración de infliximab). En este sentido, nuestros hallazgos concuerdan con lo descrito en trabajos anteriores en los que se describe que los pacientes con menores niveles de albúmina y mayores niveles de PCR basal tienen acelerado el aclaramiento de estos fármacos (Fasanmade et al., 2009; Wolbink et al., 2005). Por tanto, respecto a la albúmina, podemos concluir que concentraciones normales durante la fase de mantenimiento disminuyen el aclaramiento de los anti-TNF. La correlación que hemos hallado de la PCR con las concentraciones valle de IFX es muy interesante, ya que indica que incluso durante la fase de mantenimiento los niveles de fármaco son mayores cuando la PCR es menor (es decir, cuando la actividad inflamatoria de la enfermedad es menor). Previamente ya se había descrito que la PCR elevada al inicio del tratamiento con normalización posterior está relacionada con el mantenimiento de la remisión en pacientes de EC en tratamiento con infliximab (Steenholdt et al., 2013). Además, en la fase de optimización de dosis del estudio TAXIT (comentado en apartado previo) también se halló una correlación inversa entre la concentración de

IFX y la de PCR como en nuestra población (Vande Casteele et al., 2015). Nuestros resultados corroboran que la PCR baja durante la fase de mantenimiento se correlaciona con concentraciones valle de infliximab mayores.

Respecto al papel que juega el tipo de enfermedad, se ha descrito en la literatura que los pacientes con CU pueden tener mayor aclaramiento de anti-TNF que los pacientes con EC en probable relación con la mayor área de mucosa afectada que supondría una mayor carga inflamatoria de la enfermedad. Estas diferencias se han encontrado sobre todo en los casos de brote grave y extenso de CU (Seow et al., 2013). En nuestra población, tanto los pacientes de EC como los pacientes con CU estaban en remisión clínica por lo que no se han hallado diferencias en la proporción de pacientes dentro y fuera de rango terapéutico entre estas enfermedades. Analizando los datos para cada fármaco por comparación de medias tampoco se ha hallado correlación entre el tipo de enfermedad y las concentraciones de ADM ni IFX.

También existen factores del propio paciente que pueden influir en el aclaramiento del fármaco. Con respecto al peso, es de destacar que se ha descrito que la influencia del mismo en el aclaramiento no es lineal y que la monitorización de las concentraciones de anti-TNF sería importante sobre todo en pacientes con bajo peso (Ordás et al., 2012). En nuestra población, no ha habido diferencias en cuanto al peso entre aquellos que estaban dentro y fuera de rango terapéutico. Sin embargo, cuando se ha analizado la correlación del peso con las concentraciones valle de ambos fármacos se ha hallado una relación no lineal inversa entre el peso y adalimumab (a menor peso mayor concentración de adalimumab). Este hecho es muy relevante ya que la dosis de adalimumab es estándar para todos los pacientes (independientemente de su peso) estando este subgrupo de pacientes expuestos a mayor dosis de la necesaria con el consiguiente coste por un lado y riesgo de efectos adversos por otro.

Peso y sexo están muy relacionados. Es probable que ese sea el motivo por el que se ha descrito en la literatura que el aclaramiento está aumentado en el sexo masculino. En nuestro trabajo, el peso de los pacientes dentro y fuera de rango terapéutico no ha mostrado diferencias significativas. Tampoco hemos hallado correlación entre el peso y las concentraciones valle de cada fármaco.

Existe una consistente evidencia científica en la actualidad de que el uso concomitante de inmunomoduladores con anti-TNF incrementa la concentración sérica de los anti-TNF y reduce la formación de ADAs. En el estudio SONIC, comentado anteriormente, los pacientes con EC activa en tratamiento combinado tuvieron mayores concentraciones de infliximab que los pacientes en monoterapia (Colombel et al., 2010; Lichtenstein et al., 2009). El mecanismo por el que los inmunomoduladores incrementan la concentración de anti-TNF no es bien conocido. Se piensa que se debe a la reducción en la formación de ADAs por un lado y a una posible modulación del aclaramiento del AcM a través del SRE por otro (Ordás et al., 2012). En nuestro trabajo. La proporción de pacientes dentro y fuera de rango terapéutico no ha mostrado diferencias significativas entre los que estaban en monoterapia anti-TNF o terapia combinada. Sin embargo, para el caso de adalimumab sí hemos hallado correlación, ya que las concentraciones de adalimumab de los pacientes en tratamiento combinado han sido superiores que las de los pacientes en monoterapia anti-TNF. Este hallazgo es muy relevante ya que la evidencia científica actual de la influencia del tratamiento combinado inmunomodulador asociado a adalimumab es menos consistente.

Es bien conocido que la formación de ADAs es un factor clave que influencia las concentraciones de anti-TNF (mecanismo inmunogénico). Existen dos tipos de ADAs, los neutralizantes, (llamados así porque bloquean la interacción entre TNF-alfa y el fármaco e incrementan el aclaramiento del mismo al formar inmunocomplejos) y los no neutralizantes, que aunque no impiden directamente la acción del fármaco si aumentan su aclaramiento por el mismo mecanismo que los anteriores (Steenholdt et al., 2013). Se han publicado numerosos estudios que han descrito la relación directa entre la presencia de ADAs y unos peores resultados afectando tanto a la eficacia como a la seguridad. Con respecto a la eficacia, estos estudios han demostrado que la presencia de ADAs está relacionada por un lado con unos peores resultados clínicos y por otro con unas menores concentraciones de anti-TNF. La evidencia es más sólida para infliximab en el contexto de EC, pero también hay estudios en CU y estudios con adalimumab (Chaparro et al., 2012). En nuestra población sólo 13 pacientes desarrollaron ADAs, por lo que es difícil extraer conclusiones de peso, pero todos estos pacientes tuvieron concentraciones de anti-TNF indetectables (por debajo del nivel de detección del kit de medición que se hemos usado en nuestro trabajo). La proporción de pacientes fuera de rango terapéutico fue significativamente superior en los pacientes que habían desarrollado ADAs. No se han podido analizar los datos para

adalimumab por el escaso número de pacientes con ADAs positivos (2 casos). Con respecto a infliximab, se ha hallado correlación entre los ADAs y las concentraciones valle del fármaco ya que en los que tuvieron ADAs las concentraciones valle de IFX fueron significativamente inferiores. De manera que en nuestro trabajo se confirman los hallazgos descritos en trabajos previos. (Chaparro et al., 2012; Ordás et al., 2012)

Infliximab es un anticuerpo monoclonal de tipo IgG1 quimérico (la porción Fc es de tipo murino), mientras que adalimumab es un anticuerpo monoclonal totalmente humano (Billiet et al., 2014). Se ha descrito que las diferencias estructurales de los anti-TNF podrían influir en la farmacocinética de la terapia anti-TNF. Por ello nos ha parecido interesante saber si en nuestra población existían diferencias entre las concentraciones de ambos AcM. Hemos observado que la proporción de pacientes dentro de rango terapéutico era significativamente mayor en los que estaban en tratamiento con adalimumab (86.5%) que en los que estaban en tratamiento con infliximab (18.2%). Estas diferencias, están justificadas en parte por la ausencia de un consenso actual sobre el nivel de corte aceptado para considerar la concentración de anti-TNF en rango terapéutico. La ausencia de dicho consenso se debe, por un lado, a la falta de estudios prospectivos que evalúen las concentraciones de anti-TNF, y por otro lado a que los resultados obtenidos mediante los diferentes métodos de medida no son totalmente comparables en la actualidad. En cualquier caso, este hecho, lejos de poner en entredicho la utilidad de guiar la terapia anti-TNF basada en las concentraciones de fármaco, apoya aún más esta estrategia, ya que no solo es útil para saber si el paciente está en rango, sino que se evita que los pacientes estén tanto sobre como infra-dosificados haciendo que esta estrategia sea coste-efectiva (Vermeire et al., 2013)

Para finalizar con las variables analizadas en nuestro estudio, no hemos encontrado diferencias significativas entre los pacientes dentro y fuera de rango terapéutico respecto al tiempo que llevaban en tratamiento con terapia anti-TNF.

En resumen, del análisis de las posibles covariables que influyen en las concentraciones valle de anti-TNF en nuestra población de estudio hemos hallado que ejercen una influencia clara la presencia de ADAs así como el tipo de AcM como se ha descrito en trabajos previos. Hemos hallado correlación no lineal directa entre las concentraciones de TNF e IFX y correlación no lineal inversa entre la albúmina y ADM,

PCR e IFX y el peso y ADM. Finalmente, hemos encontrado correlación entre el uso combinado de inmunomoduladores y unas mayores concentraciones de adalimumab.

Aproximadamente, hasta el 50% de los pacientes que respondieron inicialmente a la terapia anti-TNF van a perder la respuesta a lo largo del tiempo (Ordás et al., 2012). Una vez descartados que los síntomas del paciente se deban a otra patología diferente de la EII, o a patología no inflamatoria relacionada con la EII, en la actualidad, la estrategia empírica que se sigue en práctica clínica es la intensificación de la dosis del anti-TNF (mediante el aumento de la dosis o reducción del intervalo de administración) asociada o no al inicio de inmunomoduladores. En el caso de fracaso en el control de la enfermedad a pesar de lo previo, se recomienda cambiar a otro biológico. Estas intervenciones terapéuticas muchas veces se hacen en vano y sólo dan lugar a un aumento del coste por un lado y a una mayor exposición del paciente a efectos adversos por otro. De hecho, a pesar de la falta de evidencia prospectiva y limitaciones actuales del manejo de la terapia anti-TNF guiada por las concentraciones de anti-TNF y los títulos de ADAs, en la actualidad, algunos expertos, ya recomiendan su uso porque se puede determinar si los pacientes con concentraciones indetectables presentan ADAs, en cuyo caso estarían expuestos a efectos adversos potencialmente graves incluida la anafilaxia (Vermeire et al., 2013). En nuestra población de estudio, de los 66 pacientes en tratamiento con infliximab, 23 (34.8%) habían presentado pérdida de respuesta secundaria y estaban en tratamiento a dosis intensificada (5 mg/kg cada 6 semanas). De los 37 pacientes en tratamiento con adalimumab, 10 (27%) estaban en tratamiento a dosis intensificada (40 mg semanales). Puesto que la necesidad de intensificar la dosis es una medida indirecta de la pérdida de respuesta al tratamiento, nos ha parecido interesante estudiar las diferencias con respecto a los pacientes en tratamiento a la dosis estándar e intensificada de una serie de variables que se van a comentar a continuación.

Hemos investigado las posibles diferencias en la distribución de los genotipos de los tres polimorfismos en los genes objeto de nuestro estudio hallando que la proporción de pacientes en tratamiento a dosis intensificada fue mayor en los portadores del genotipo VV del polimorfismo rs396991 en el gen *FCGR3A*. Este hallazgo es muy interesante dado que también hemos observado que son precisamente los portadores de este genotipo los que han presentado mayor probabilidad de desarrollar ADAs. Dado que se ha descrito que el receptor codificado por este genotipo tiene una mayor afinidad por las IgGs, (Louis et al., 2004; Montes et

al., 2015), es plausible que este genotipo esté relacionado con la pérdida de respuesta secundaria de los pacientes (por probable incremento del aclaramiento del fármaco precisando dosis mas altas) y con mayor riesgo de inmunogenicidad. Estos dos fenómenos podrían además estar relacionados, ya que se ha descrito que la presencia de ADAs afecta a la biodisponibilidad al aumentar el aclaramiento de los anti-TNF (Chaparro et al., 2012; Vande Casteele et al., 2013). No hemos observado diferencias entre los pacientes a dosis estándar e intensificada respecto a los polimorfismos en los genes *FCGRT* y *FCGR2A*.

También nos ha parecido interesante investigar el comportamiento de la concentración de TNF-alfa en estas dos subpoblaciones de pacientes. No hemos observado diferencias significativas en su concentración entre los pacientes a dosis estándar y a dosis intensificada. En nuestro trabajo, la muestra de TNF-alfa se obtuvo cuando los pacientes ya estaban intensificados (en un tiempo variable para cada paciente) habiendo conseguido alcanzar de nuevo la respuesta en la mayoría de los casos. Sería interesante comparar las concentraciones de TNF-alfa de los pacientes que han perdido la respuesta al tratamiento antes de intensificar la dosis de anti-TNF para ayudar a aclarar el papel que juega el TNF-alfa en la pérdida de respuesta a estos fármacos. Por el mismo motivo anterior, no hemos hallado diferencias en las concentraciones valle de ADM ni IFX entre los pacientes a dosis estándar e intensificada. Además, no se han observado diferencias significativas en la proporción de pacientes que estaba dentro de rango terapéutico entre estos pacientes. Este hecho es muy interesante, ya que pone de manifiesto la efectividad de intensificar la dosis en los pacientes que han perdido la respuesta, ya que como se puede extraer de nuestros resultados, una vez que se ha subido la dosis el paciente alcanza de nuevo concentraciones en rango terapéutico (siempre que no haya desarrollado ADAs como se ha descrito en la literatura y hemos confirmado en nuestro estudio).

Para finalizar, hemos analizado el tiempo que el paciente tarda en perder la respuesta desde que inicia la terapia anti-TNF hasta que precisa ajuste de dosis. Al comparar dicho tiempo en los pacientes en tratamiento con IFX y ADM no hemos encontrado diferencias significativas. El paciente en tratamiento con IFX o ADM tarda lo mismo en perder la respuesta, y por tanto en precisar ajuste de dosis, con ambos fármacos.



6. CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- Los polimorfismos estudiados en los genes relacionados con la ADCC (*FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A*) no influyen en las concentraciones valle de infliximab y adalimumab, ni en las de TNF-alfa de pacientes con EII en fase de remisión, por lo que no deben ser considerados biomarcadores para planificar la terapia biológica de forma individualizada.

- Los pacientes portadores del genotipo VV del polimorfismo V158F en el gen *FCGR3A* tienen más riesgo de desarrollar ADAs.

- El polimorfismo VNTR en el gen *FCGRT* no influye en las concentraciones de albúmina de pacientes en fase de remisión.

- El tipo de enfermedad (EC o CU) no está relacionado con el desarrollo de ADAs ni con la distribución de los polimorfismos estudiados en los genes *FCGRT*, *FCGR2A* y *FCGR3A*.

- El porcentaje de pacientes que desarrolló ADAs fue mayor entre los pacientes sin inmunomoduladores asociados, aunque sin alcanzar diferencias significativas. Los pacientes en tratamiento combinado adalimumab-inmunomodulador tienen mayores concentraciones de adalimumab.

- Los pacientes con concentraciones superiores de TNF-alfa tienen concentraciones de anti-TNF dentro de rango terapéutico con mayor frecuencia.

- La concentración de albúmina de los pacientes en fase de mantenimiento se correlaciona de forma inversa con las concentraciones de adalimumab mientras que la concentración de PCR de los pacientes en fase de mantenimiento se correlaciona de forma inversa con las concentraciones de infliximab.

- El peso se correlaciona de forma inversa con las concentraciones de adalimumab. Sin embargo, ni el sexo ni el tipo de enfermedad influyen en las concentraciones de adalimumab e infliximab.

6. CONCLUSIONES

- El tiempo que el paciente lleva en tratamiento anti-TNF no influye ni en el desarrollo de ADAs ni en las concentraciones de adalimumab ni de infliximab.

- La presencia de ADAs repercute de manera directa en las concentraciones valle de anti-TNF, teniendo los pacientes que desarrollan ADAs concentraciones de anti-TNF por debajo del umbral detectable.

- El tipo de anti-TNF influye en la farmacocinética. La proporción de pacientes en tratamiento con adalimumab dentro de rango terapéutico fue mayor.

- El genotipo VV del polimorfismo V158F en el gen *FCGR3A* está relacionado con la pérdida de la respuesta pues los pacientes portadores de este genotipo han precisado mayor ajuste de dosis. No existen diferencias en las concentraciones de TNF-alfa, de adalimumab ni de infliximab entre los pacientes en tratamiento a dosis estándar e intensificada.

- El tiempo que los pacientes tardan en perder la respuesta es igual para ambos fármacos.

- Como conclusión final, la monitorización de las concentraciones de anti-TNF y de la inmunogenicidad de estas terapias (ADAs) debería incluirse en práctica clínica para un manejo individualizado y no empírico. Serían deseables estudios para integrar todas las posibles covariables que influyen en la relación FC-FD de los anti-TNF en un modelo farmacocinético que nos permita prescribir regímenes de tratamiento más eficientes que finalmente repercutirán en un mayor éxito de estas terapias.



7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraham C, Cho JH. Functional consequences of NOD2 (CARD15) mutations. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(7):641-650.

Afif W, Loftus EV, Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson KA et al. Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2010;105(5):1133-1139.

Ainsworth MA, Bendtzen K, Brynskov J. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluid-phase radioimmunoassays as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(4):944-948.

Avila-Pedretti G, Tornero J, Fernández-Nebro A, Blanco F, González-Alvaro I, Cañete JD et al. Variation at FCGR2A and functionally related genes is associated with the response to anti-TNF therapy in rheumatoid arthritis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122088.

Bewtra M, Kaiser LM, Ten Have T, Lewis JD. Crohn's disease and ulcerative colitis are associated with elevated standardized mortality ratios: a meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(3):599-613.

Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Van Assche G, Vermeire S. Targeting TNF- α for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014;14(1):75-101.

Burisch J, Munkholm P. Inflammatory bowel disease epidemiology. *Curr Opin Gastroenterol*. 2013;29(4):357-362.

Canavan C, Abrams KR, Mayberry J. Meta-analysis: colorectal and small bowel cancer risk in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23(8):1097-1104.

Cañete JD, Suárez B, Hernández MV, Sanmartí R, Rego I, Celis R et al. Influence of variants of Fc gamma receptors IIA and IIIA on the American College of Rheumatology and European League Against Rheumatism responses to anti-tumour necrosis factor alpha therapy in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2009;68(10):1547-1552.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cartron G, Dacheux L, Salles G, Solal-Celigny P, Bardos P, Colombat P et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fcγ3 gene. *Blood*. 2002;99(3):754-758.

Caruso R, Sarra M, Stolfi C, Rizzo A, Fina D, Fantini MC et al. Interleukin-25 inhibits interleukin-12 production and Th1 cell-driven inflammation in the gut. *Gastroenterology*. 2009;136(7):2270-2279.

Chaparro M, Guerra I, Muñoz-Linares P, Gisbert JP. Systematic review: antibodies and anti-TNF-α levels in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35(9):971-986.

Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2010;362(15):1383-1395.

Cosnes J, Gower-Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and natural history of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1785-1794.

Coulombe F, Divangahi M, Veyrier F, de Léséleuc L, Gleason JL, Yang Y et al. Increased NOD2-mediated recognition of N-glycolyl muramyl dipeptide. *J Exp Med*. 2009;206(8):1709-1716.

D'Haens G, Ferrante M, Vermeire S, Baert F, Noman M, Moortgat L et al. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18:2218-2224.

Dignass A, Van Assche G, Lindsay JO, Lémann M, Söderholm J, Colombel JF et al. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management. *J Crohns Colitis*. 2010 Feb;4(1):28-62.

Domenech E, Mañosa-Ciria M. Clínica. Criterios diagnósticos de la enfermedad de Crohn. En: Gassull MA, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal* 3ª ed. España: Arán Ediciones S.L.;2007. p. 333-343.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dong C, Nurieva RI. Regulation of immune and autoimmune responses by ICOS. *J Autoimmun.* 2003;21(3):255-260.

Duvallet E, Semerano L, Assier E, Falgarone G, Boissier MC. Interleukin-23: a key cytokine in inflammatory diseases. *Ann Med.* 2011;43(7):503-511.

Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut.* 2001;48(4):526-535.

Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Loannidis JP. Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *Am J Gastroenterol.* 2004;99(12):2393-2404.

Fasanmade AA, Adedokun OJ, Ford J, Hernandez D, Johanns J, Hu C et al. Population pharmacokinetic analysis of infliximab in patients with ulcerative colitis. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009;65(12):1211-1228.

Feagan BG, McDonald JW, Panaccione R, Enns RA, Bernstein CN, Ponich TP et al. Methotrexate in combination with infliximab is no more effective than infliximab alone in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2014;146(3):681-688.

Fernández A, Hernández V, Martínez-Ares D, Sanromán L, de Castro ML, Pineda JR et al. Incidence and phenotype at diagnosis of inflammatory bowel disease. Results in Spain of the EpiCom study. *Gastroenterol Hepatol* 2015. <http://dx.org/j.gastrohep.2015.03.001>.

Fiocchi C. Una visión integrada de la fisiopatología de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. En: Gassull M.A, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal* 3ª ed. España: Arán Ediciones S.L.;2007. p. 118-128.

Fujino S, Andoh A, Bamba S, Ogawa A, Hata K, Araki Y et al. Increased expression of interleukin 17 in inflammatory bowel disease. *Gut.* 2003;52(1):65-70.

Gomollón F, Rubio S, Charro M, García-López S, Muñoz F, Gisbert JP et al. Recommendations of the Spanish Working Group on Crohn's Disease and Ulcerative

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Colitis (GETECCU) on the use of methotrexate in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2015;38(1):24-30.

González-Huix LLadó F. Enfermedades asociadas a la enfermedad inflamatoria intestinal. En: Gassull M.A, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal 3ª ed*. España: Arán Ediciones S.L.;2007. p. 423-425.

Guerra I, Chaparro M, Bermejo F, Gisbert JP. Utility of measuring serum concentrations of anti-TNF agents and anti-drug antibodies in inflammatory bowel disease. *Curr Drug Metab*. 2011;12(6):594-598.

Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, Mayer LF, Schreiber S, Colombel JF, et al. Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9317):1541-1549.

Hueber W, Sands BE, Lewitzky S, Vandemeulebroecke M, Reinisch W, Higgins PD et al. Secukinumab, a human anti-IL-17A monoclonal antibody, for moderate to severe Crohn's disease: unexpected results of a randomised, double-blind placebo-controlled trial. *Gut*. 2012;61(12):1693-1700.

Imaeda H, Takahashi K, Fujimoto T. Clinical utility of newly developed immunoassays for serum concentrations of adalimumab and anti-adalimumab antibodies in patients with Crohn's disease. *J Gastroenterol*. 2014;49(1):100-109.

Jess T, Frisch M, Simonsen J. Trends in overall and cause-specific mortality among patients with inflammatory bowel disease from 1982 to 2010. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(1):43-48.

Jess T, Loftus EV Jr, Velayos FS, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Smyrk TC et al. Risk of intestinal cancer in inflammatory bowel disease: a population-based study from Olmsted county, Minnesota. *Gastroenterology*. 2006;130(4):1039-1046.

Kaser A, Blumberg RS. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011;140(6):1738-1747.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kaur N, Chen CC, Luther J. Intestinal dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut Microbes*. 2011;2(4):211-216.

Kim DH, Jung HD, Kim JG, Lee JJ, Yang DH, Park YH et al. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2006;108(8):2720-2725.

Kopylov U, Amre D, Theoret Y, Deslandres C, Seidman EG. Thiopurine metabolite ratios for monitoring therapy in pediatric Crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59(4):511-515.

Kozarek RA, Patterson DJ, Gelfand MD, Botoman VA, Ball TJ, Wilske KR. Methotrexate induces clinical and histologic remission in patients with refractory inflammatory bowel disease. *Ann Intern Med*. 1989;110(5):353-356.

Kübler I, Koslowski MJ, Gersemann M, Fellermann K, Beisner J, Becker S et al. Influence of standard treatment on ileal and colonic antimicrobial defensin expression in active Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2009;30(6):621-633.

Lennard-Jones JE. Classification of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl*. 1989;170:2-6.

Louis E, El Ghouli Z, Vermeire S, Dall'Ozzo S, Rutgeerts P, Paintaud G et al. Association between polymorphism in IgG Fc receptor IIIa coding gene and biological response to infliximab in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;19(5):511-519.

Maser EA, Vilella R, Silverberg MS, Greenberg GR. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2006;4(10):1248-1254.

McDonald JW, Wang Y, Tsoulis DJ, MacDonald JK, Feagan BG. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn's disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Aug 6;8:CD003459.

Mellor JD, Brown MP, Irving HR, Zalcborg JR, Dobrovic A. A critical review of the role

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

of Fc gamma receptor polymorphisms in the response to monoclonal antibodies in cancer. *J Hematol Oncol.* 2013. Jan 4;6:1.

Mendoza Hernandez JL, Lana Soto R, Díaz-Rubio M. Definiciones y manifestaciones clínicas generales. En: Gassull M.A, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal 3ª ed.* España: Arán Ediciones S.L;2007. p. 22-28.

Miheller P, Kiss LS, Lorinczy K, Lakatos PL. Anti-TNF trough levels and detection of antibodies to anti-TNF in inflammatory bowel disease: are they ready for everyday clinical use?. *Expert Opin Biol Ther.* 2012;12(2):179-192.

Montes A, Pérez-Pampín E, Joven B, Carreira P, Fernández-Nebro A, Del Carmen Ordoñez M et al. FCGR polymorphisms in the treatment of rheumatoid arthritis with Fc-containing TNF inhibitors. *Pharmacogenomics.* 2015;16(4):333-345.

Morales-Lara MJ, Conesa-Zamora P, García-Simón MS, Pedrero F, Santaclara V, Perez-Guillermo M et al. Association between the FCGR3A V158F polymorphism and the clinical response to infliximab in rheumatoid arthritis and spondyloarthritis patients. *Scand J Rheumatol.* 2010;39(6):518-520.

Mould, D.R., Sweeney, K.R. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of monoclonal antibodies—mechanistic modeling applied to drug development. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2007;10: 86-96.

Munkholm P. Review article: the incidence and prevalence of colorectal cancer in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003;18 Suppl 2:1-5.

Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD): a meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(1):40-47.

Ng S.C. Epidemiology of inflammatory bowel disease: focus on Asia. *Best Pract. Res Clin Gastroenterol.* 2014;28(3):363-372.

Noguchi E, Homma Y, Kang X, Netea MG, Ma X. A Crohn's disease-associated NOD2

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

mutation suppresses transcription of human IL10 by inhibiting activity of the nuclear ribonucleoprotein hnRNP-A1. *Nat Immunol.* 2009;10(5):471-479.

Ordás I, Feagan BG, Sandborn WJ. Therapeutic drug monitoring of tumor necrosis factor antagonists in inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10(10):1079-1087.

Ordás I, Mould DR, Feagan BG, Sandborn WJ. Anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: pharmacokinetics-based dosing paradigms. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91(4):635-646.

Panaccione R, Ghosh S, Middleton S, Márquez JR, Scott BB, Flint L et al. Combination therapy with infliximab and azathioprine is superior to monotherapy with either agent in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2014;146(2):392-400.

Passot C, Azzopardi N, Renault S, Baroukh N, Arnoult C, Ohresser M et al. Influence of FCGRT gene polymorphisms on pharmacokinetics of therapeutic antibodies. *MAbs.* 2013;5(4):614-619.

Present DH, Rutgeerts P, Targan S, Hanauer SB, Mayer L, van Hogezaand RA et al. Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease. *N Engl J Med.* 1999;340(18):1398-1405.

Prideaux L, Kamm MA, De Cruz PP, Chan FK, Ng SC. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review. *J Gastroenterol Hepatol.* 2012;27(8):1266-1280.

Reinisch W, Van Assche G, Befrits R, Connell W, D'Haens G, Ghosh S et al. Recommendations for the treatment of ulcerative colitis with infliximab: a gastroenterology expert group consensus. *J Crohns Colitis.* 2012;6(2):248-258.

Roberts-Thomson IC, Fon J, Uylaki W, Cummins AG, Barry S. Cells, cytokines and inflammatory bowel disease: a clinical perspective. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2011;5(6):703-716.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Roblin X, Marotte H, Rinaudo M, Del Tedesco E, Moreau A, Phelip JM, et al. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan;12(1):80-84.

Sachs UJ, Socher I, Braeunlich CG, Kroll H, Bein G, Santoso S. A variable number of tandem repeats polymorphism influences the transcriptional activity of the neonatal Fc receptor alpha-chain promoter. *Immunology*. 2006;119(1):83-89.

Sandborn WJ, van Assche G, Reinisch W, Colombel JF, D'Haens G, Wolf DC et al. Adalimumab induces and maintains clinical remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Gastroenterology*. 2012;142(2):257-265

Sandborn WJ, Feagan BG, Fedorak RN, Scherl E, Fleisher MR, Katz S et al. A randomized trial of Ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with moderate-to-severe Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2008;135(4):1130-1141.

Sands BE, Blank MA, Patel K, van Deventer SJ. Long-term treatment of rectovaginal fistulas in Crohn's disease: response to infliximab in the ACCENT II Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004;2(10):912-920.

Sans M, Correa I. Criterios diagnósticos y clínica de la colitis ulcerosa. En: Gassull M.A, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria Intestinal 3ª ed*. España: Arán Ediciones S.L;2007. p. 118-128.

Santacana-Juncosa E, Padullés-Zamora A, Colom-Codina H, Rodriguez-Alonso L, Guardiola-Capon J, Padullés-Zamora N. Individualized infliximab therapy: pharmacokinetic monitoring. *Farm Hosp*. 2015;39(1):59-65.

Scallon BJ, Moore MA, Trinh H, Knight DM, Ghayeb J. Chimeric anti-TNF-alpha monoclonal antibody cA2 binds recombinant transmembrane TNF-alpha and activates immune effector functions. *Cytokine*. 1995;7(3):251-259.

Sicilia B, Gassull M.A, Gomollon F. Epidemiología de las enfermedades inflamatorias intestinales. Factores ambientales internos y externos en su patogenia. En: Gassull M.A, Gomollon F, Hinojosa J, Obrador A, et al, editores. *Enfermedad Inflamatoria*

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Intestinal 3^a ed. España: Arán Ediciones S.L.;2007. p. 30-50.

Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR et al. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol*. 2005;19 Suppl A:5A-36A.

Stange EF, Travis SL, Vermeire S, Reinisch W, Geboes K, Barakauskiene A et al. European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis*. 2008;2(1):1-23.

Steenholdt C. Use of infliximab and anti-infliximab antibody measurements to evaluate and optimize efficacy and safety of infliximab maintenance therapy in Crohn's disease. *Dan Med J*. 2013;60(4):B4616.

Swidsinski A, Loening-Baucke V, Theissig F. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut*. 2007;56(3):343-350.

Takatori H, Kanno Y, Watford WT, Tato CM, Weiss G, Ivanov II et al. Lymphoid tissue inducer-like cells are an innate source of IL-17 and IL-22. *J Exp Med*. 2009;206(1):35-41.

ten Hove T, van Montfrans C, Peppelenbosch MP, van Deventer SJ. Infliximab treatment induces apoptosis of lamina propria T lymphocytes in Crohn's disease. *Gut*. 2002;50(2):206-211.

Ternant D, Berkane Z, Picon L, Gouilleux-Gruart V, Colombel JF, Allez M, et al. Assessment of the Influence of Inflammation and FCGR3A Genotype on Infliximab Pharmacokinetics and Time to Relapse in Patients with Crohn's Disease. *Clin Pharmacokinet*. 2015;54(5):551-562.

Tracey D, Klareskog L, Sasso EH. Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: A comprehensive review. *Pharmacology and therapeutics*. 2008;117(2):244-279.

Tutuncu Z, Kavanaugh A, Zvaifler N, Corr M, Deutsch R, Boyle D. Fcγ receptor

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

type IIIA polymorphisms influence treatment outcomes in patients with inflammatory arthritis treated with tumor necrosis factor alpha-blocking agents. *Arthritis Rheum.* 2005;52(9):2693-2696.

Van Assche G, Magdelaine-Beuzelin C, D'Haens G, Baert F, Noman M, Vermeire S et al. Withdrawal of immunosuppression in Crohn's disease treated with scheduled infliximab maintenance: a randomized trial. *Gastroenterology.* 2008;134(7):1861-1868.

Vande Casteele N, Gils A, Singh S, Ohrmund L, Hauenstein S, Rutgeerts P et al. Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient. *Am J Gastroenterol.* 2013;108(6):962-971.

Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, Ballet V, Comperolle G, Van Steen K et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol.* 2015;148(7):1320-1329.

Vermeire S, Gils A. Value of drug level testing and antibody assays in optimising biological therapy. *Frontline Gastroenterol.* 2013;4(1):41-43.

Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y, Shih DQ. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(1):6-21.

Wehkamp J, Stange EF, Fellermann K. Defensin-immunology in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin Biol.* 2009;33 Suppl 3:S137-144.

Winther KV, Jess T, Langholz E, Munkholm P, Binder V. Long-term risk of cancer in ulcerative colitis: a population-based cohort study from Copenhagen County. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2(12):1088-1095.

Wolbink GJ, Voskuyl AE, Lems WF, de Groot E, Nurmohamed MT, Tak PP et al. Relationship between serum trough infliximab levels, pretreatment C reactive protein levels, and clinical response to infliximab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2005;64(5):704-707.

Zhang YZ, Li YY. Inflammatory bowel disease: pathogenesis. *World J Gastroenterol.* 2014 Jan 7;20(1):91-99.



8. ANEXOS

8. ANEXOS.

8.1. CONSENTIMIENTO INFORMADO



BIOBANC-MUR
Biobanco en Red de la Región de Murcia

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el *Hospital General Universitario Santa Lucía*, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área II* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

Muestras biológicas e información asociada: En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco ***Biobanc-Mur Nodo Área II del Hospital General Universitario Santa Lucía*** hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia ***RD09/0076/00065***, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

Protección de datos y confidencialidad: Las muestras se conservarán codificadas.

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.

Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia
Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia
Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital General Universitario Santa Lucíaes gratuita.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos

gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.

Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Por favor, pregunte al personal sanitario que le ha comunicado esta información sobre cualquier duda que pueda tener, ahora o en el futuro, en relación con este consentimiento. Asimismo, puede comentar sus dudas con su médico, quien le pondrá en contacto con el personal sanitario autorizado.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuro.

CONSENTIMIENTO INFORMADO**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO**

Nombre y Apellidos (donante) Etiqueta Identificativa Paciente Edad: Sexo: DNI:.....	Persona del centro que informa DNI:.....
---	--

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* en los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

Confirmando que:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI

NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales

SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

.....

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

8. ANEXOS

.....
.....
.....
.....
.....

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a.....
de..... de.....

CONSENTIMIENTO INFORMADO ANTE TESTIGOS

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

Nombre y Apellidos (donante).....
Etiqueta Identificativa Paciente
Edad: Sexo: DNI:.....

Persona del centro que informa
.....
DNI:.....

Nombre y apellidos del testigo que firma.....
 DNI.....
 Relación con el donante:.....

Si ha comprendido la información que se le ha proporcionado, ha resuelto cualquier duda que pudiese tener y decide colaborar con *Biobanc-Mur Nodo Área II* llen los términos antes explicados, por favor, lea y firme a continuación esta hoja

El abajo firmante confirma que el donante:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI

NO Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales

SI NO Teléfono o E-mail de contacto:

.....

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

.....

5. Me autoriza a firmar en su nombre.

TESTIGO	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a.....
de..... de.....

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO
**UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL
PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU
CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.**

POR EL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI

..... anulo el consentimiento prestado en fecha.....

de.....de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco

Biobanc-Mur Nodo Área II, que doy por finalizada al día de hoy.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS

PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y

MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....

.....de 20.....

POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI

....., Como representante legal de

D/Dña....., con DNI....., anulo el

consentimiento prestado en fecha.....de.....de 20.....y no deseo

proseguir la donación voluntaria al biobanco ***Biobanc-Mur Nodo Área II***, que doy por finalizada al día de hoy.

8. ANEXOS

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.

SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

8.2. CDAI

Cálculo del Índice de actividad de la enfermedad de Crohn (Crohn's Disease Activity Index)									
	Días	1	2	3	4	5	6	7	Suma
Subtotal									x factor
1. Número de heces líquidas o muy blandas	-	-	-	-	-	-	-	-	x2=
2. Dolor abdominal (no=0, leve=1, moderado=2, grave=3)	-	-	-	-	-	-	-	-	x5=
3- Estado general (bueno=0, regular=1, malo=2 muy malo=3, terrible=4)	-	-	-	-	-	-	-	-	x7=
4. Número de las siguientes 6 manifestaciones clínicas Artritis/artralgia Iritis/uveítis Eritema nodoso, pioderma/aftas Fisura anal/fístula/absceso Otras fístulas Fiebre > 38.5 °C									x20=
5. Toma de antidiarreicos (no=0, si=1)									x30=
6. Masa Abdominal (no=0, dudosa=2, si=5)									x10=
7. Hematocrito (47%: hematocrito actual en varones) (43%: hematocrito actual en mujeres)									x6=
8. Peso corporal Porcentaje por debajo del peso estándar									x1=
<p>Los apartados 1, 2 y 3 hacen referencia a lo ocurrido al paciente durante los 7 días previos a la consulta.</p> <p>Para inclusión en ensayos clínicos, se consideran activos los pacientes con CDAI igual o superior a 220. Se considera remisión un CDAI < 150 y se considera respuesta una disminución en el CDAI mayor o igual 100 puntos. Se considera recidiva un CDAI > 150 con un incremento de 100 puntos respecto al valora basal</p>									

8.3. INDICE DE MAYO

<p>Frecuencia de las deposiciones (media de los últimos 3 días del nº de deposiciones)</p> <p>0= nº habitual para el paciente</p> <p>1= 1-2 deposiciones al día más de lo habitual</p> <p>2= 3-4 deposiciones al día más de lo habitual</p> <p>3= > 5 deposiciones al día de lo habitual</p>	
<p>Sangrado rectal (media de los últimos 3 días)</p> <p>0=: sin sangre</p> <p>1= hebras de sangre en menos del 50% de las deposiciones</p> <p>2= rectorragia en más del 50% de las deposiciones</p> <p>3= rectorragia franca sin deposiciones</p>	
<p>Evaluación global del médico</p> <p>0= normal</p> <p>1= enfermedad leve</p> <p>2= enfermedad moderada</p> <p>3= enfermedad grave</p>	
<p>Hallazgos endoscópicos</p> <p>0= normal o enfermedad inactiva</p> <p>1= enfermedad leve (eritema, friabilidad leve, no visualización de vasos submucosos)</p> <p>2= enfermedad moderada (marcado eritema, ausencia de vasos submucosos, friabilidad y erosiones)</p> <p>3= enfermedad grave (sangrado espontáneo, úlceras)</p>	
<p>Índice de Mayo total (puntuación)</p>	